

Львівський національний університет імені Івана Франка

Міністерство освіти і науки України

Державний вищий навчальний заклад

«Ужгородський національний університет»

Міністерство освіти і науки України

Кваліфікаційна наукова

праця на правах рукопису

ПЛОТИЦЯ СЕРГІЙ ІВАНОВИЧ

УДК 543.552:543.632.562

ДИСЕРТАЦІЯ

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

02.00.02– аналітична хімія

Природничі науки

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата хімічних наук. Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело



С.І. Плотиця

Науковий керівник: Дубенська Лілія Осипівна, кандидат хімічних наук, доцент

Львів – 2020

АНОТАЦІЯ

Плотиця С.І. Вольтамперометричне визначення місцевих анестетиків групи амідів з попередньою дериватизацією. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

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

Дисертаційну роботу присвячено вивченню особливостей вольтамперометричного (ВА) визначення шести місцевих анестетиків (МА) лідокаїну, тримекаїну, мепівакаїну, бупівакаїну, новокаїну і бензокаїну з використанням різних робочих електродів. Запропоновано різні підходи для отримання електрохімічно активних аналітичних форм місцевих анестетиків (АН): хімічне й електрохімічне окиснення, діазотування, азосполучення.

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 стандартизація 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. На прикладі лідокаїну (Лд) для хімічного окиснення АН опрацьовано використання низки окисників: калій дихромату, калій перманганату, амоній або калій персульфату, кислоти Каро, потрійної солі калій пероксимоносульфату (комерційний Оксон, КПМС), пероксифталевої і метаклоропербензенової кислот. Науково обґрунтовано, що для хімічного окиснення (дериватизації) АН серед багатьох окисників доцільніше використовувати пероксимоносульфат: високочистий комерційний реагент Оксон або кислоту Каро, яку легко синтезувати в лабораторних умовах з доступних реактивів. Доведено, що при цьому АН групи амідів утворюють N-оксиди, а новокаїн (Нов) і бензокаїн (Бен) окиснюються за первинною аміногрупою. Просту процедуру одержання полярографічно-активних дериватів АН – N-оксидів Лд, тримекаїну (Тр), мепівакаїну (Меп) і бупівакаїну (Буп) за допомогою КПМС уніфіковано: рН в межах 8,5 – 9,5; концентрація КПМС не повинна перевищувати 10^{-4} М, тривалість окиснення не менше 5 хв, кімнатна температура. Зміною рН робочого розчину до кислого (в межах рН 3 – 5) зупиняють окиснення анестетиків.

N-оксиди МА необоротно відновлюються на ртутному краплинному електроді (р.к.е.) у межах рН 2,0 – 8,0 за участю одного електрона і одного протона з утворенням одного піка на полярограмі. 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.

Наявність первинної аміногрупи у молекулах Бен і Нов зумовлює подібність процесів їхнього окиснення КПМС та відновлення на р.к.е. відповідних дериватів. Показано, що Бен і Нов окиснюються КПМС за первинною аміногрупою. Оптимальні умови окиснення: 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. 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.

Бен окиснюється на мініатюрному товстоплівковому алмазному, допованому бором, електроді (АДБЕ) з утворенням одного необоротного піка за потенціалів від +0,9 до +1,18 В (залежно від рН) за участю двох електронів і одного протона (відповідає окисненню аміногрупи). Плівковий АДБЕ для визначення АН використано вперше. За оптимальних умов струми відновлення дериватів АН на р.к.е. чи окиснення Бен на АДБЕ лінійно залежать від концентрації АН в широких межах концентрацій з коефіцієнтами кореляції, які прямують до 1. Це дає змогу використовувати залежності I , мкА від $C_{\text{АН}}$, моль/л для кількісного визначення АН.

У *четвертому розділі* описано діазотування й азосполучення як реакції дериватизації для полярографічного визначення Бен та Нов. Ці АН містять первинну аміногрупу, яку можна діазотувати нітритною кислотою, а утворену діазосіль використати для реакції азосполучення. Для обох АН простежується один пік відновлення діазосолей за потенціалу приблизно -0,2 В. Одержані діазосоли Бен та Нов вступають у реакції азосполучення з β -нафтолом, саліциловою кислотою і резорцином. Однак, найліпші метрологічні характеристики вимірювання струму відновлення азосполук одержано з використання резорцину.

У *п'ятому розділі* висвітлено застосування розроблених методик визначення МА в аналізі об'єктів різної природи. Розроблено нові методики полярографічного визначення АН, для яких характерні широкі межі лінійності (1,5-2 порядки), низька межа визначення (на рівні 10^{-6} моль/л), достатня точність і селективність. 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. Встановлено, що метрологічні характеристики полярографічного визначення Бен і Нов з дериватизацією за реакціями діазотування й азосполучення є високими, однак економічні характеристики (вартість і тривалість) визначення цих АН ліпші з використанням реакції окиснення.

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 порівнювали з результатами випробувальних лабораторій Державної адміністрації України з лікарських засобів, які було зазначено у сертифікатах якості. Значення сертифікату якості використали як дійсне значення вмісту. Методику полярографічного визначення Бен з дериватизацією за реакцією окиснення КПМС (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 Лд з дериватизацією за реакцією окиснення КПМС (у розчинах для ін'єкцій) впроваджено у практику ДНДКІ ветеринарних препаратів та кормових добавок, м. Львів.

Дериватизацію з Оксоном використали 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. Було перевірено різні підходи для підготовки проби слини. Кращим виявилось осадження матриці сумішшю сульфосаліцилової кислоти з насиченим розчином амоній сульфату.

Особливо високі метрологічні характеристики отримано для методики визначення Бен за струмом окиснення на АДБЕ. 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”, а також під час аналізу модельних зразків сечі.

Методику 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 внутрішньолабораторну прецизійність Δ_{intra} . Розроблені методики відповідають вимогам валідаційних критеріїв, коректні і придатні для кількісного визначення гідрохлоридів Лд чи Меп у розчинах для ін'єкцій.

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

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

Список публікацій здобувача

Праці, в яких опубліковано основні результати дисертації:

1. **Plotycya S.** Determination of local anesthetics of amide group in pharmaceutical preparations by cyclic voltammetry / **S. Plotycya**, L. Dubenska, M. Blazheyevskiy, S. Pysarevska, O. Sarahman // *Electroanalysis*. – 2016. – V. 28, No. 10. – P. 2575-2581. DOI: 10.1002/elan.201600134.

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.

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.

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.

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. Plotycya**,

L. Svorc // Sensors and Actuators B: Chemical. – 2018. – Vol. 270. – P. 9-17. DOI: 10.1016/j.snb.2018.05.012.

6. **Plotycya S.** A new approach for the determination of benzocaine and procaine in pharmaceuticals by single-sweep polarography / **S. Plotycya**, 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.

7. Dubenska L. Diazotation and azo coupling as the derivatization reactions for polarographic determination of some local anesthetics / L. Dubenska, **S. Plotycya**, M. Pylypets, S. Pysarevska // Voprosy khimii i khimicheskoi tehnologii. – 2018. – No 5. – P. 12-22.

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.

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.

Праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації

10. **Плотиця С.І.** Поляррографічне 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.

11. **Плотиця С.** Використання пероксомоносульфату для поляррографічного 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.

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.

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.

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.

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.

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.

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.

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.

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.

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.

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.

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.

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.

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 (LA) voltammetric (VA) determination, viz. of lidocaine, trimecaine, mepivacaine, bupivacaine, novocaine and benzocaine, by means of different working electrodes. Various approaches for the obtaining of electrochemically active analytical forms of local anesthetics (AN) are proposed: chemical and electrochemical oxidation, diazotization, azo coupling reactions.

The *introduction* substantiates the relevance of the topic, formulates the purpose and targets of the study, indicates the scientific novelty and practical significance of the obtained results.

The *first section* provides a review of the literature, which briefly describes the LA in terms of their chemical and pharmacological properties, discusses in detail the methods of determining LA in dosage forms and biological fluids. The special attention was focused on the use of VA method in the analysis of drugs in general and for the determination of AN in particular. The mechanisms of electrochemical transformation of LA at working electrodes of different nature are analyzed, analytical characteristics of VA methods of LA determination are described, advantages and disadvantages of VA use are outlined.

The *second section* describes the initial substances used in the work, in particular, the substances of AN, the preparation of initial solutions of AN, the preparation and standardization of oxidants solutions; the utilized equipments, the methods of experimental researches, the technique of obtaining of composite electrodes, the procedure of measurements and statistical processing of results of analysis (the validation) are described.

The *third section* is devoted to oxidation reactions for the voltammetric determination of LA. On the example of lidocaine (Ld), the use of a number of oxidants for the chemical oxidation of AN was studied, viz. potassium dichromate, potassium permanganate, ammonium or potassium persulfate, Caro acid, triple salt of potassium peroxymonosulfate (commercial Oxone, KPMS), peroxyphthalic and methachloro-perbenzoic acids. It is scientifically grounded that among many oxidants for the chemical oxidation (derivatization) of AN it is more expedient to use peroxymonosulfate: high-purity commercial reagent Oxone or Caro acid, which is easy to synthesize in the laboratory from available reagents. It is proved that the AN of amide group form N-oxides, and the primary amino group of novocaine (Nov) and benzocaine (Ben) are oxidized. A simple procedure for the obtaining of polarographically active derivatives of AN, viz. N-oxides of Ld, trimecaine (Tr), mepivacaine (Mep) and bupivacaine (Bup) using KPMS was unified: pH in the range of 8.5 – 9.5; the concentration of KPMS should not exceed 10^{-4} M, the duration of oxidation is not less than 5 min, room temperature. The change of the pH of the working solution to acidic (within pH 3 – 5) stops the oxidation of anesthetics.

N-oxides of LA are irreversibly reduced on dropping mercury electrode (DME) in the range of pH 2.0 – 8.0 with the participation of one electron and one proton with the occurring of one peak on the polarogram. The reduction peaks potentials for different LAs differ, so it is possible to qualitatively identify them. The reduction of LA N-oxides in the series Ld < Tr < Mep < Bup is facilitated, which is completely consistent with the structure of the LAs themselves.

The presence of a primary amino group in the molecules of Ben and Nov determines the similarity of the processes of their oxidation by KPMS and the reduction of their corresponding derivatives on DME. It has been shown that Ben and Nov are oxidized by KPMS by their primary amino group. Optimal oxidation conditions are as follows: not less than five fold excess of KPMS, the oxidation duration not less than 10 min at temperatures for Ben 45-55 °C and 75-85 °C for Nov. The oxidation products are irreversibly reduced on DME in the range of pH 2 – 9 with the formation of from one

to four peaks on the polarogram (depending on pH) with the participation of four electrons and three protons at pH 4.0.

Ben is oxidized on a miniaturized thick-film boron-doped diamond electrode (BDDE) with the formation of one irreversible peak at the potentials from +0.9 to +1.18 V (depending on pH) with the participation of two electrons and one proton (it corresponds to the oxidation of the amino group). BDDE film was used for the first time to determine the AN. Under optimal conditions, the reduction currents of the derivatives of AN on DME as well as the oxidation currents of Ben on BDDE linearly depend on the concentration of AN in a wide range of concentrations with correlation coefficients that tend to 1. This allows to use the dependences of I , μA on C_{AN} , mol/l to quantify AN.

The *fourth section* describes the diazotization and azo coupling as the derivatization reactions for the polarographic determination of Ben and Nov. These ANs contain a primary amino group that can be diazotized by nitric acid, and the formed diazo salt can be used for the azo coupling reaction. For both ANs, one peak of diazo salt reduction is observed at a potential of approximately -0.2 V. The obtained diazo salts of Ben and Nov enter into the reaction of azo coupling with β -naphthol, salicylic acid and resorcinol. However, the best validation parameters for the measurements of azo compound reduction current were obtained using resorcinol.

The *fifth section* covers the application of the developed methods for the determination of LA in the analysis of samples of different nature. New methods of the polarographic determination of AN have been developed, which have wide linearity ranges (1.5-2 orders of magnitude), low limit of determination (at the level of 10^{-6} mol/l), sufficient accuracy and selectivity. Validation parameters of new methods are not inferior to standard methods, their limits of determination and selectivity exceed these parameters for the existing titrimetric methods of AN determining, also new methods are more rapid and cost-effective than chromatographic ones. It is established that the validation parameters of the polarographic determination of Ben and Nov with the derivatization by diazotization and azo coupling are high, but the economic characteristics (the cost and duration) of the determination of these ANs are better using the oxidation reaction.

Based on the obtained results, we have developed the methods of AN polarographic determination with the derivatization using Oxon in the solutions for injection containing lidocaine hydrochloride and novocaine, and "Mepivastesin", ear drops "Otipax", lozenges for sore throat "Strepsils Plus", in antiseptics preparations against infectious and inflammatory diseases of the throat and oral cavity "Farisil" (tablets) and "Septolete Plus" (lozenges), ointment "Levosin". The results of the analysis were compared with the results of testing laboratories of the State Administration of Ukraine for Medicines, which were indicated in the quality certificates. The quality certificate value was used as the actual value of the content. The method of polarographic determination of Ben with derivatization by oxidation reaction with KPMS (in tablets for sore throat "Farisil") was introduced into the laboratory practice for the student's optional choice "Drug Analysis" for students of "Master" educational level on the Chemistry Faculty of Ivan Franko Lviv National University. The method of polarographic determination of Ld with the derivatization by KPMS oxidation reaction (in the solutions for injections) has been introduced into the practice of State Scientific Research Control Institute of Veterinary Medicinal Products and Feed Additives, Lviv.

The derivatization with Oxon was used to develop a method for Ld determination in saliva. The advantage of application of saliva analysis is the possibility of rapid and non-invasive sampling. Polarographic determination of Ld is especially affected by proteins present in saliva. Different approaches to saliva sample preparation were tested. The precipitation of the matrix with a mixture of sulfosalicylic acid with a saturated solution of ammonium sulfate was preferred.

Especially high validation parameters were obtained for the method of Ben determination by oxidation current on BDDE. The method was tested during the analysis of combined drugs tablets "Doritricin", lozenges "Septolete Plus" and a solution based on extracts of medicinal herbs against inflammatory diseases of the oral cavity "Herbadent", as well as during the analysis of model urine samples.

The methods of polarographic determination of Ld and Mep in solutions for injection with the derivatization using Oxon were validated according to the State Pharmacopoeia of Ukraine. The following validation parameters were calculated: an

uncertainty of sample preparation Δ_{SP} , an uncertainty of final analytical operation Δ_{FAO} and a complete uncertainty of analysis results Δ_{As} , a robustness (factors: pH of polarographed solution, the oxidation duration, the oxidation temperature, the stability of polarographed solution in time) and an intralaboratory precision Δ_{intra} . The developed methods meet the requirements of validation criteria, are correct and suitable for the quantitative determination of Ld or Mep hydrochlorides in the solutions for injection.

Thus, this work expands the possibilities of choosing the method among those available for the determination of AN in real samples, in particular, in drugs.

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

List of publications

Publications in which the major results of the thesis were published:

1. **Plotycya S.** Determination of local anesthetics of amide group in pharmaceutical preparations by cyclic voltammetry / **S. Plotycya**, L. Dubenska, M. Blazheyevskiy, S. Pysarevska, O. Sarahman // *Electroanalysis*. – 2016. – Vol. 28, No. 10. – P. 2575-2581. DOI: 10.1002/elan.201600134.

2. **Plotycya S.** The validation of the method of lidocaine polarographic determination in the injection solutions / **S. Plotycya**, L. Dubenska, M. Blazheyevskiy, O. Sarahman // *Bulletin of Lviv University. Series Chemistry*. – 2016. – Vol. 57, No. 1. – P. 203-211 (in Ukrainian).

3. Dubenska L. The comparison of oxidants as the reagents for the polarographic determination of lidocaine / L. Dubenska, **S. Plotycya**, M. Blazheyevskiy, V. Demelko // *Bulletin of Lviv University. Series Chemistry*. – 2016. – Vol. 58, No. 1. – P. 231-238 (in Ukrainian).

4. Dubenska L.O. Voltammetric Methods for the Determination of Pharmaceuticals / L.O. Dubenska, M.Ye. Blazheyevskiy, **S.I. Plotycya**, M.Ya. Pylypets, O.M. Sarahman // *Methods and objects of chemical analysis*. – 2017. – Vol. 12, No. 2. – P. 61-75. DOI: 10.17721/moca.2017.61-75. (in Ukrainian).

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. Plotycya**, L. Svorc // Sensors and Actuators B: Chemical. – 2018. – Vol. 270. – P. 9-17. DOI: 10.1016/j.snb.2018.05.012.

6. **Plotycya S.** A new approach for the determination of benzocaine and procaine in pharmaceuticals by single-sweep polarography / **S. Plotycya**, 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.

7. Dubenska L. Diazotation and azo coupling as the derivatization reactions for polarographic determination of some local anesthetics / L. Dubenska, **S. Plotycya**, M. Pylypets, S. Pysarevska // Voprosy khimii i khimicheskoi tehnologii. – 2018. – No 5. – P. 12-22.

8. **Plotycya S.** About the mechanism of the reduction of N-oxides of some local anesthetics with tertiary amine on DME / **S. Plotycya**, S. Pysarevska, O. Dushna, L. Dubenska // Bulletin of Lviv University. Series Chemistry. – 2019. – Vol. 60, No. 1. – P. 191-199 (in Ukrainian).

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.

Publications which certify the approbation of the results of the thesis:

10. **Plotycya S.I.** Polarographic determination of lidocaine by means of peroxymonosulfate / **S.I. Plotycya**, L.O. Dubenska, M.Ye. Blazheyevskiy // Book of Abstracts of "Kyiv Conference on analytical chemistry: Modern Trends", dedicated to the 100th anniversary of academician A.T. Pylypenko's birth. Kyiv, June 9-12, 2014. – Kyiv, 2014. – P. 148. (in Ukrainian).

11. **Plotycya S.** The use of peroxymonosulfate for the polarographic determination of trimecaine / **S. Plotycya**, L. Dubenska, M. Blazheyevskiy // Book of Abstracts of IV Scientific and Practical Seminar for Students, Postgraduates and Young Scientists "Applied Aspects of Electrochemical Analysis". Lviv, October 16-17, 2014. – Lviv, 2014. – P. 21. (in Ukrainian).

12. **Plotycya S.** N-oxidation of local anaesthetics as the derivatization for their polarographic determination / **S. Plotycya**, L. Dubenska, M. Blazheyevskiy, O. Sarahman // Book of Abstracts of XV Scientific Conference "Lviv Chemical Readings – 2015". Lviv, May 24-27, 2015. – Lviv, 2015. – P. 48-Y38. (in Ukrainian).

13. **Plotycya S.I.** Polarographic determination of some local anaesthetics by means of peroxymonosulfate / **S.I. Plotycya**, L.O. Dubenska, M.Ye. Blazheyevskiy // Book of Abstracts of "Kyiv Conference on analytical chemistry: Modern Trends", dedicated to the 110th anniversary of academician A.K. Babko's birth. Kyiv, October 7-9, 2015. – Kyiv, 2015. – P. 136. (in Ukrainian).

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.

15. **Plotycya S.I.** Diazotization and azo coupling reactions for the polarographic determination of local anaesthetics / **S.I. Plotycya**, M.Ya. Pylypets, L.O. Dubenska, M.Ye. Blazheyevskiy // Book of Abstracts of V Scientific and Practical Seminar for Students, Postgraduates and Young Scientists "Applied Aspects of Electrochemical Analysis". Lviv, October 6-1, 2016. – Lviv, 2016. – P. 30. (in Ukrainian).

16. **Plotycya S.I.** The comparison of the methods of novocaine derivatization for its polarographic determination / **S.I. Plotycya**, M.Ya. Pylypets, O.A. Strontsitska, L.O. Dubenska, M.Ye. Blazheyevskiy // Book of Abstracts of "Kyiv Conference on analytical chemistry: Modern Trends". Kyiv, October 18-22, 2016. – Kyiv, 2016. – P. 128. (in Ukrainian).

17. Plotnikova K.M. The technique of the polarographic determination of local anaesthetic bupivacaine / K.M. Plotnikova, O.M. Sarahman, **S.I. Plotycya**, L.O. Dubenska // Book of Abstracts of X Ukrainian Scientific Conference for Students, Postgraduates and Young Scientists with the International Participation "Chemical Problems of the Present". Vinnytsia, March 27-29, 2017. – Vinnytsia, 2017. – P. 33. (in Ukrainian).

18. Plotnikova K.M. The use of peroxy acids of polarographic determination of local anaesthetic bupivacaine / K.M. Plotnikova, O.M. Sarahman, **S.I. Plotycya**, L.O. Dubenska // Book of Abstracts of XVIII International Conference for Students and Postgraduates "Modern Problems of Chemistry". Kyiv, May 17-19, 2017. – Kyiv, 2017. – P. 173. (in Ukrainian).

19. Strontsitska O. N-oxidation of novocaine for its polarographic determination / O. Strontsitska, **S. Plotycya**, L. Dubenska // Book of Abstracts of XVI Scientific Conference "Lviv Chemical Readings – 2017". Lviv, May 28-31, 2017. – Lviv, 2017. – A.26. (in Ukrainian).

20. Strontsitska O.A. The technique of anestezone polarographic determination / O.A. Strontsitska, **S.I. Plotycya**, L.O. Dubenska // Book of Abstracts of "Kyiv Conference on analytical chemistry: Modern Trends". Kyiv, October 18-21, 2017. – Kyiv, 2017. – P. 160. (in Ukrainian).

21. Pysarevska S. Voltammetric determination of some local anesthetics as an alternative to traditional methods of their analysis / S. Pysarevska, L. Dubenska, O. Strontsitska, **S.I. Plotycya**, L. Svorc // Book of Abstracts of VIII Ukrainian Congress of Electrochemistry and VI Scientific and Practical Seminar for Students, Postgraduates and Young Scientists "Applied Aspects of Electrochemical Analysis", dedicated to the 100th anniversary of the National Academy of Sciences of Ukraine. Lviv, June 4-7, 2018. – Lviv, 2018. – P. 66-68. (in Ukrainian).

22. **Plotycya S.I.** Voltammetric determination of anesthetics of amide group with the preliminary derivatization / **S.I. Plotycya**, L.O. Dubenska // Book of Abstracts of "Kyiv Conference on analytical chemistry: Modern Trends". Kyiv, October 17-20, 2018. – Kyiv, 2018. – P. 42-43. (in Ukrainian).

23. **Plotycya S.** The approaches to the voltammetric determination of local anaesthetics / **S.I. Plotycya**, L.O. Dubenska // Book of Abstracts of Ukrainian Scientific Conference with the International Participation "Analytical Chemistry – Methods and Instruments". Uzhgorod, May 15-17, 2019. – Uzhgorod, 2019. – P. 17. (in Ukrainian).

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ І ПОЗНАЧЕНЬ.....	7
ВСТУП.....	9
РОЗДІЛ 1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	15
1.1. Місцеві анестетики – коротка хіміко-фармакологічна характеристика і методи визначення.....	15
1.2. Методи визначення місцевих анестетиків у лікарських формах і біологічних рідинах	18
1.2.1. Титриметричні методи визначення МА у субстанціях і простих лікарських формах (фармакопейні та нефармакопейні методики).....	19
1.2.2. Хроматографічні методи визначення МА	20
1.2.3. Спектриметричні методи визначення МА	22
1.2.4. Електрохімічні методи визначення МА (крім вольтамперометрії)	23
1.3. Вольтамперометрія в аналізі лікарських засобів	24
1.3.1. Вольтамперометричні методи визначення анестетиків	31
ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 1	42
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	44
РОЗДІЛ 2 РЕАКТИВИ, ОБЛАДАННЯ, МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ, УМОВИ ЕКСПЕРИМЕНТУ	56
2.1. Реактиви та розчини.....	56
2.1.1. Характеристика використаних у роботі анестетиків. Приготування вихідних розчинів анестетиків	56
2.1.2. Характеристика використаних у роботі окисників. Приготування і стандартизація розчинів окисників	58
2.1.3. Характеристика використаних у роботі реагентів, приготування розчинів ...	59
2.2. Обладнання	60
2.2.1. Виготовлення композитних електродів	62
2.3. Процедура вимірювань	63
2.4. Статистичне опрацювання результатів аналізу	65
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	67

РОЗДІЛ 3 РЕАКЦІЇ ОКИСНЕННЯ ДЛЯ ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧНОГО ВИЗНАЧЕННЯ МІСЦЕВИХ АНЕСТЕТИКІВ ГРУПИ АМІДІВ	69
3.1. Порівняння окисників як реагентів для полярографічного визначення анестетиків (на прикладі лідокаїну)	69
3.2. Вибір оптимальних умов полярографічного визначення МА групи амідів з використанням Оксону	76
3.2.1. Вплив рН на полярографічне відновлення N-оксидів МА групи амідів	77
3.2.2. Вплив рН і фонового електроліту на окиснення АН групи амідів	79
3.2.3. Вплив тривалості окиснення, співвідношення концентрації реагентів і нагрівання розчинів на полярографічне відновлення N-оксидів МА групи амідів .	81
3.2.4. Вплив швидкості розгортки напруги поляризації на відновлення N-оксидів МА.....	84
3.2.5. Метрологічні параметри полярографічного визначення АН у формі N-оксидів	87
Висновки до розділу 3.2.....	91
3.3. Умови полярографічного визначення бензокаїну та новокаїну з використанням Оксону	92
3.3.1. Вплив рН на полярографічне відновлення продуктів окиснення бензокаїну та новокаїну	93
3.3.2. Вплив тривалості окиснення, співвідношення концентрації реагентів і нагрівання розчинів на полярографічне відновлення дериватів бензокаїну та новокаїну	95
3.3.3. Вплив швидкості розгортки напруги поляризації	97
3.3.4. Метрологічні параметри полярографічного визначення Бен та Нов з використанням Оксону	100
Висновки до розділу 3.3.....	102
3.4. Окиснення бензокаїну на електродах, модифікованих композитами на основі поліаніліну.....	104
3.5. Окиснення бензокаїну на алмазному, допованому бором, електроді.....	108
3.5.1. Вплив рН та природи фонового електроліту на окиснення бензокаїну на	

АДБЕ.....	108
3.5.2 Вплив швидкості розгортки напруги поляризації	109
3.5.3. Оптимізація інструментальних параметрів визначення Бен за окисненням на АДБЕ методами диференційно-імпульсної і квадратно-хвильової вольтамперометрії.....	110
3.5.4. Метрологічні параметри визначення Бен за струмами окиснення на АДБЕ методами диференційно-імпульсної і квадратно-хвильової вольтамперометрії ...	112
Висновки до розділу 3.5.....	114
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	116
РОЗДІЛ 4 ДІАЗОТУВАННЯ Й АЗОСПОЛУЧЕННЯ ЯК РЕАКЦІЇ ДЕРИВАТИЗАЦІЇ ДЛЯ ПОЛЯРОГРАФІЧНОГО ВИЗНАЧЕННЯ МІСЦЕВИХ АНЕСТЕТИКІВ	119
4.1. Дослідження оптимальних умов реакції діазотування і відновлення на р.к.е. діазосолей Нов та Бен	119
4.2. Дослідження умов діазотування Лд і відновлення діазосолі на р.к.е.	125
4.3. Дослідження оптимальних умов реакції азосполучення діазосолей Нов та Бен і відновлення на р.к.е. азопохідних	128
4.3.1. Вибір азоскладової для полярографічного визначення Бен та Нов у формі азосполук та оптимальних умов азосполучення	129
4.3.2. Метрологічні параметри полярографічного визначення Бен та Нов у формі азосполук з резорцином	133
ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 4	136
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	138
РОЗДІЛ 5 ЗАСТОСУВАННЯ РОЗРОБЛЕНИХ МЕТОДИК ВИЗНАЧЕННЯ МА В АНАЛІЗІ ОБ'ЄКТІВ РІЗНОЇ ПРИРОДИ	140
5.1. Селективність полярографічного визначення МА групи амідів у лікарських засобах і біологічних рідинах з використанням Оксону	140
5.2. Визначення лідокаїну в лікарських засобах	142
5.3. Визначення лідокаїну в слині.....	146
5.4. Визначення тримекаїну в мазі “Левосин”.....	149

5.5. Визначення мепівакаїну в розчині для ін'єкцій	150
5.6. Полярографічне визначення бензокаїну та новокаїну у лікарських формах з дериватизацією з використанням Оксону	151
5.7. Визначення бензокаїну в лікарських засобах і сечі з використанням алмазного, допованого бором, електрода	154
5.7.1. Селективність визначення Бен у лікарських засобах і біологічних рідинах з використанням АДБЕ	154
5.7.2. Визначення бензокаїну за окисненням на АДБЕ у лікарських засобах	155
5.8. Визначення бензокаїну та новокаїну у лікарських формах за утворенням діазо-й азосполук	159
5.8.1. Селективність визначення Бен та Нов у лікарських засобах з використанням реакцій діазотування й азосполучення	160
5.8.2. Визначення Бен та Нов у лікарських засобах з використанням реакцій діазотування й азосполучення	161
5.8.3. Полярографічне визначення бензокаїну та новокаїну за їх сумісної наявності у розчинах	163
5.9. Валідація методик полярографічного визначення лідокаїну і мепівакаїну у розчинах для ін'єкцій з використанням Оксону	166
ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 5	173
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	176
ВИСНОВКИ	179
ДОДАТОК А	182
ДОДАТОК Б	187
ДОДАТОК В	190
ДОДАТОК Г	195

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ І ПОЗНАЧЕНЬ

Анестетики

АН – анестетик(-и);

Бен – бензокаїн;

Буп – бупівакаїн;

Лд – лідокаїн;

МА – місцеві анестетики;

Меп – мепівакаїн;

Нов – новокаїн

Тр – тримекаїн.

Методи вольтамперометрії

ВА – вольтамперометрія, вольтамперометричний;

ДІВ – диференційно-імпульсна вольтамперометрія;

КХВ – квадратно-хвильова вольтамперометрія;

ЛВА – вольтамперометрія з лінійною швидкою розгорткою потенціалу;

ЦВА – циклічна вольтамперометрія.

Електроди вольтамперометрії

АДБЕ – алмазний, допований бором електрод;

ВПЕ – вугільно-пастовий електрод;

ГПЕ – графітовий пастовий електрод;

ЕТД – електроди трафаретного друку;

р.к.е. – ртутний краплинний електрод;

РЕВК – ртутний електрод з висячою краплею;

СВЕ – скловуглецевий електрод;

ХМЕ – хімічно модифіковані електроди.

Інші скорочення

ВНТ – вуглецеві нанотрубки;

ВЕРХ-МС – високоефективна рідинна хроматографія з мас-спектрометричним детектуванням;

ГХ-МС – газова хроматографія з мас-спектрометричним детектуванням;

ГХ-ПД – газова хроматографія з полуменево-іонізаційним детектором.

ДФУ – Державна Фармакопея України;

КЕ – капілярний електрофорез;

КПМС – калій пероксимоносульфат;

ЛЗ – лікарський засіб;

ЛП – лікарський препарат;

ЛР – лікарська речовина;

ЛФ – лікарська форма;

МІП – молекулярно імпринтовані полімери;

ПАБК – *p*-амінобензойна кислота;

пАн – поліанілін;

РДЗ – розчин досліджуваного зразка;

РСЗ – розчин стандартного зразка;

УБС – універсальна буферна суміш;

ВІА – порційний інжекційний аналіз (batch injection analysis);

FIA – протічний інжекційний аналіз (flow injection analysis).

ВСТУП

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

pH) за участю чотирьох електронів і трьох протонів за pH 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 pH 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 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 Лд, Бен та Нов з дериватизацією за реакцією окиснення калій пероксимоносульфатом (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.Р. 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.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Місцеві анестетики – коротка хіміко-фармакологічна характеристика і методи визначення

Засоби для місцевої анестезії (з грец. *an* – заперечення і *aesthesia* – чутливість) (місцеві анестетики, МА) – це лікарські засоби рослинного або синтетичного походження, які викликають оборотну втрату спочатку больової, а потім інших видів чутливості внаслідок прямого контакту з електростимулювальною мембраною нервових клітин, зокрема їх відростків, а також синапсів [1]. Місцеві анестетики – це речовини, які широко застосовують не тільки в анестезіології під час хірургічних втручань, але й в офтальмології, отоларингології, стоматології та для лікування хронічного та онкологічного болю. Механізм знеболювального ефекту полягає у зміні електрохімічних процесів у нервах або нервових волокнах. Анестетики (АН) концентруються у ліпідному шарі нервової тканини, де, власне, відбувається анестезія за рахунок відключення потоку імпульсів від хворобливої ділянки до центральної нервової системи [2]. Поряд з їхньою класичною дією на натрієві канали, МА взаємодіють з іонними каналами кальцію, калію, каналами з лігандами та рецепторами, пов'язаними з G-білком [2].

Здебільшого МА використовують епідурально, місцево або підшкірно. Більші концентрації МА використовують для спинальної анестезії. На швидкість поглинання та розподілу МА впливають різні чинники. Найважливіші з них – це місце та спосіб введення, характеристики кровотоку, зв'язування з білками плазми, фізико-хімічні властивості (тобто pK_a , гідрофобність). Механізми дії, нейроанатомія та клінічне застосування детально описані в [2-7].

Головними клінічними характеристиками МА є: потужність, швидкість розвитку ефекту (латентний період), тривалість дії, токсичність. Потужність МА залежить від їхньої здатності розчинятися в жирах. МА з більшою здатністю до розчинення в жирах є потужнішими. Оскільки мембрани нейронів є ліпопротеїновою матрицею, яка на 90% складається з ліпідів, ліпофільність МА

сприяє їхньому проникненню крізь мембрани, а це прискорює зв'язування з протеїнами внутрішньоклітинної частини натрієвих каналів [1, 3, 5].

МА є слабкими основами ($pK_a=7,6-9,0$). Крізь клітинну мембрану проникають здебільшого неіонізовані молекули. Що більше значення pK_a для АН, тим менше молекул доступно в їхній жиророзчинній формі, і це затримує дію анестетика. МА з більшими pK_a (бупівакаїн, ропівакаїн) характеризуються уповільненим початком дії [3, 4, 8]. Однією з найважливіших характеристик МА є тривалість їх дії. Вона залежить від здатності МА зв'язуватися з білками (здебільшого, з α -глікопротеїном). МА тривалої дії мають високий потенціал зв'язування з білками. У пацієнтів з низьким вмістом білків у плазмі існує підвищений ризик виявів системної токсичності МА [2-3].

Отже, тривалість нейрональної блокади, а також вияви системної токсичності МА значною мірою залежать від швидкості системної абсорбції анестетика з моменту його введення в організм. Чинники, від яких залежить швидкість абсорбції МА, – це ступінь іонізації, тобто pK_a МА, його жиророзчинність та здатність зв'язуватися з білками плазми.

Фізико-хімічні властивості МА залежать від структурної будови молекул МА. Структури усіх МА є подібними. Молекулу усіх МА умовно можна зобразити з трьох частин: ліпофільне ароматичне кільце, гідрофільний третинний амін та “місток”, який з'єднує ці дві частини (рис. 1.1). МА поділяють на дві групи з огляду на хімічну природу “з'єднувального містка”: на заміщені аніліди (аміди) та естери. Найвідоміший МА серед естерів – новокаїн (інша назва – прокаїн), а серед амідів – лідокаїн (ксикаїн). До естерів також належать бензокаїн (анестезин), тетракаїн (дикаїн), ортокаїн, оксетакаїн. До амідного типу МА належать тримекаїн, етидокаїн, прилокаїн, артикаїн (ультракаїн), мепівакаїн, ропівакаїн, бупівакаїн [3-8].

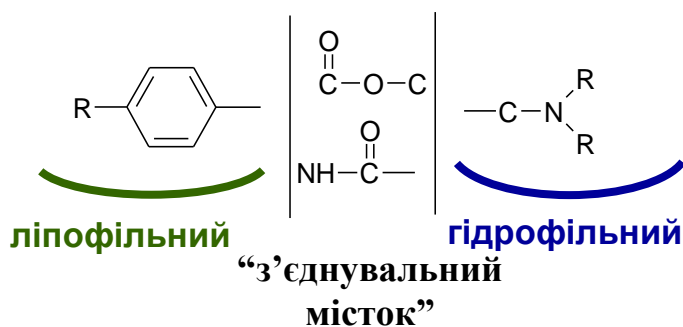


Рис. 1.1. Схематичне зображення структури МА.

МА амідного типу є погано розчинними основами, тому їх використовують у формі добре розчинних солей, здебільшого гідрохлоридів. Амідні та естерні МА різняться між собою за метаболізмом та хімічною стійкістю. Естерні МА легко гідролізують під дією естераз тканин, вони також швидко розкладаються у лужному середовищі неферментативно. Тому тривалість їхньої дії невелика. АН амідної групи здебільшого метаболізують під дією мікросом печінки і відносно стабільні в лужних розчинах, тому діють довше [3-4, 9].

У медичній практиці МА застосовують як індивідуальні речовини або як компоненти в комбінованих лікарських засобах (ЛЗ). Однак, поряд із лікувальним ефектом, МА можуть викликати деякі небажані побічні ефекти, такі як серцево-судинні, алергічні реакції, дерматит та кропив'янку, печіння, навіть анафілактичний шок, ангіоневротичний набряк та метгемоглобінемію [6-9]. Неприятливі побічні ефекти виявляються у разі підвищених концентрацій АН у крові, коли перевищена рекомендована доза або при надто швидкому введенні ліків, а також у пацієнтів з повільним обміном речовин. У разі індивідуальної непереносимості навіть терапевтичні дози МА можуть викликати негативні наслідки. МА амідного типу є стійкішими від МА естерного типу, тому менше викликають алергічні реакції. Токсичний ефект МА спостерігався за концентрації 5-10 мкг/мл у плазмі для лідокаїну та мепівакаїну [5, 10]. Максимальна добова доза різних МА залежить також від способу їх введення в організм людини. Максимально переносима доза АН амідного типу є в межах від 1,4 до 9,8 мг/кг [9, 11], зокрема, для лідокаїну – 3 мг/кг. Для естерів новокаїну – 10 мг/кг, а для бензокаїну – 21 мг/кг [12].

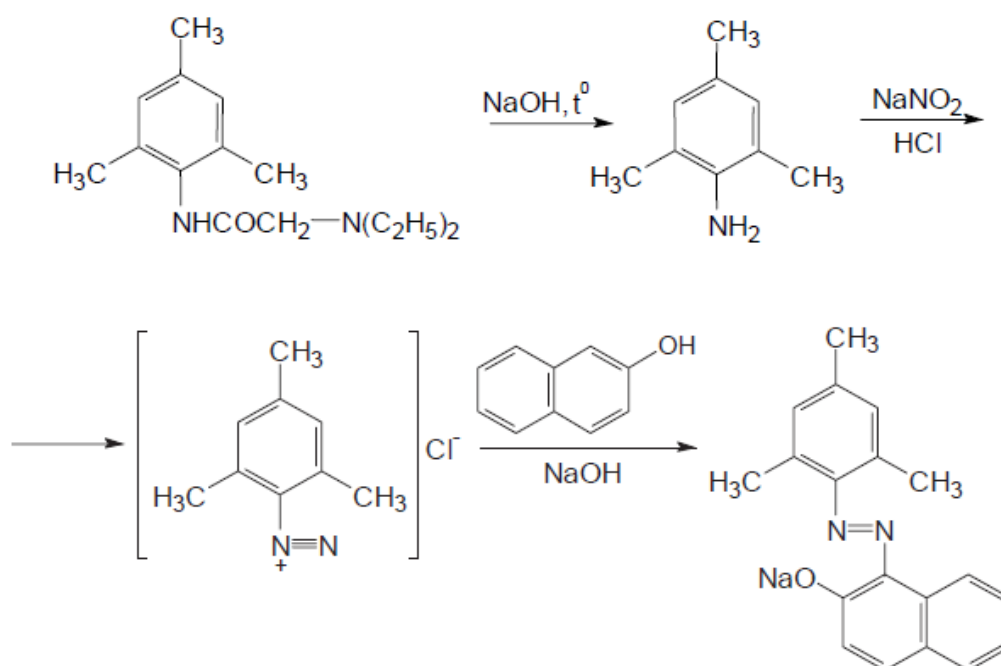
Тому безпечне та ефективне використання ЛЗ потребує багаторівневого

контролю їхньої якості на всіх етапах виготовлення – від синтезу субстанції до отриманням готових лікарських форм. Актуальним залишається розроблення нових методик аналізу через проблему фальсифікування ліків. Більш того, контролювати вміст АН треба не тільки в готових лікарських формах, а й їхні залишкові кількості й метаболіти у біологічних рідинах чи тканинах.

1.2. Методи визначення місцевих анестетиків у лікарських формах і біологічних рідинах

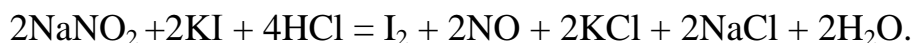
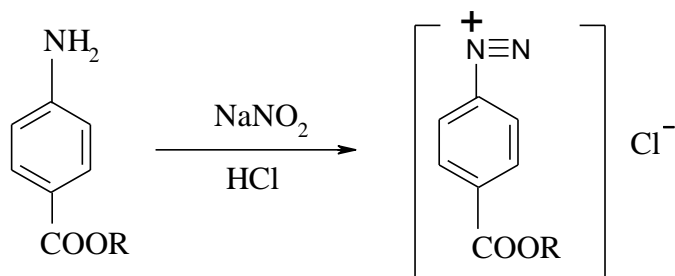
Для визначення АН використовують різні аналітичні методи, залежно від їхньої кількості в об'єкті, складу та властивостей матриці. Підставою для формування аналітичного сигналу АН можуть бути різні функціональні групи. Перш за все, зазначимо, що для якісної ідентифікації АН, які містять вільну аміногрупу (бензокаїн, новокаїн), у субстанціях найчастіше використовують реакції діазотування (натрій нітритом у середовищі хлоридної кислоти) з наступним азосполученням (у лужному розчині з β -нафтолом). Утворюються азобарвники жовтогарячого або червоного кольору [3, 13]. Також використовують реакції утворення азометинових барвників (основ Шиффа) взаємодією з ацетоном чи ароматичними альдегідами. Утворюються продукти жовтого кольору [3, 13].

За аналогічними реакціями, однак після попереднього кислотного або лужного гідролізу, ідентифікують лідокаїн (Лд) і тримекаїн (Тр) [13]:



1.2.1. Титриметричні методи визначення МА у субстанціях і простих лікарських формах (фармакопейні та нефармакопейні методики)

Для визначення вмісту основної речовини в субстанціях бензокаїну (Бен) та новокаїну (Нов) Державна Фармакопея України (ДФУ) [13] та Фармакопея США [14] пропонують використовувати метод нітритометричного титрування; для Лд та Тр – ацидиметрію у неводному середовищі. Нітритометричне визначення Бен чи Нов полягає у титруванні стандартним 0,1 М розчином NaNO_2 в хлориднокислому середовищі за наявності KBr . Титрування виконують за 18-20 °С. Визначення ґрунтується на діазотуванні вільної аміногрупи. Точку еквівалентності фіксують потенціометрично або за допомогою індикаторів. Як індикатори можуть використовувати суміш тропеоліну 00 і метиленового синього до переходу червоно-фіолетового забарвлення розчину в голубе. Можливе використання також зовнішнього індикатора – йодокрохмального паперу. Після точки еквівалентності крапля титрованого розчину, нанесена на індикаторну смужку, спричинює посиніння внаслідок реакції між надлишковою кількістю NaNO_2 і KI , яким просякнутий папір [13]:



Визначення Лд чи Тр виконують прямим титрування розчину субстанції АН у безводній ацетатній кислоті стандартним розчином HClO_4 за наявності $\text{Hg}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ (для зв'язування хлорид-іонів у малорозчинну сіль). Як індикатор використовують кристалічний фіолетовий [3, 13].

Визначати АН у субстанції можна також нефармакопейними методами: Бен – зворотним броматометричним титруванням з йодометричним закінченням, а також за зворотним йодохлорометричним титруванням. Лд та Нов титрують алкаліметрично за зв'язаною хлоридною кислотою за наявності екстрагента –

хлороформу, у який вилучається малорозчинна у воді утворена основа. Індикатор – фенолфталеїн [3].

Описано непрямий титриметричний метод визначення Лд та Тр, який ґрунтується на їхньому окисненні надлишком пероксимоносульфатної кислоти в слаболужному середовищі з наступним визначенням надлишку непрореагованої кислоти методом йодометричного титрування. Окисно-відновна реакція відбувається стехіометрично з утворенням відповідних N-оксидів. Найбільша швидкість окиснення обох ЛР простежується у межах рН 8,5-9,3, а реакція завершується через 1 хв. За такою методикою можна визначати Лд і Тр у субстанціях та лікарських формах до 0,05-0,1 мг/мл [15, 16].

1.2.2. Хроматографічні методи визначення МА

Одним із найселективніших і найнадійніших методів аналізу є хроматографія, особливо, високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ). Головною перевагою хроматографії є можливість багатокомпонентного аналізу. Деякі методики дають змогу одночасно визначати МА та їхні метаболіти і можуть бути використані для аналізу біологічних об'єктів. У 2011 було опубліковано оглядову статтю про методи хроматографічного визначення МА у біологічних зразках [17]. Пізніше з'явилися нові оригінальні роботи, пов'язані із застосуванням хроматографії для визначення МА [18-21]. Наприклад, у [19] запропоновано методику одночасного визначення дев'яти АН у сироватці людини. Межа виявлення є співмірною з терапевтичною концентрацією АН, тому методику можна застосовувати в клінічних дослідженнях і судовій медицині. У табл. 1.1. наведено коротку характеристику деяких методик хроматографічного визначення АН.

Однак, навіть хроматографічний метод є обмеженим, коли йдеться про аналіз об'єктів із складною матрицею, такі як біологічні зразки. У такому разі часто застосовують один чи декілька етапів пробопідготовки зразка, щоб усунути вплив сторонніх речовин, підвищити чутливість визначення та інструментальну ефективність [21].

Таблиця 1.1

Коротка характеристика деяких методик хроматографічного визначення АН

Анестетик	Метод	Об'єкт аналізу	Межа виявлення	Межа визначення	Літ-ра
Лідокаїн Бупівакаїн Мепівакаїн Дібукаїн Оксибупрокаїн Новокаїн Ропівакаїн Тетракаїн Т-каїн	ВЕРХ-МС	людська сироватка	0,012 нг/мл 0,026 нг/мл 0,005 нг/мл 0,049 нг/мл 0,105 нг/мл 0,1 нг/мл 0,009 нг/мл 0,02 нг/мл 0,033 нг/мл	10 нг/мл	[19]
Бензокаїн Лідокаїн	ВЕРХ-МС	косметичні креми, аерозоль	0,05 мкг/мл 0,01 мкг/мл	0,15 мкг/мл 0,05 мкг/мл	[20]
Лідокаїн Прілокаїн Ропівакаїн	РХ-МС	людська плазма, слина людини	4 нМ 4 нМ 2 нМ	5 нМ	[21]
Бупівакаїн Мепівакаїн Прілокаїн Ропівакаїн	РХ-МС	людська сироватка	-	1 нг/мл	[22]
Бупівакаїн Мепівакаїн Ропівакаїн	Капілярна ГХ-ПІД	людська сироватка	-	1,5 мкг/мл	[23]
Ропівакаїн	ВЕРХ-МС	плазма кролика	-	<75 нг/мл	[24]
Бупівакаїн Лідокаїн Тетракаїн	ВЕРХ	людська плазма	0,015 мг/л 0,005 мг/л 0,025 мг/л	-	[25]
Бупівакаїн Мепівакаїн Ропівакаїн	ВЕРХ-УФ	людська сироватка	-	5 нг/мл 2 нг/мл 5 нг/мл	[26]
Лідокаїн	ВЕРХ	плазма щурів	0,01 мкг/мл	0,05 мкг/мл	[27]
Артикаїн	РХ-МС	людська плазма	9,8 нг/мл	78,1 нг/мл	[28]

Методи, які зазвичай використовують для підготовки зразка для хроматографічного аналізу, – це рідинна чи твердофазна екстракція [19, 20-23], та ультра-чи мікрофільтрація [22]. Етап пробопідготовки займає до 75% усього часу аналізу [17]. Використовують також осадження білків за допомогою трихлороацетатної кислоти [24]. Останні тенденції у пробопідготовці зразків біологічних рідин сфокусовано на зменшенні об'єму зразка, скороченні тривалості аналізу, використанні менших кількостей розчинників, автоматизації методу екстракції [17]. Зауважимо, що саме хроматографічне визначення АН регламентовано в ДФУ [13].

Незважаючи на високу селективність і низьку межу визначення, хроматографія має низку обмежень, такі як висока вартість обладнання і витратних матеріалів, довга тривалість аналізу, використання порівняно великих кількостей токсичних органічних розчинників.

1.2.3. Спектрометричні методи визначення МА

Зазвичай, спектрометричні методики є значно менше селективними і чутливими, ніж хроматографічні. Однак беззаперечною перевагою спектрофотометрії, зокрема, є простота аналізу й економічна доступність. В огляді [29] детально обговорюються спектрометричні методи визначення АН (ІЧ, УФ, хемілюмінесція, атомно-абсорбційна спектрометрія). Головну увагу автори звертають на спектрофотометричні, екстракційно-фотометричні, і сорбційно-спектроскопічні методики визначення МА з використанням хромогенних органічних реагентів. Також детально розглянуто методики визначення трьох МА: Нов, Лд й ультракаїну. Зауважимо, що автори [29] цитують багато власних робіт, які ґрунтуються на утворенні іонних асоціатів МА з трифенілметановими барвниками.

Загалом методики спектрофотометричного визначення МА можна поділити на дві групи:

1. спектрофотометричне визначення в УФ-ділянці спектру – аналітичним сигналом є власне поглинання МА;
2. утворення кольорових іонних асоціатів МА з органічними реагентами.

Для МА характерне значне світлопоглинання в УФ-ділянці спектру, що зумовлено наявністю ароматичних кілець та π - π^* -електронними переходами в

ньому. Для кожного МА характерний різний вигляд спектру з різною інтенсивністю світлопоглинання. Методики є досить чутливими, проте неселективними, оскільки у цій ділянці спектру поглинають дуже багато органічних речовин різних класів. Методики, які ґрунтуються на власному поглинанні МА, використовують для аналізу чистих субстанцій та однокомпонентних лікарських засобів за умови, що допоміжні речовини не заважають визначенню цільових аналітів. Часто у такому разі використовують попередню екстракцію досліджуваного АН. Зокрема, запропоновано пряме спектрофотометричне визначення Лд в мазі ($\lambda_{\text{макс}} = 263 \text{ нм}$) [30], бупівакаїну в ЛЗ ($\lambda_{\text{макс}} = 262 \text{ нм}$) [31]. Утворення забарвлених сполук МА описано у [32] – Лд з феноловим червоним і хлорфеноловим червоним з максимумами поглинання за 556 та 572 нм відповідно; у [33] – з еозин-метиленовим синім; у [34] – з пара-хлораніловою кислотою.

Відзначимо також оригінальну роботу [35], у якій для кольориметричного оцінювання введеного підшкірно людині Нов застосували реакцію діазотування тимола з подальшим азосполученням з Нов. Аналітичною формою є азосполука, яка поглинає світло за $\lambda_{\text{макс}} = 490 \text{ нм}$ [35].

1.2.4. Електрохімічні методи визначення МА (крім вольтамперометрії)

Для потенціометричного визначення Нов і Лд використовують іон-селективні електроди на основі іонних асоціатів МА з тетрафенілборат-іоном. Розроблена методика сумісного визначення Нов та Лд в сумішах з цефтріаксоном і цефазоліном у межах концентрацій МА $10^{-2} - 10^{-5} \text{ М}$ [36].

Також для потенціометричного визначення вмісту Нов та Лд у водних розчинах і лікарських формах використали сенсор, аналітичним сигналом якого є потенціал Доннана (ПД-сенсор) [37-38]. Відносна похибка визначення Нов і Лд у досліджуваних розчинах не перевищувала 10 %, а мінімальна межа визначення була на рівні $1 \cdot 10^{-4} \text{ М}$ [38].

Метод потенціометричного титрування є фармакопейним у Росії для визначення лідокаїну гідрохлориду у субстанції. Точну наважку субстанції розчиняють у спирті і титрують потенціометрично розчином NaOH. При цьому 1 мл 0,1 моль/л розчину натрій гідроксиду відповідає 27,08 мг лідокаїну [39].

Відзначимо також, що, використовуючи поєднання електрохімічного розділення методом капілярного електрофорезу з УФ-детектором, ідентифікували Лд і бупівакаїн в сечі та крові людини за допомогою приладу “Капель-105” ($\lambda_{\text{макс}}=200$ нм) [40].

1.3. Вольтамперометрія в аналізі лікарських засобів

Вольтамперометрія (ВА) є привабливою альтернативою для фармацевтичного аналізу через низку переваг: висока чутливість і селективність, широкий діапазон концентрацій (від 10^{-9} до 10^{-2} моль/л), правильність, порівняно короткий час аналізу, просте, доступне і портативне обладнання, економічна ефективність. Більшість діючих лікарських речовин (ЛР) – активних фармацевтичних інгредієнтів, на відміну від допоміжних речовин лікарських засобів (ЛЗ), відновлюються або окиснюються на електродах. Тому вольтамперометричні методики часто не поступаються за селективністю хроматографічним, особливо в аналізі зразків з “неелектроактивною” матрицею [41]. Методами ВА можна аналізувати каламутні, забарвлені, неводні розчини, а метод твердофазової вольтамперометрії мікрочастинок (solid state voltammetry of microparticles) або по-іншому – абразивної інверсійної вольтамперометрії (abrasive stripping voltammetry), дає змогу визначати групи речовин у різних твердих зразках (таблетки, частини лікарських рослин) без попереднього розчинення зразків. ВА методи відповідають вимогам “зеленої” хімії, оскільки не потребують великої кількості органічних розчинників, значно спрощується підготовка зразка, зменшується кількість потрібних реагентів, тому скорочується тривалість аналізу і зменшується споживання енергії. Більше того, перспектива мініатюризації пристроїв зі збереженням перелічених вище властивостей збагачує перелік переваг. Про широкі можливості і перспективи у галузі ВА як методу визначення ЛР ми зазначали також в оглядовій статті [41], яка містить понад 140 літературних посилань, серед

них фармакопеї, монографії, оглядові статті, а головну увагу зосередили на оригінальних публікаціях прикладного характеру за період 2010-2017 рр. В огляді показано тенденції розвитку ВА, переваги та обмеження методу в аналізі ЛЗ і біологічних рідин. Ми зазначили, що для визначення ЛР у лікарських формах, біологічних рідинах, тканинах, продуктах харчування здебільшого використовують методи диференційної імпульсної (ДІВ) і квадратно-хвильової вольтамперометрії (КХВ), а також інверсійні методи з нагромадженням (adsorptive stripping) як у катодному, так і в анодному режимах. Метод циклічної вольтамперометрії (ЦВА) здебільшого використовують для вивчення механізмів відновлення-окиснення, стабільності, здатності адсорбуватися, кінетики гідролізу ЛР тощо [41].

Однією з перших робіт у царині ВА для аналізу фармпрепаратів була вітчизняна монографія [42], в якій ґрунтовно розглянуто багато методик полярографічного визначення ЛР, а також різні способи дериватизації у полярографії для речовин, які не відновлюються на ртутному краплинному електроді. Піонерською є також робота [43], у якій наведено електроактивні функціональні групи ЛР, вперше детально розглянуто поєднання полярографії (або ВА) з хроматографічним розділенням, а також представлено кореляцію між полярографічними характеристиками і бактеріостичною активністю сульфаніл-амідних препаратів. У роботі [44] методом полярографії досліджено понад 30 психотропних речовин і показано придатність методу для розроблення методик визначення цих речовин *in vivo*.

Про інтерес до ВА як методу визначення ЛР свідчить постійне збільшення кількості публікацій, а журнал “Current Analytical Chemistry” у 2018-2019 рр. опублікував декілька тематичних номерів. За останні два роки було опубліковано декілька оглядових праць, які присвячено як ВА аналізу окремих груп ЛЗ [45-50], так і розвитку методу у напрямі фармацевтичного аналізу і клінічної діагностики загалом [51-63].

Зокрема, у [45] описано 33 різновиди офтальмологічних препаратів, які досліджували ВА методами, з посиланням на майже 140 статей. Автори об'єднали офтальмологічні препарати у сім груп: антибіотики, противірусні засоби, нестероїдні протизапальні засоби, протиглаукомні речовини, стероїдні препарати, місцеві анестетики та інше. Порівнювали ВА методи, електроди, оптимальні рН, потенціали піків, межі виявлення та визначення, діапазони лінійності, вплив сторонніх речовин і зробили висновок, що ВА є кращим методом для визначення офтальмологічних препаратів через простоту, високу чутливість, низьку вартість, доступність [45]. У [46] (процитовано 119 літературних джерел) розглянуто електроаналітичні методи для визначення електроактивних трициклічних психотропних препаратів, які використовують у антидепресивній терапії; у [47] (75 джерел) описано ВА датчики для визначення сульфаніламідів; у [48] (203 джерела) – для нестероїдних протизапальних препаратів; [49] (36 джерел) присвячено визначенню однієї лікарської речовини – каптоприлу, яку застосовують для лікування гіпертонії і помірної серцевої недостатності. В усіх цих [45-49] дослідженнях досить детально висвітлено властивості кожного датчика, наявна інформація про діапазони лінійності, межі виявлення, відтворюваність, повторне використання електродів тощо.

Окремо відзначимо публікацію [50], у якій порівнювали хроматографічні й електрохімічні методи визначення протиракових препаратів (серед 169 літературних посилань понад 50 стосується ВА). У цій статті зазначено, що головною перевагою хроматографії є висока селективність і здатність визначати одразу декілька аналітів, однак методам ВА властива специфічність у процесі біологічного розпізнавання, аналіз швидкий і надійний, здебільшого не потребує складної пробопідготовки [50].

В огляді [51] (153 посилання) описано останні розробки щодо видів електродів для аналізу ЛЗ та визначення біомолекул: електроди, створені методом трафаретного друку (електроди трафаретного друку, ЕТД, screen printed electrodes) та методом струменевого друку (inkjet printed electrodes), електроди на основі амальгами срібла (у тім числі плівкові і модифіковані ртутним меніском),

електроди на паперовій основі. Також автори акцентують увагу на сучасних модифікаторах електродів для фармацевтичного і клінічного аналізу – це іонні рідини, молекулярно імпринтовані полімери (МІП) й аптамери [51].

Оглядову працю [52] (119 посилань) присвячено ЕТД: різноманітним конструкціям, принципам роботи та застосуванню для визначення ЛР та біологічних сполук. ЕТД – це надійні одноразові, прості у використанні сенсори із швидким відгуком, для яких достатньо дуже невеликого об'єму зразка. Існує достатньо багато комерційно доступних ЕТД. Крім того, ЕТД легко модифікувати за допомогою ферментів, антитіл, металевих плівок, полімерів, наноматеріалів тощо. Тому їх успішно застосовують для виявлення *in situ* великої кількості ЛР у складних матрицях [52].

У багатьох працях головну увагу зосереджено на матеріалі робочого електрода. Так, публікації [53-54] присвячено використанню у ВА аналізі електродів з різних модифікацій вуглецю. Головною причиною популярності таких електродів у ВА є те, що вуглець існує у різних формах, які можна легко пристосувати до потреб експерименту. Найпоширенішими такими електродами є: скловуглецевий електрод (СВЕ), вугільний пастовий електрод (ВПЕ), графітовий пастовий електрод (ГПЕ), алмазний електрод допований бором (АДБЕ), графен- та графіт-композитні електроди, друковані електроди тощо. ВПЕ та ГПЕ недорогі, їх легко виготовити в лабораторних умовах, можна легко відновлювати поверхню, для них характерні відносно широкі робочі діапазони потенціалів (від -1,4 до +1,3 В), нижчі фонові струми порівняно із СВЕ та електродами із шляхетних металів, сумісність з різними модифікаторами.

В оглядовій статті [53] (150 посилань) обговорено методики попередньої обробки таких електродів, які використовують для їхньої активації (поліпшення чутливості та селективності датчиків до цільових аналітів): механічне полірування, очищення розчинниками, вакуумна і лазерна термічна обробка, мікрохвильова і радіочастотна обробка, електрохімічна поляризація. Значну частину публікації відведено описанню останніх досягнень у ВА визначенні ЛР у готових лікарських

формах і в біологічних рідинах, нейромедіаторів у біологічних рідинах, а також харчових добавок, пестицидів у харчових продуктах [53].

В огляді [54] (201 посилання) описано недавній прогрес у застосуванні вуглецевих наноматеріалів в електрохімічній біосенсорикі. Автори описали використання у цій галузі графену та його похідних, вуглецевих нанотрубок, мезопористого вуглецю, вуглецевих нановолокон та наносфер. Крім того, детально обговорено біосенсиори на основі вуглецевих наноматеріалів з погляду модифікування речовинами-каталізаторами (ферментами і неферментативними каталізаторами) та на основі афінності (з використанням антитіл, дезоксирибонуклеїнової кислоти та аптамерів) [54].

Ми уже повідомляли про значні переваги АДБЕ: широкий робочий діапазон потенціалів (від -1 до +2,5 В), механічну стійкість та стійкість у лужному і в кислому середовищі, стабільність відклику, слабку адсорбцію речовин на поверхні, низькі фонові струми [41]. АДБЕ є особливо ефективним для визначення аналітів, які окиснюються за високих позитивних потенціалів. В огляді [55] досить детально описано, як впливають на продуктивність АДБЕ різні чинники: вміст бору, попередня електрохімічна обробка електрода (катодна чи анодна поляризація), експлуатаційні умови. Також наведено широкий огляд наукової інформації про останні досягнення у застосуванні немодифікованих та модифікованих АДБЕ для визначення ЛР (анальгетиків, антибіотиків, жарознижуючих, протизапальних, антигіпертензивних засобів, антидепресантів, вітамінів та ін.) у лікарських формах, біологічних рідинах (сеча, сироватка, цільна кров) та об'єктах довкілля (поверхневі, підземні, морські та стічні води) [55].

Окремо відзначимо оглядову працю [56] про використання АДБЕ як детектора протічних систем (високоєфективної рідинної хроматографії, ВЕРХ і капілярного електрофорезу, КЕ) та в інжекційному аналізі – протічному (flow injection analysis, FIA) і порційному (batch injection analysis, BIA). Матеріал цієї статті поділено на підрозділи згідно з використанням АДБЕ для кожного з видів протічних систем окремо – FIA, BIA, ВЕРХ і КЕ. Однак більшість цитованих у [56] оригінальних публікацій стосується визначення ЛР у фармпрепаратах і біологічних рідинах.

Значна кількість найновіших досліджень зосереджена на особливостях використання хімічно модифікованих електродів (ХМЕ). Поверхню всіх електродів, виготовлених з вуглецевих матеріалів, а в деяких випадках шляхетних металів, можна модифікувати: поверхнево-активними речовинами, квантовими точками, ферментами, золотими, платиновими, срібними та оксидними наночастинками, білками, нанокompозитами на основі полімерів тощо. Модифікатори розширюють робочий діапазон потенціалів електродів, спричинюють каталітичні ефекти, мають добру біосумісність. Це сприяє значному підвищенню чутливості і поліпшенню селективності ВА визначення ЛР [41, 57]. Працю [57] присвячено ХМЕ на основі наноматеріалів для аналізу ЛЗ. Огляд охоплює період з 2000 до 2017 р. і налічує 224 літературних посилання. Описано електроди для ВА визначення різних класів ЛР: анальгетиків, антибіотиків, протиглисних, протитуберкульозних, протиалергійних, від серцево-судинних і шлунково-кишкових захворювань. Окремий розділ [57] присвячено ВА визначенню енантіомерів деяких хіральных препаратів.

Популярними модифікаторами електродів є вуглецеві нанотрубки (ВНТ). В огляді [58] підбито підсумки про досягнення у виготовленні ХМЕ і біосенсорів з використанням ВНТ (процитовано 89 джерел). Поліпшені характеристики таких електродів зумовлені великою площею поверхні та хорошою провідністю ВНТ, а також електрокаталітичними властивостями. Автори [58] відзначають синергетичний ефект комбінації ВНТ з іншими модифікаторами (іонними рідинами, електропровідними полімерами, графеном, наночастинками металів і оксидів металів тощо), який підвищує ефективність таких датчиків.

Одними з найбільш перспективних способів модифікації електродів на сьогодні є застосування МІП. Очевидно, саме тому майже одночасно з'явилося одразу три незалежних оглядових праці, присвячених використанню МІП у ВА аналізі ліків і біологічних рідин [59-61]. Автори [59] (106 літературних цитувань) зазначають, що МІП є стійкішими, порівняно з біологічними рецепторами (ферментами, білками тощо), їх легше виготовити і можна використовувати у жорсткіших умовах. У цій праці узагальнено основні етапи синтезу МІП від вибору

реагентів (мономерів, ініціаторів полімеризації) до вибору методу полімеризації (масова полімеризація, *bulk polymerization*; золь-гель; *in situ* тощо), обговорюються механізми зв'язування між аналітом-шаблоном та молекулами мономеру в процесі електрохімічної полімеризації, а також між аналітом і МПП в процесі детектування. Окремий розділ присвячено визначенню ЛР: обговорюються ВА методи, які використовують для визначення ЛР за допомогою МПП-платформ; речовини-аналіти, з погляду їхньої клінічної класифікації; способи пробопідготовки лікарських форм, біологічних рідин, продуктів харчування. У [60] (процитовано 202 джерела) головну увагу спрямовано на поєднання МПП та вуглецевих наноматеріалів (ВНТ, графену, оксиду графену і відновленого оксиду графену, графенових квантових точок, фулерену) для конструювання ВА датчиків. У [61] (процитовано 240 джерел) також зауважено, що ефективність МПП-датчика можна поліпшити за рахунок включення в полімерну матрицю електропровідних наноматеріалів (золотих і магнітних наночастинок, ВНТ, графену). Автори трьох публікацій єдині у висновку, що можливість мініатюризації МПП-платформ разом з нетривалим аналізом, невеликою кількістю етапів пробопідготовки або взагалі без неї, відносно низькі витрати та надійність є ключовими перевагами для подальшого їх розвитку і впровадження у галузі фармацевтичної промисловості і клінічного аналізу для контролю якості ліків, безпеки харчових продуктів і медичної діагностики. У майбутньому головні зусилля треба спрямовувати на промислові та комерційні застосування цих перспективних датчиків [59-61].

Ще один з найновіших оглядів присвячено особливим електрохімічним сенсорам на основі аптамерів [62] (112 літературних цитувань). Головну увагу зосереджено на нещодавніх досягненнях у галузі харчової, екологічної та клінічної діагностики: аптамери широко використовують для визначення пестицидів, біомаркерів раку, серцево-судинних захворювань, деменції та хвороби Альцгеймера, харчових токсинів. Серед ЛР з найбільшим успіхом визначають антибіотики. Є роботи з визначення стрептоміцину, канаміцину, тетрацикліну, окситетрацикліну і ципрофлоксацину, однак дослідження більше спрямовано на визначення залишків цих ЛР у продуктах харчування (молоці і м'ясі) і у водах

(питних, поверхневих) з погляду попередження резистентності у людини і мікроорганізмів. Типовими електрохімічними методами, які застосовують для аптасенсорів у клінічній діагностиці є ЦВА, ДІВ, КХВ, хроноамперометрія та електрохімічна імпедансна спектроскопія. Попри виняткову селективність і здатність до виявлення нано- і навіть піко-молярних кількостей цільових аналітів, вибір конкретної послідовності аптамеру, іммобілізація аптамерного зонда на чутливому електроді залишаються втомливими, трудомісткими завданнями [62].

Попри різноманітність електродів з вуглецевих матеріалів і ХМЕ, у багатьох лабораторіях продовжують використовувати різновиди електродів на основі ртуті: ртутний краплинний електрод (р.к.е., dropping mercury electrode, DME), стаціонарну (static, SDME) чи висячу (hanging, HDME) ртутну краплю, ртутні плівкові й амальгамні електроди [41]. Це пов'язано, найперше, з високою перенапругою виділення водню на ртуті і, як наслідок, широким катодним діапазоном потенціалів (до -2,2 В) [41, 63].

Працю [63] присвячено огляду публікацій за останні десять років, у яких як робочий електрод для визначення неорганічних і органічних аналітів використовували HDME. Серед 177 літературних цитувань понад 50 стосуються визначення ЛР (антибіотики, вітаміни, антигіпертензивні речовини, анти-депресанти тощо) у різних матрицях (готові лікарські форми, сеча, плазма). Наведемо ще декілька прикладів за останні два роки використання ртутних [64-68] і амальгамних [69-71] електродів для визначення ЛР.

1.3.1. Вольтамперометричні методи визначення анестетиків

Отже, ВА є перспективною альтернативою для визначення ЛР загалом і МА зокрема. Більш того, вважають, що існує певна подібність між процесами перенесення електронів, які відбуваються на електроді та в клітинах живого організму. Тому ВА методи доцільно використовувати для вивчення механізмів відновлення-окислення, абсорбційної здатності та кінетики гідролізу ЛР. Знання властивостей ЛР дає змогу оцінити та передбачити шляхи їхнього метаболізму під час окисно-відновних реакцій *in vivo*, а також їхню фармакологічну активність [72-74].

Робочі електроди для ВА визначення МА

Для ВА визначення АН використовують різноманітні робочі електроди як немофіковані, так і ХМЕ. Наприклад, ВПЕ і ГПЕ використовували для визначення Нов [75-76] і Лд [77-78]. Зокрема, у [76] завдяки значній різниці між потенціалами окиснення двох сполук, успішно одночасно визначили Нов та його метаболіт *пара*-амінобензенову кислоту. АДБЕ використовували для визначення Нов [79], Бен [80] та Лд [81-82]. Найбільше робіт присвячено використанню ХМЕ для ВА визначення АН. Як модифікатори використовували пемзу (зазвичай складається з 67–75% SiO_2 та 10-20% Al_2O_3 , додатково містить такі іони як K^+ , Na^+ і Ca^{2+} тощо) [75], оксиди металів з різним ступенем окиснення [83-84], ВНТ [85-90], нафіонову плівку [91-92], МПП [93-95], електроактивні білки, зокрема гемоглобін [96-98], наночастинки і нанокомпозити [99-100].

Зауважимо, що ХМЕ здебільшого мають складну багатошарову структуру. Наприклад, у [93] для створення МПП-сенсора спочатку СВЕ модифікували карбоксильованим графеном (COOH-r-GO). Тоді, використовуючи Pt-Pd біметалічні наночастинки і пористі платинові наносітки, була сконструйована тривимірна (3D) пориста поверхня. Отримані 3D сітки не лише забезпечили велику поверхню для імпринт-полімеризації, але також сприяють швидшому масо-перенесенню порівняно з двовимірними структурами [93]. На цій поверхні було отримано МПП-сенсор шляхом електрохімічної полімеризації *о*-фенілендіаміну з використанням лідокаїну як шаблону [93].

Ми проаналізували ефективність описаних у літературі ХМЕ на основі СВЕ для визначення трьох АН – тетракаїну, Нов та Лд (рис. 1.2) [74]. Модифікування СВЕ дало змогу незначно зменшити потенціал перенапруги (рис. 1.2а) – 90 мВ для Нов, 70 мВ для тетракаїну у разі використання частинок CeO_2 [83], і 180 мВ для Нов у разі використання нафіонової плівки [91]. Модифікатори також електро-каталітично пришвидшують електродні реакції (рис. 1.2б), що призводить до підвищення чутливості в декілька разів. Найбільше підвищення сигналу простежували у разі використання оксидів тих металів, які мали вищий ступінь окиснення (CeO_2 і ZrO_2 , а потім Al_2O_3 , Cr_2O_3 і Fe_2O_3 для Нов і тетракаїну). Також

спостерігається синергетичний ефект комбінування модифікаторів полі(амідосульфонової кислоти) і ВНТ [88].

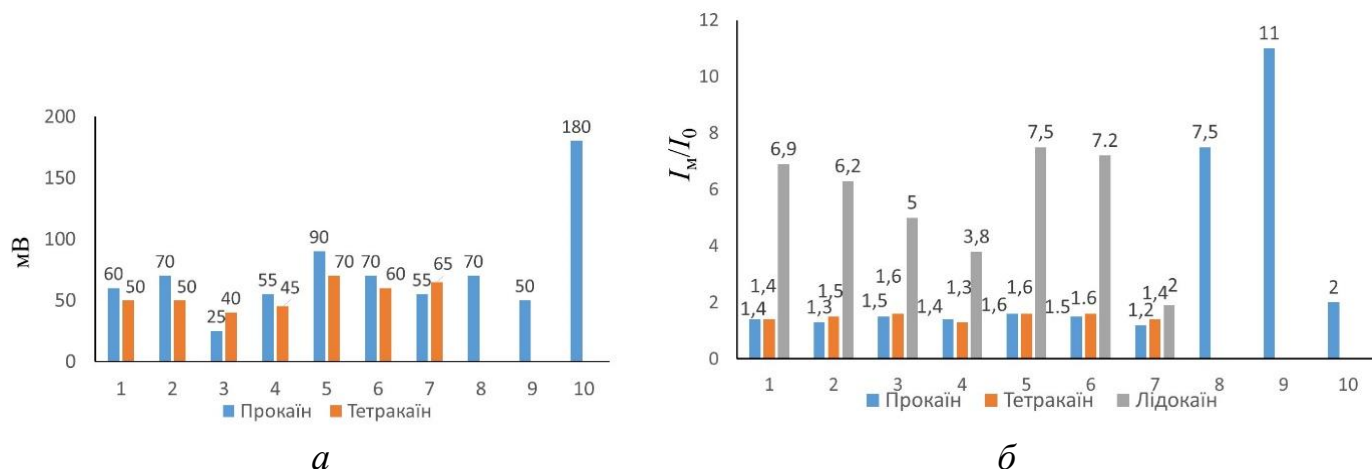


Рис. 1.2. Різниця (мВ) між потенціалами піків окиснення МА, отриманих на немодифікованому СВЕ і хімічно модифікованому СВЕ (а) та співвідношення струму піків, отриманих на хімічно модифікованому СВЕ (I_M) та немодифікованому СВЕ (I_0) (б). Модифікатори: 1 – $0,05 \mu\text{m-r-Al}_2\text{O}_3$; 2 – $1,0 \mu\text{m-}\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$; 3 – Gr_2O_3 ; 4 – Fe_2O_3 ; 5 – CeO_2 ; 6 – ZrO_2 ; 7 – MgO ; 8 – багатошарові ВНТ; 9 – полі(амідосульфонова кислота)/багатошарові ВНТ; 10 – нафіонова плівка [74].

Одним із чинників, який впливає на інтенсивність аналітичного сигналу, є товщина плівки модифікатора. Із збільшенням товщини збільшується значення струму піку окиснення АН. Однак, може спостерігатися зворотній ефект, коли кількість модифікатора перевищує певне критичне значення. Зворотний ефект пов'язують із збільшенням фонового струму та опору електрода [75, 85]. Тому в усіх випадках оптимальний уміст модифікатора визначають експериментально.

У біологічних системах гемоглобін (Hb) як окисно-відновний білок бере участь у процесах перенесення електронів, тому його використовують для модифікації електродів у ВА [96-98]. Для іммобілізації Hb придатнішим, ніж платина та вуглець, виявився золотий електрод. Адсорбція Hb на платиновому та скловуглецевому електродах може призвести до денатурації, а отже, до втрати його електрохімічної активності та біоактивності [96]. Золотий електрод спочатку був модифікований самозбірним моношаром, а потім на цій поверхні був іммобілізо-

ваний Нв. Як модифікатори використовували 3-меркаптопропіонову кислоту [97] і нафіон [98]. Перший крок є необхідним для забезпечення електрохімічної активності Нв, оскільки перенесення електронів безпосередньо на немодифіковані тверді електроди є утрудненою через те, що окисно-відновні центри білка “розташовано” глибоко всередині Нв [96, 98]. На попередньо модифікованих електродах струм окиснення Лд був значно більшим, ніж на немодифікованих, однак цю платформу не перевіряли під час аналізу реальних зразків.

Однією з головних характеристик стаціонарних електродів, а особливо ХМЕ, є стабільність і достатня відтворюваність потенціалу і струму для визначення аналітів [95]. Відтворюваність сигналу електрода оцінювали двома способами: повторювали вимірювання струму піку одним електродом чи вимірювали струм для одного розчину аналіта, але різними електродами [75, 88, 93, 95]. Вважають, що електродам властива хороша відтворюваність сигналу, коли відносне стандартне відхилення для паралельних вимірювань струму не перевищує 5 %.

Тривалість експлуатації і стабільність сигналу для ХМЕ є дуже різною. У роботі [90] модифікований багат шаровими ВНТ СВЕ був стабільним лише 7 днів. Для СВЕ, модифікованого плівкою ВНТ, стабільний сигнал простежувався після трьох тижнів щоденного використання і зберігання на повітрі (відносне стандартне відхилення струму окиснення Нов становило 5,4 %) [85]. СВЕ модифікований пористим вуглецем і МІП виявився стабільним впродовж місяця у разі зберігання за кімнатної температури (струм окиснення Лд зменшився на 3,1 % у порівнянні з початковим значенням) [94]. Тим часом СВЕ, модифікований поліаміносульфоною кислотою і ВНТ, необхідно було зберігати у холодильнику за 4 °С [88]. Після трьох тижнів зберігання струм окиснення Нов зменшився до 83,7 % від початкового значення [88].

Особливо відтворюваний сигнал і стабільність у роботі продемонстрував ВПЕ, модифікований пемзою [75]. Під час повторного використання електрода відносне стандартне відхилення для струму окиснення Нов становило 2,1 %, тоді як поверхню немодифікованого ВПЕ необхідно було поновлювати після кожного

вимірювання. Висока стабільність цього електрода була підтверджена отриманням однакового значення сигналу через рік для того самого електрода [75].

Відзначимо також роботу [101], у якій автори застосовували вуглецевий ЕТД принаймні для ста вимірювань під час визначення Нов, незважаючи на те, що ці електроди є одноразовими.

Аналітичні характеристики ВА методик визначення МА

У додатку А наведено коротку інформацію про деякі особливості та аналітичні параметри ВА методик визначення МА. Одним із важливих кроків для застосування розробленої методики в аналізі ЛЗ є її валідація. У більшості опублікованих робіт автори вказували межі лінійної залежності значення сигналу від концентрації АН, нижню межу визначення та виявлення, правильність, точність та селективність. У роботі [102] є дані про стійкість (робастність) методики.

Високої чутливості досягали у разі застосування імпульсних методів ВА або адсорбційної ВА, межа виявлення була на рівні $n \cdot (10^{-8} - 10^{-9})$ моль/л [74-76, 81, 91-95, 103, 104]. У роботі [93] вдалося понизити межу виявлення до 10^{-10} моль/л за рахунок адсорбції Лд на МПП-поверхні електрода. Однак, найвищої чутливості і найнижчого значення межі виявлення ($C_{\min} = 6,7 \cdot 10^{-14}$ моль/л) серед усіх опублікованих для МА робіт досягли автори [94]. У цій праці для визначення Лд використали лінійну залежність між зміною інтенсивності струму піку до та після зв'язування з МПП-сенсором (ΔI) та логарифмом концентрації Лд ($\Delta I = f(\lg C_{\text{Лд}})$) [94].

Щодо селективності ВА визначення МА, то здебільшого в публікаціях описано вплив речовин, які зазвичай наявні у фармацевтичних препаратах. Одним із біологічних об'єктів, який найчастіше аналізують, є сеча. ВА визначенню МА у цьому об'єкті найбільше заважають сечова та аскорбінова кислоти, оскільки окиснюються за тих самих потенціалів. Достатньої селективності ВА визначення МА за наявності аскорбінової та сечової кислот, ібупрофену, кофеїну, неорганічних катіонів та аніонів, допоміжних (супутніх) речовин ЛЗ, таких як етанол, крохмаль, лактоза, глюкоза, сахароза, сечовина та інші, було досягнуто з ВПЕ, модифікованим пемзою [75]; ГПЕ [76]; СВЕ, модифікованих плівкою ВНТ [85], МПП [88] і нафіоновою плівкою [91-92]. Тритон Х-100 і натрій

додецилсульфат не заважають визначенню бензокаїну і бутакаїну [92], однак співмірні концентрації катіонних ПАР, таких як цетилтриметиламоній бромід і цетилдиметилбензиламоній хлорид заважають визначенню Нов [91].

Використання МПП є перспективним способом підвищення селективності [93, 95]. Чинниками, які визначають селективність МПП, є розмір та форма молекули-шаблону та порожнина, яка формується після вивільнення молекули-шаблону. Високої селективності визначення Нов та Лд досягли за наявності глюкози, сечовини, аскорбінової [93, 95] та сечової кислоти [93].

Щодо сполук-аналогів (інших МА) селективність є досить низькою [75]. У багатьох роботах це взагалі не обговорюється [85, 91]. Однак, продемонстровано можливість одночасного визначення Нов та його метаболіту – *пара*-амінобензенової кислоти [76], а також Лд і епінефрину, який містить вторинну аміногрупу [82, 100]. Сполуки із структурою, подібною до Нов, значно впливають на селективність його визначення внаслідок їхньої адсорбції на МПП сенсорі через неспецифічну взаємодію [95]. Тому лише однократні надлишки прокаїніміду та чотирикратні надлишки допаміну не заважають визначенню Нов [95]. Також є дані, що співмірні кількості Лд не впливають на виявлення Нов [88]. Щодо Лд, то для цього АН селективність є дещо ліпшою за наявності інших МА, ніж у разі Нов. Зокрема, двадцятикратні надлишки ропівакаїну і бупівакаїну не впливають на сигнал МПП-сенсора [93].

З метою оцінювання точності розроблених методик найбільше у роботах використовували аналіз модельних розчинів, які містили точно відому кількість МА [75, 76, 101], аналіз простих ЛЗ, таких як розчини для ін'єкцій [75, 76, 85, 88, 91] чи інші однокомпонентні ЛЗ [72, 89, 101], а також ЛЗ з відомою добавкою МА [77, 84]. Експериментально одержані результати порівнювали із задекларованою виробником кількістю або з результатами інших незалежних методів, зокрема методами відповідно до фармакопеї Китаю [75], ВЕРХ [76, 77, 84], екстракційно-фотометричного [85, 101], та протічно-інжекційного хемілюмінесцентного методу [91].

Найпоширенішими біологічними об'єктами у хіміко-токсикологічному аналізі є сеча, цільна кров та сироватка крові [75, 76, 92-95, 102, 105]. Достатня

вибірковість деяких ВА методик дає змогу безпосередньо визначати МА без відділення від матриці, зокрема у сечі з відомою добавкою анестетика [75, 92, 105]. Аналіз об'єктів із складнішою матрицею потребує відокремлення та специфічної підготовки зразка. Сироватка крові кролика та плазма щура та кролика були отримані центрифугуванням цільної крові для осадження білків [91, 94]. В іншій роботі [102] для осадження білків автори використовували HClO_4 з подальшим центрифугуванням. Для визначення бензокаїну і трикаїну у філе риби використовували складний специфічний спосіб підготовки зразка [103]. Треба також відзначити, що деякі методики було адаптовано для використання у протічних системах [104, 106].

Механізм електрохімічного перетворення МА на робочих електродах

Ми уже згадували, що з погляду медичного застосування ЛР, механізм електрохімічного перетворення є особливо цікавим, оскільки виявлена певна подібність між процесами перенесення електронів на електродах та у клітинах живих організмів [72-74]. З погляду аналітика, розуміння механізму електродного процесу дає змогу інтерпретувати аналітичний сигнал, вибрати відповідний метод приготування зразка й оптимальні умови аналізу.

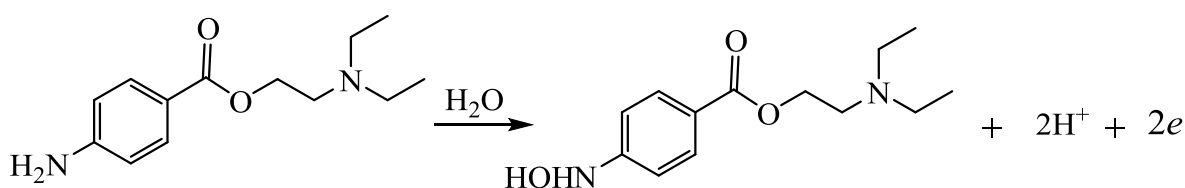
Незалежно від природи електрода, більшість описаних у літературі методик ВА визначення МА ґрунтується на електрохімічному окисненні відповідних електроактивних груп МА. Хоча інформація про механізми окиснення МА є доволі обмеженою. Є відомості лише для найпоширеніших АН: Лд, Нов і Бен, а також для тетракаїну. Головні характеристики механізмів окиснення МА подано у табл. 1.2.

Молекули МА містять декілька потенційно електроактивних груп, такі як амідна чи естерна групи з'єднувального ланцюга, третинна аміногрупа (лідокаїн, мепівакаїн, бупівакаїн, окситакаїн, тримекаїн, етідокаїн, ропівакаїн), вторинна аміногрупа (прілокаїн, артикаїн), первинна аміногрупа (ортокаїн, бензокаїн), одночасно третинна і первинна аміногрупи (новокаїн) чи третинна і вторинна аміногрупи (тетракаїн). З літератури відомо, що естерна група зазвичай окислюється за потенціалів позитивніших, ніж 1,0 В [107]. Отже, пік окиснення

МА, який простежується у межах від +0,75 до +1,03 В, найімовірніше відповідає окисненню аміно- чи амідної груп (табл. 1.2).

Точну кількість електронів n , які беруть участь в електрохімічній реакції, визначали, використовуючи дані електролізу [75, 85] чи обчисленням за взаємозв'язком між потенціалом піку і швидкістю розгортки напруги поляризації [76]. Також використовували рівняння, чинне для необоротних електрохімічних систем: $[E_{pa} - E_{pa/2}] = 0,0477/\alpha n$, де E_{pa} – потенціал піку, $E_{pa/2}$ – потенціал на половині піку, α – коефіцієнт перенесення заряду ($\alpha=0,5$ для необоротних систем) та n – кількість перенесених електронів [88].

Хоча Нов містить і третинну, і первинну аміногрупи, автори [75, 76, 85] пропонують механізм, відповідно до якого саме первинна аміногрупа окиснюється до похідних гідроксиламіну. Потенціал піку окиснення Нов сильно залежить від рН розчину і зміщується до позитивніших значень із зменшенням рН. Параметр кута нахилу для лінійної залежності між потенціалом піку і рН дає змогу оцінити кількість H^+ , які беруть участь в електрохімічній реакції. Отже, окиснення Нов є необоротним дифузійним (за більших концентрацій) [75, 76, 85, 101] або адсорбційно-контрольованим (за концентрації $1 \cdot 10^{-6}$ М) [75, 88] процесом, у якому беруть участь два електрони і два протони, й утворюється похідне гідроксиламіну як продукт окиснення первинної аміногрупи:

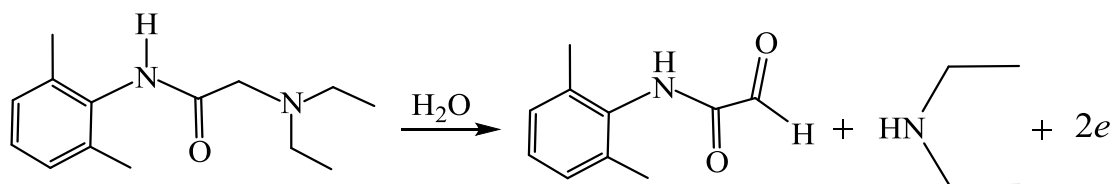


Подібний механізм був запропонований у випадку окиснення вторинної аміногрупи у молекулі тетракаїну [90].

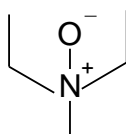
Бен також містить у своїй структурі первинну аміногрупу. Однак, механізм його електрохімічного перетворення відрізняється від описаного для Нов. Автори [110] розглянули окиснення подібних сполук, а саме реакції окиснення анілінової групи. У цій роботі зазначалось, що ЕС процес є необоротним за участю двох електронів і двох протонів з утворенням хіноіміну [107]. Загалом окиснення Бен як *пара*-заміщеного аніліну у водному розчині може відбуватися у дві стадії. Під час

першої стадії за участю двох електронів і одного протона може утворитися вільний радикал-катион (електрохімічна реакція). Тоді вільні радикал-катиони зазнають швидкого сполучення, утворюючи 4-заміщені 4-амінодифеніламіни [109].

Лд теж окиснюється необоротно на робочих електродах [77, 81, 84, 93, 96, 99, 100]. Молекула цього МА містить два електроактивні центри: третинний аліфатичний амін та амідну групу. Автори [77] на основі аналізу літературних даних зазначають, що окиснення амідної групи за наявності нуклеofilів, таких як вода, відбувається за участю двох електронів і одного протона. Тоді як окиснення третинних аліфатичних амінів є двоелектронним процесом за участю ще двох протонів. Електрохімічне окиснення амідної групи ускладнене наявністю електроноакцепторного ароматичного ядра. Натомість, електронодонорні групи (етильна група) полегшують окиснення аміногрупи Лд. Тому автори зазначають, що окиснення аміногрупи є більш імовірним, ніж окиснення амідної групи. Можливими продуктами окиснення є вторинний амін та альдегід [77]:

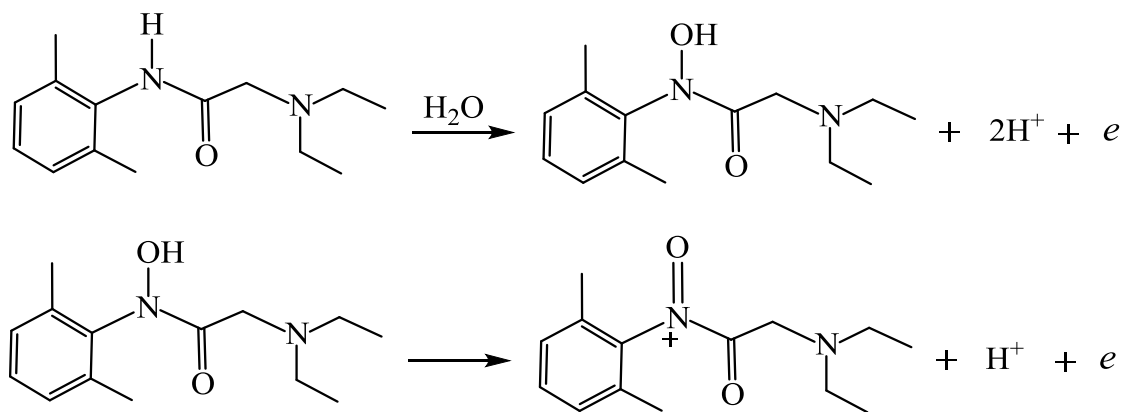


Окиснення аміногрупи також запропоновано авторами [99]. Отриманий пік може бути пов'язаний з N-окисненням Лд і продуктом реакції окиснення третинної аміно групи:



У роботі [81] автори пропонують механізм окиснення Лд, відповідно до якого після стадії перенесення електрона відбувається хімічна реакція димеризації. Процес є необоротним, і продукт електрохімічної реакції адсорбується на поверхні електроду, що є очевидним відповідно до характеру залежності потенціалу від рН. Однак, інші дослідження впливу швидкості розгортки напруги поляризації (ν), зокрема залежність струму піку (I) від $\nu^{1/2}$ [84, 94] чи $\log I$ від $\log \nu$ [77], вказують на дифузійно контрольований електрохімічний процес [84, 94, 99] чи поєднання дифузійної та адсорбційної природи струму [77].

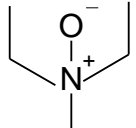
Інший імовірний механізм окиснення Лд на МПП-сенсорі описано у [93]. На противагу до описаних вище пояснень, автори [93] вважають, що окиснення зазнає амідна група. Окиснення є двостадійним процесом з реєстрацією двох піків. Обидві стадії є одноелектронними, необоротними і контрольованими адсорбцією. Імовірний механізм окиснення Лд можна зобразити схемою [93]:



У літературі є лише одне повідомлення про електрохімічне відновлення АН на робочих електродах: у [104] повідомлено про чіткий пік відновлення ропівакаїну на СВЕ за потенціалу -1,0 В. Анодні піки на вольтамперограмах не реєстрували, що свідчить про необоротність електрохімічного процесу, природа струму дифузійна [104]. Деталей механізму відновлення цього МА не досліджено.

Таблиця 1.2

Головні характеристики наведених у літературі механізмів окиснення МА

МА	Амінорупа, яка перетворюється	Кількість електронів	Кількість протонів	Природа струму	Продукт електрохімічної реакції	Література
Новокаїн	Первинна	2	2	Адсорбційна (за концентрації $1 \cdot 10^{-6}$ М) Дифузійна (за більших концентрацій)	Похідні гідроксиламіну	[75, 76, 85, 88, 101]
Тетракаїн	Вторинна	2	2	Дифузійна	Похідні гідроксиламіну	[90]
Бензокаїн	Первинна	2	1	Дифузійна	Вільні радикал-катіони	[80, 108]
Лідокаїн	Третинна	2	2	Поєднання дифузійної та адсорбційної природи	Вторинний амін та альдегід	[77]
	Третинна	–	–	Дифузійна		[99]
	Вторинна	1 (стадія 1) 1 (стадія 2)	2 (стадія 1) 1 (стадія 2)	Адсорбційна	Стадія 1. Похідні гідроксиламіну Стадія 2. Нітрозопохідні	[93]

ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 1

Безпечне та ефективне використання ЛЗ потребує багаторівневого контролю їхньої якості на всіх етапах виготовлення – від синтезу субстанції до отримання готових лікарських форм [41]. МА інтенсивно використовують у медичній практиці у складі багатьох однокомпонентних і комбінованих ЛЗ. Попри широке використання, відомо про можливі негативні наслідки, які МА можуть чинити на здоров'я пацієнтів.

Завдання хіміків-аналітиків полягає в розробленні нових, досконаліших методик аналізу, що дають змогу з високою точністю і селективністю визначати ЛР в широких інтервалах умістів з невеликими матеріальними затратами. Методики повинні працювати у широкомасштабному серійному аналітичному контролі. Фармацевтичний аналіз – це не лише визначення ЛР у готових формах, але й моніторинг або контроль критичних точок технологічного процесу (постадійний аналіз), визначення залишкових кількостей речовин у змивних водах тощо [41]. Більш того, контролювати вміст ЛР треба не тільки в готових лікарських формах, а й їхні залишкові кількості й метаболіти у біологічних рідинах чи тканинах на рівні мкмоль/дм³ і нмоль/дм³.

З цього погляду електрохімічні методи є привабливою альтернативою для фармацевтичного аналізу. Прогрес в галузі електроніки дав змогу розробити надійні, достатньо чутливі та не надто дорогі інструменти, які можна використовувати у галузі розроблення ліків, клінічному й хіміко-токсикологічному аналізі. В останні роки активно розвивається напрям розроблення і виготовлення нових електродохімічних платформ і датчиків для ВА визначення ЛР і біомолекул: використовують електропровідні полімери, МІП, аптамери, друковані електроди тощо. Однак, попри високу чутливість і селективність, можливість мініатюризації і швидкий етап вимірювання аналітичного сигналу таких платформ, вони ще потребують суттєвих напрацювань для комерціалізації та масового використання. Тому у більшості лабораторій досі віддають перевагу доступним і простим у використанні електродам.

Вольтамперометрії притаманно багато характеристик, яких потребує

фармацевтичний аналіз: правильність, відтворюваність, висока чутливість, експресність і невелика вартість. Особливістю методу ВА є можливість одночасного визначення декількох речовин у складних матрицях. Сучасні методи ВА можна успішно використовувати для ідентифікації і визначення кількох ЛР або біомолекул, а також метаболітів ЛР у біологічних рідинах. Багато розроблених ВА методик дають змогу визначати активні компоненти без їхнього попереднього відокремлення від матриці. Це дає змогу зменшити затрати на пробопідготовку і підвищити експресність аналізу [41].

Більш того, метод ВА дає змогу вивчати фізичні та хімічні властивості ЛР, такі як кількість перенесених електронів та швидкість їхнього перенесення, коефіцієнти дифузії, потенціали окиснення чи відновлення, здатності адсорбуватися тощо. Знання механізмів таких процесів на електродах через їхню аналогію і подібність допомагає зрозуміти процеси, які відбуваються на мембранах живих клітин [41, 74]. Таке розуміння винятково важливе для прогнозування шляхів метаболізму, доставки ЛР до цільових “мішеней”. Чітке уявлення про механізм процесу допомагає також розробленню методик визначення ЛР у складних матрицях.

Тому в останні роки значно збільшилася кількість публікацій, присвячених ВА визначенню ЛР, зокрема і МА, як великої групи особливо важливих для медичної практики речовин. Для вольтамперометричного визначення МА використовують різні електроди, найчастіше – це ХМЕ. Методики ґрунтуються здебільшого на струмах окиснення АН. Є обмаль інформації щодо ВА визначення метаболітів МА, а також ВА методик за стумом відновлення АН [74].

Отже, вивчення процесів відновлення-окиснення МА на електродах різної природи й розроблення на цій основі чутливих, економічно привабливих, експресних, простих методик їхнього визначення є актуальним і перспективним дослідженням. Це визначило мету і завдання нашої праці.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Фармакологія: Підручник / За ред. І. С. Чекмана. – К.: Вища школа, 2001.
2. Кучин Ю. Л. Місцеві анестетики: механізм дії, токсичні реакції та їх профілактика / Ю.Л. Кучин, М.М. Пилипенко, Ю.І. Налапко, Р. Крегг // Український журнал екстремальної медицини імені Г.О. Можаяєва. – 2011. – Т. 12. – № 2. – С. 33–47.
3. Фармацевтична хімія. Підручник для студ. вищ. фармац. навч. закл. І фармац. ф-тів вищ. мед. навч. закл. III-IV рівнів акредитації / За заг. ред. П.О. Безуглого. – Вінниця: Нова Книга, 2008. – 560 с.
4. Lirk P. The science of local anesthesia: basic research, clinical application, and future directions / P. Lirk, M. Hollmann, G. Strichartz // *Anesth. Analg.* –2018. – Vol. 126, No. 4. – P. 1381-1392.
5. Becker D.E. Local Anesthetics: Review of pharmacological considerations / D.E. Becker, K.I. Reed // *Anesth. Prog.* – 2012. – Vol. 56, No. 2. – P. 90-102.
6. Ganzberg S. The use of local anesthetic agents in medicine / S. Ganzberg, K.I. Kramer // *Dental. Clin. N. Am.* – 2010. – Vol. 54, No. 4. – P. 601-610.
7. Butterworth J. Local anesthetics: pharmacology and clinical use / J. Butterworth // *Anesth. Analg.* – 2002. – Vol. 94, No. 3. – P. 22-26.
8. Meyler's Side Effects of Drugs / [Ed. J.K. Aronson] // *The International encyclopedia of adverse drug reactions and interactions (Sixteenth Edition).* –Elsevier Science, 2016. – 7674 p.
9. Suzuki O. Drugs and poisons in humans / O. Suzuki, K. Watanabe // *A Handbook of Practical Analysis.* – Berlin: Springer-Verlag, Heidelberg, 2005 – 696 p.
10. Рубленко М.В. Состояние и перспективы применения обезболивающих средств / М.В. Рубленко, С.В. Рубленко // *Здоровье животных и лекарства.* – 2012. – №1. – С. 16-18.
11. Dragoo J.L. The in vitro chondrotoxicity of single-dose local anesthetics / J.L. Dragoo, H.J. Braun, H.J. Kim // *Am. J. Sports Med.* – 2012. – Vol. 40, No. 4. – P. 794-799.

12. Коренман Я.И. Экстракционно-хроматографическое определение местных анестетиков в водных средах / Я.И. Коренман, Т.В. Чибисова, П.Т. Суханов, М.В. Зыбенко // Аналитика и контроль. – 2013. – Т. 17, № 4. – С. 465-471.

13. Державна фармакопея України: в 3 т. / Держ. п-во «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2-е вид. – Харків: Держ. п-во «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014-2015.

14. The United States Pharmacopeia / The National Formulary / USP 30/NF 25. Rockville: United States Pharmacopeial Convention Inc. – 2007. – P. 3553.

15. Блажеєвський М.Є. Кількісне визначення лідокаїну та тримекаїну у лікарських формах за реакцією N-окислення пероксокислотою / М.Є. Блажеєвський // Фарм. журн. – 1998 – № 5. – С. 52-55.

16. Блажеєвський М.Є. Кількісне визначення лідокаїну та тримекаїну за реакцією N-окисдування пероксомоносульфатною кислотою / М.Є. Блажеєвський, Я.Ю. Анацька // Фармацевтичний часопис. – 2009. – № 2. – С. 46-52.

17. Baniceru M. Chromatographic analysis of local anesthetics in biological samples / M. Baniceru, C.V. Manda, S.M. Popescu // J. Pharm. Biomed. Analysis. – 2011. – Vol. 54, No. 1. – P. 1-12.

18. Al Nebaihi H.M. A High-performance liquid chromatography assay method for the determination of lidocaine in human serum / H.M. Al Nebaihi, M. Primrose, J.S. Green, [et al.] // Pharmaceutics – 2017. – Vol. 9, No. 4. – P. 52-59.

19. Tonooka K. Sensitive liquid chromatography/tandem mass spectrometry method for the simultaneous determination of nine local anesthetic drugs / K. Tonooka, N. Naruki, K. Honma, [et al.] // Forensic Sci. Int. – 2016. – Vol. 265. – P. 182-185.

20. Jadach M. Determination of local anesthetics in illegal products using HPLC method with amperometric detection / M. Jadach, A. Blazewicz, Z. Fijalek // Acta Pol. Pharm. – 2012. – Vol. 69, No. 3. – P. 397-403.

21. Ahmadi M. Reduced graphene oxide as an efficient sorbent in microextraction by packed sorbent: Determination of local anesthetics in human plasma and saliva

samples utilizing liquid chromatography-tandem mass spectrometry / M. Ahmadi, M.M. Moein, T. Madrakian, [et al.] // J. Chromatogr. B. – 2018. – Vol. 1095. – P. 177-182.

22. Koehler A. Simultaneous determination of bupivacaine, mepivacaine, prilocaine and ropivacaine in human serum by liquid chromatography-tandem mass spectrometry / A. Koehler, R. Oertel, W. Kirch // J. Chromatogr. A. – 2005. – Vol. 1088, No. 1-2. – P. 126-130.

23. Baniceru M. Determination of some local anesthetics in human serum by gas chromatography with solid-phase extraction / M. Baniceru, O. Croitoru, S.M. Popescu // J. Pharm. Biomed. Analysis. – 2004. – Vol. 35, No. 3. – P. 593-598.

24. Sawaki K. Evaluation of high-performance liquid chromatography and mass spectrometry method for pharmacokinetic study of local anesthetic ropivacaine in plasma / K. Sawaki, M. Okubo, T. Shimomiya, [et al.] // Biomed. Res. – 2009. – Vol. 30, No. 6. – P. 319-324.

25. Zhaohui Zh. Determination of Local Anesthetics in Human Plasma by Liquid-Liquid Microextraction Coupled with High Performance Liquid Chromatography / Zh. Zhaohui, Zh. Qian, K. Shaoying, [et al.] // Chin. J. Analyt. Chem. – 2006. – Vol. 34, No. 2. – P. 165-168.

26. Tanaka E. Simultaneous determination of three local anesthetic drugs from the pipecoloxylidide group in human serum by high-performance liquid chromatography / E. Tanaka, T. Nakamura, Sh. Inomata, [et al.] // J. Chromatogr. B. – 2006. – Vol. 834, No. 1-2. – P. 213-216.

27. Chu B. Development of an on-column enrichment technique based on C₁₈-functionalized magnetic silica nanoparticles for the determination of lidocaine in rat plasma by high performance liquid chromatography / B. Chu, D. Lou, P. Yu, [et al.] // J. Chromatogr. A. – Vol. 1218, No. 41. – P. 7248-7253.

28. Lamiabile D. Determination of articaine in human plasma by liquid chromatography-mass spectrometry and its application in a preliminary pharmacokinetic study / D. Lamiabile, C. Gozalo, T. Miric, [et al.] // J. Pharm. Biomed. Analysis. – Vol. 49, No. 4. – P. 1082-1087.

29. Adamova E.M. Methods for the determination of local anesthetic agents / E.M. Adamova, V.M. Ivanov // J. Anal. Chem. – 2016. – Vol. 71, No. 12. – P. 1169-1181.
30. Karthik Kumar B. Analytical method development and validation of lidocaine in ointment formulation by UV-spectrophotometric method / B. Karthik Kumar, V.S. Thiruvengada Rajan, N. Tanveer Begum // Int. J. Pharm. Sci. – 2012. – Vol. 4, No. 2. – P. 610-614.
31. Corciova A. Spectrophotometric method for determination of bupivacaine hydrochloride in pharmaceutical preparations / A. Corciova // Eur. Chem. Bull. – 2012. – Vol. 2, No. 28. – P. 554-557.
32. Zong-hui Q. Spectrophotometric method for determination of lidocaine hydrochloride and its analytical applications / Q. Zong-hui, T. Rong, H. Wu-hong // J. Henan Normal University (Natural Science). – 2008. – Vol. 1. – P. 85-88.
33. Zong-hui Q. Spectrophotometric method for determining lidocaine hydrochloride with eosin methylene blue / Q. Zong-hui, Li-jun Pu, T. Rong // J. Jiangxi Norm. University (Natural Sciences Edition). – 2007. – Vol. 3. – P. 275-277.
34. Theia'a Al-Sabha N. Spectrophotometric assay of some nitrogen containing drugs in pharmaceutical formulations using p-chloranilic acid reagent / N. Theia'a Al-Sabha, A. Mahmood Hasan, A. Huda Ibrahim // J. Advances in Chem. – 2012. – Vol. 9, No. 1. – P. 1798-1809.
35. Воробьев Д.В. Количественное определение новокаина, введенного в кожу человека способом денс-фореза / Д.В. Воробьев, В.В. Вишняков, П.П. Пурыгин, И.А. Потапова // Вестн. СамГУ. Естественнонауч. сер. – 2005. – Т. 5, № 39. – С. 163-167.
36. Варыгина О.В. Получение и применение в анализе ионселективных электродов на некоторые местные анестетики / О.В. Варыгина, Р.К. Чернова, О.Е. Коблова // Изв. Саратов. ун-та. Сер. Химия. Биология. Экология. – 2012. – Вып. 3, Т. 12. – С. 18-25.
37. Бобрешова О.В. ПД-сенсор для определения новокаину, лидокаина в водных растворах и лекарственных формах. / О.В. Бобрешова, К.А. Полуместная,

А.В. Паршина, [и др.] // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – 2012. – №4, Т. 78. – С. 22-25.

38. Полуместная К.А. Потенциометрическая мультисенсорная система для количественного определения новокаина гидрохлорида и лидокаина гидрохлорида при их совместном присутствии в водных растворах / К.А. Полуместная, К.Ю. Янкина, С.А. Путинцева, [и др.] // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2012. – Т. 12, Вып. 2. – С. 214-222.

39. Государственная фармакопея Российской Федерации / Научный центр экспертизы средств медицинского применения. – Ч. 1. – М., 2008. – 704 с.

40. Fomin A.N. Identification of several basic nitrogen-containing compounds in the presence of coextracted substances of urine and blood by capillary electrophoresis / A.N. Fomin, A.V. Smirnova, M.B. Semenov // Pharm. Chem. J. – 2010. – Vol. 44, No. 9. – P. 514-516.

41. Дубенська Л.О. Метод вольтамперометрії для визначення лікарських речовин / Л.О. Дубенська, С.І. Плотиця, М.Є. Блажеєвський, [та ін.] // Methods and Objects of Chemical Analysis. – 2017. – Т.12, № 2. – С. 61-75.

42. Мискиджьян С.П. Полярография лекарственных препаратов / С.П. Мискиджьян – К.: Вищ. шк., 1976. – 232 с.

43. Volke J. Polarographic and voltammetric methods in pharmaceutical chemistry and pharmacology / J. Volke // Electroanalyt. Chem. – 1983. – Vol. 155. – P. 7-23.

44. Oelschläger H. Polarographic analysis of psychotropic drugs / H. Oelschläger // Bioelectrochem. and Bioenerg. – 1983. – Vol. 10. – P. 25-36.

45. İnam O. Voltammetric Pathways for the Analysis of Ophthalmic Drugs / O. İnam, E. Demir, B. Uslu. // Current Pharm. Analysis. – 2020. – Vol. 16, No.4. – P.367-391.

46. Habibi-Kool-Gheshlaghi M. Electroanalysis of Tricyclic Psychotropic Drugs using Modified Electrodes / M. Habibi-Kool-Gheshlaghi, F. Faridbod, M.K. Mosammam, [et al.] // Current Analyt. Chem. – 2019. – Vol. 15, No. 4. – P. 423-442.

47. Beigizadeh H. Voltammetric Sensors Based on Various Nanomaterials for the Determination of Sulfonamides / H. Beigizadeh, M.R. Ganjali, P. Norouzi // Current Analyt. Chem. 2019. – Vol. 15, No. 2. – P. 124-130.

48. Karadurmus L. Electrochemical Determination of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs / L. Karadurmus, I. Firat Sahin, S. Kurbanoglu, [et al.] // *Current Analyt. Chem.* – 2019. – Vol. 15, No. 4. – P. 485-501.

49. Mahesar S.A. Recent Progress in the Analysis of Captopril Using Electrochemical Methods: A Review / S.A. Mahesar, S.A. Lakho, S.T.H. Sherazi, [et al.] // *Current Analyt. Chem.* – 2019. – Vol. 15, No. 3. – P. 198-206.

50. Kurbanoglu S. Modern Assay Techniques for Cancer Drugs: Electroanalytical and Liquid Chromatography Methods / S. Kurbanoglu, N.K. Bakirhan, M. Gumustas, [et al.] // *Critical Rev. in Analyt. Chem.* – 2019. – Vol. 49, No. 4. – P. 306-323.

51. Ozcelikay G. A Review: New Trends in Electrode Systems for Sensitive Drug and Biomolecule Analysis / G. Ozcelikay, L. Karadurmus, S. Irem Kaya, [et al.] // *Critical Rev. in Analyt. Chem.* – 2020. – Vol. 50, No. 3. – P. 212-225.

52. Couto R.A.S. Recent Developments, Characteristics and Potential Applications of Screen-Printed Electrodes in Pharmaceutical and Biological Analysis / R.A.S. Couto, J.L.F.C. Lima, M.B. Quinaz // *Talanta.* – 2016. – Vol. 146, No. 1. – P. 801-814.

53. Rana A. Electrochemically pretreated carbon electrodes and their electroanalytical applications – A review / A. Rana, N. Baig, T.A. Saleh // *J. Electroanalyt. Chem.* – 2019. – Vol. 833. – P. 313-332.

54. Sanati A. A review on recent advancements in electrochemical biosensing using carbonaceous nanomaterials / A. Sanati, M. Jalali, K. Raeissi, [et al.] // *Microchim. Acta.* – 2019. – Vol. 186, No. 12. – Article 773.

55. Sousa C.P. Electroanalysis of pharmaceuticals on boron-doped diamond electrodes: A review / C.P. Sousa, F.W.P. Ribeiro, T.M.B.F. Oliveira, [et al.] // *Chem. ElectroChem.* – 2019. – Vol. 6, No. 9. – P. 2350-2378.

56. Freitas J.M. Boron Doped Diamond Electrodes in Flow-Based Systems / J.Machado Freitas, T. da Costa Oliveira, R.A. Abarza Munoz, [et al.] // *Frontiers in Chemistry.* – 2019. – Vol. 7. – Article 190. DOI: 10.3389/fchem.2019.00190.

57. Srivastava A.K. Voltammetric Techniques for the Analysis of Drugs using Nanomaterials based Chemically Modified Electrodes / A.K. Srivastava, S.S. Upadhyay, C.R. Rawool, [et al.] // *Current Analyt. Chem.* – 2019. – Vol. 15, No. 3. – P. 249-276.

58. Beitollahi H. A Review on the Effects of Introducing CNTs in the Modification Process of Electrochemical Sensors / H. Beitollahi, F. Movahedifar, S. Tajik, [et al.] // *Electroanalysis*. – 2018. – Vol. 30, No. 7. – P. 1-10.

59. Adumitrăchioaie A. Electrochemical Methods Based on Molecularly Imprinted Polymers for Drug Detection. A Review / A. Adumitrăchioaie, M. Terti, A. Cernat, [et al.] // *Int. J. Electrochem. Sci.* – 2018. – Vol. 13. – P. 2556-2576.

60. Beluomini M.A. Electrochemical sensors based on molecularly imprinted polymer on nanostructured carbon materials: A review / M.A. Beluomini, J. Luiz da Silva, A. Cardoso de Sá, [et al.] // *J. Electroanal. Chem.* – 2019. – Vol. 840. – P. 343-366.

61. Radi A.-E. Electrochemical Sensors Based on Molecularly Imprinted Polymers for Pharmaceuticals Analysis / A.-E. Radi, T. Wahdan, A. El-Basiony // *Current Analyt. Chem.* – 2019. – Vol. 15, No. 3. – P. 219-239.

62. Li Z. Application of Electrochemical Aptasensors toward Clinical Diagnostics, Food, and Environmental Monitoring: Review / Z. Li, M.A. Mohamed, A.M. Vinu Mohan, [et al.] // *Sensors*. – 2019. – Vol. 19, No. 24. – P. 5435.

63. Nogueira Nunes C. The Versatility of the Hanging Mercury Electrode in Analytical Chemistry – A Review About Recent Applications / C. Nogueira Nunes, V. Egéa dos Anjos, S. Pércio Quináia // *Quim. Nova*. – 2018. – Vol. 41, No. 2. – P. 189-201.

64. Ramadan A.A. Differential Pulse Polarographic Behavior and Determination of Simvastatin in Pure and Pharmaceutical Dosage Forms Using Dropping Mercury Electrode / A.A. Ramadan, H. Mandil, N. Ashram // *Research J. Pharm. and Tech.* – 2018. – Vol. 11, No. 7. – P. 2888-2894.

65. Ramadan A.A. Electrochemical Behavior and Differential Pulse Polarographic Determination of Flucloxacillin in Pure and Pharmaceutical Dosage Forms Using Dropping Mercury Electrode / A.A. Ramadan, H. Mandil, R. Abu-Saleh // *Research J. Pharm. and Tech.* – 2018. – Vol. 11, No. 8. – P. 3313-3319.

66. Knoth H. Differential pulse polarographic investigation of micafungin and anidulafungin using a dropping mercury electrode / H. Knoth, G. Scriba, S. Langnaese, [et al.] // *Pharmazie*. – 2019. – Vol. 74, No. 1. – P. 18-22.

67. Ramadan A.A. Differential Pulse Polarographic Behavior and Quantification of the Flucloxacillin in Pure and Pharmaceutical Dosage Forms Using a Static Mercury Drop Electrode / A.A. Ramadan, H. Mandil, R. Abu-Saleh. // J. of Advances in Chem. – 2018. – Vol. 15, No. 02. – P. 6235-6247.

68. Patil S.V. Electroanalytical characterization of Nimesulide by Differential Pulse Polarography: Application to Pharmaceutical analysis / Patil S.V., Kashid L.M., Kolekar G.B., [et al.] // Int. J. of Green and Herbal Chem. – 2018. – Vol. 7, No. 4. – P. 701-714.

69. Jedlińska K. Design and Development of a Renewable Galinstan Silver Based Film Electrode for Stripping Voltammetry / K. Jedlińska, K. Węgiel, B. Baś // J. Electrochem. Soc. – 2018. – Vol. 165, No. 14. – P. B708-B712.

70. Smajdor J. High Sensitive Voltammetric Determination of Betamethasone on an Amalgam Film Electrode / J. Smajdor, B. Paczosa-Bator, B. Baś, [et al.] // J. of The Electrochem. Soc. – 2018. – Vol. 165, No. 10. – P. H646-H651.

71. Hakim W.M.D. Voltammetric determination of ampicillin and penicillin G at a mercury meniscus modified silver amalgam electrode / W.M.D. Hakim, Y.A.R. Mohd, M. Qureshi // Res. J. Chem. Environm. – 2018. – Vol. 22, No. 10. – P. 34-41.

72. Wang J. Electroanalytical techniques in clinical chemistry and laboratory medicine / J. Wang. – N.Y.: Wiley-VCH, 1988. – 188 p.

73. Domenech-Carbo A. Voltammetric / amperometric screening of compounds of pharmacological interest / A. Domenech-Carbo, L.M. de Carvalho, M. Martini, [et al.] // Rev. Analyt. Chem. – 2014. – Vol. 33, No. 3. – P. 173-199.

74. Pysarevska S. Voltammetry of local anesthetics: theoretical and practical aspects / S. Pysarevska, S. Plotycya, L. Dubenska // Critical Rev. in Analyt. Chem. – 2020. – P. 1-14. DOI: 10.1080/10408347.2020.1729691.

75. Wang C.Y. Differential pulse adsorption voltammetry for determination of procaine hydrochloride at a pumice modified carbon paste electrode in pharmaceutical preparations and urine / C.Y. Wang, X.Y. Hu, G.D. Jin, [et al.] // J. Pharm. Biomed. Analysis. – 2002. – Vol. 30, No. 1. – P. 131-139.

76. Liu A-L. Simultaneous and sensitive determination of procaine and its metabolite for pharmaceutical quality control and pharmacokinetic research by using a

graphite paste electrode / A-L. Liu, J-D. Wang, W. Chen, [et al.] // J. Solid State Electrochem. – 2012. – Vol. 16, No. 4. – P. 1343-1351.

77. Rahbar N. Electro-oxidation mechanism and direct square-wave voltammetric determination of lidocaine with a carbon-paste electrode / N. Rahbar, Z. Ramezani, A. Babapour, [et al.] // J. Nat. Pharm. Prod. – 2015. – Vol. 10, No. 1. – P. 1-7.

78. Saad S.A.S. Voltammetric determination of lidocaine and its toxic metabolite in pharmaceutical formulation and milk using carbon paste electrode modified with C18 / S.A.S. Saad, A.M.A. Al-Alamein, M.M. Galal, [et al.] // J. Electrochem. Soc. – 2019. – Vol. 166, No. 2. – P. B103-B109.

79. Wei M. Comparison of boron-doped diamond and glassy carbon electrodes for determination of procaine hydrochloride / M. Wei, Y. Zhou, J. Zhi, [et al.] // Electroanalysis. – 2008. – Vol. 20, No. 2 – P. 137-143.

80. 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. Plotycya, [et al.] // Sensors Actuators B: Chem. – 2018. – Vol. 270. – P. 9-17.

81. Oliveira R.T.S. Electroanalytical determination of lidocaine in pharmaceutical preparations using boron-doped diamond electrodes / Oliveira R.T.S., G.R. Salazar-Banda, V.S. Ferreira, [et al.] // Electroanalysis. – 2007. – Vol. 19, No. 11. – P. 1189-1194.

82. Pinar P.T. Individual and simultaneous electroanalytical sensing of epinephrine and lidocaine using an anodically pretreated boron-doped diamond electrode by square-wave voltammetry / P.T. Pinar, Y. Yardim, Z. Şentürk // Diamond & Related Materials. – 2020. – Vol. 101. – Article 107649.

83. Zhou J. Enhanced amperometric detector for local anesthetics in liquid chromatography with metaloxide dispersed glassy carbon electrodes / J. Zhou, L. Zhang, E. Wan // Electroanalysis. – 1993. – Vol. 5, No. 4. – P. 295-301.

84. Rahbar N. CuO-nanoparticles modified carbon paste electrode for square wave voltammetric determination of lidocaine: Comparing classical and Box-Behnken

optimization methodologies / N. Rahbar, Z. Ramezani, J. Ghanavati // *Chin. Chem. Lett.* – 2016. – Vol. 27, No. 6. – P. 837-842.

85. Wu K. Electrochemistry and voltammetry of procaine using a carbon nanotube film coated electrode / K. Wu, H. Wang, F. Chen, [et al.] // *Bioelectrochem.* – 2006. – Vol. 68, No. 2. – P. 144-149.

86. Kachoosangi R.T. Using capsaicin modified multiwalled carbon nanotube based electrodes and p-chloranil modified carbon paste electrodes for the determination of amines: application to benzocaine and lidocaine / R.T. Kachoosangi, G.G. Wildgoose, R.G. Compton // *Electroanalysis.* – 2008. – Vol. 20, No. 23. – P. 2495-2500.

87. Wang Y-R. Application of carbon nanotube modified electrode in bioelectroanalysis / Y-R. Wang, P. Hu, Q-L. Liang, [et al.] // *Chin. J. Analyt. Chem.* – 2008. – Vol. 36, No. 8. – P. 1011-1016.

88. Zhang X. Electrochemical sensor for procaine based on a glassy carbon electrode modified with poly-amidosulfonic acid and multi-walled carbon nanotubes / X. Zhang, D. Zhao, L. Feng, [et al.] // *Microchim. Acta.* – 2010. – Vol. 169, No. 1-2. – P. 153-159.

89. Demir E. Determination of ophthalmic drug proparacaine using multi-walled carbon nanotube paste electrode by square wave stripping voltammetry / E. Demir, O. Inam, R. Inam // *Analyt. Sci.* – 2018. – Vol. 34, No. 7. – P. 771-776.

90. Guo W. Multi-walled carbon nanotube modified electrode for sensitive determination of an anesthetic drug: tetracaine hydrochloride / W. Guo, M. Geng, L. Zhou, [et al.] // *Int. J. Electrochem. Sci.* – 2013. – Vol. 8, No. 4. – P. 5369-5381.

91. Li N. Determination of trace procaine hydrochloride by differential pulse adsorptive stripping voltammetry with a nafion modified glassy carbon electrode / N. Li, J. Duan, G. Chen // *Analyt. Sci.* – 2003. – Vol. 19, No. 12. – P. 1587-1592.

92. Reddy T.M. Differential pulse adsorptive stripping voltammetric determination of benzocaine and butacaine with Nafion modified glassy carbon electrode / T.M. Reddy, K. Balaji, S.R.J. Reddy // *Croat. Chem. Acta CCACAA.* – 2006. – Vol. 79. – P. 253-259.

93. Yang G. A novel electrochemical sensor for the determination of lidocaine based on surface-imprinting on porous three-dimensional film / G. Yang, F. Zhao // *J. Mater. Chem. C*. – 2014. – Vol. 2, No. 47. – P. 10201-10208.

94. Zhang J. Voltammetric lidocaine sensor by using a glassy carbon electrode modified with porous carbon prepared from a MOF, and with a molecularly imprinted polymer / J. Zhang, J. Liu, Y. Zhang, [et al.] // *Microchim. Acta*. – 2018. – Vol. 185. – Article 78.

95. Guan X. A sensitive electrochemical sensor based on solution polymerized molecularly imprinted polymers for procaine detection / X. Guan, X. Li, S. Chai, [et al.] // *Electroanalysis*. – 2016. – Vol. 28, No. 9. – P. 2007-2015.

96. Tan G. Determination of lidocaine based on electrocatalysis of a chemically modified electrode / G. Tan, G. Bolat, M.A. Onur, [et al.] // *Turk. J. Chem.* – 2012. – Vol. 36, No. 4. – P. 593-600.

97. Lu Q. One-step co-electropolymerized conducting polymer-protein composite film for direct electrochemistry-based biosensors / Q. Lu, C.M. Li // *Biosens. Bioelectron.* – 2008. – Vol. 24, No. 4. – P. 767-772.

98. Song J. A hydrogen peroxide biosensor based on direct electron transfer from hemoglobin to an electrode modified with Nafion and activated nanocarbon / J. Song, J. Xu, P. Zhao, [et al.] // *Microchim. Acta*. – 2011. – Vol. 172, No. 1-2. – P. 117-123.

99. Sivakumar V. Copper vanadate nanoparticles: synthesis, characterization and its electrochemical sensing property / V. Sivakumar, R. Suresh, K. Giribabu, [et al.] // *J. Mater. Sci: Mater. Electron.* – 2014. – Vol. 25, No. 3. – P. 1485-1491.

100. Matos C.R.S. Cd_{1-x}Mg_xTe semiconductor nanocrystal alloys: Synthesis, preparation of nanocomposites with graphene-based materials, and electrochemical detection of lidocaine and epinephrine / C.R.S. Matos, H.O. Souza, T.B.S. Santana, [et al.] // *Microchim. Acta*. – 2017. – Vol. 184, No. 6. – P. 1755-1764.

101. Bergamini M.F. Flow injection amperometric determination of procaine in pharmaceutical formulation using a screen-printed carbon electrode / M.F. Bergamini, A.L. Santos, N.R. Stradiotto, [et al.] // *J. Pharm. Biomed. Analysis*. – 2007. – Vol. 43, No. 1. – P. 315-319.

102. Norouzi P. Development of fast Fourier transform continuous cyclic voltammetry at Au microelectrode in flowing solutions as a novel method for sub-nanomolar monitoring of lidocaine in injection and biological fluids / P. Norouzi, M.R. Ganjali, P. Daneshgar, [et al.] // *Analyt. Chim. Acta.* – 2007. – Vol. 590, No. 1. – P. 74-80.

103. de Lima R.M.F. Determination of benzocaine and tricaine in fish fillets using BIA with amperometric detection / R.M.F. de Lima, M.D. de Oliveira Silva, F.S. Felix, [et al.] // *Electroanalysis.* – 2018. – Vol. 30, No. 2. – P. 283-287.

104. Jat M.S. Electrochemical determination of anesthetic drug ropivacaine in pharmaceutical formulations by differential pulse cathodic adsorptive stripping voltammetry / M.S. Jat, V. Jakhar, K.K. Jhankal, [et al.] // *Chem. Sci. Trans.* – 2019. – Vol. 8, No. 1. – P. 28-35.

105. Attia A.K. Simultaneous electrochemical determination of articaine hcl and epinephrine / A.K. Attia, S.N. Rashed, M.M. Fouad, [et al.] // *Insights Analyt. Electrochem.* – 2017. – Vol. 3, No. 1. – P. 1-10.

106. Dejmekova H. Determination of benzocaine using HPLC and FIA with amperometric detection on a carbon electrode / H. Dejmekova, V. Vokalova, J. Zima, [et al.] // *Electroanalysis.* – 2011. – Vol. 23, No. 3. – P. 662-666.

107. *Organic Electrochemistry, An Introduction and a Guide* / [Ed. by H. Lund and M.M. Baizer] – New York: Marcel Dekker, 1991. – 1550 p.

108. Komorsky-Lovrić S. Voltammetric determination of microparticles of some local anesthetics and antithusics immobilized on the graphite electrode / S. Komorsky-Lovrić, N. Vukašinović, P. Penovski // *Electroanalysis.* – 2003. – Vol. 15, No. 5-6. P. 544-547.

109. Melicharek M. The electrochemical oxidation of N,N-dimethyl-p-toluidine / M. Melicharek, R.F. Nelson // *J. Electroanalyt. Chem.* – 1970. – Vol. 26, No. 2-3. – P. 201-209.

РОЗДІЛ 2

РЕАКТИВИ, ОБЛАДАННЯ, МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ, УМОВИ ЕКСПЕРИМЕНТУ

2.1. Реактиви та розчини

2.1.1. Характеристика використаних у роботі анестетиків. Приготування вихідних розчинів анестетиків

У дослідженні використано шість найбільш уживаних МА, які входять до складу багатьох ЛЗ широкого спектру дії (від розчину для ін'єкцій до засобів зовнішнього застосування, наприклад, мазі). Коротку характеристику досліджених нами АН і використаних субстанцій наведено у табл. 2.1. Згідно з нормативними документами (НД) на субстанції, всі використані субстанції були фармацевтично чистими і містили не менше, ніж 98 % (Бен) чи 99 % (усі інші АН) основної речовини АН. Усі субстанції, окрім Бен, були у формі гідрогенхлориду.

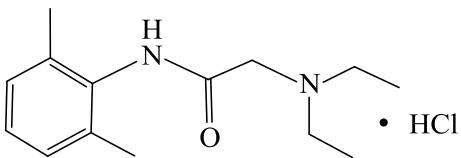
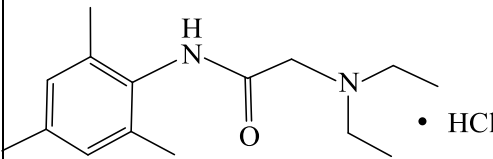
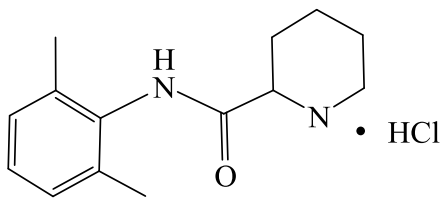
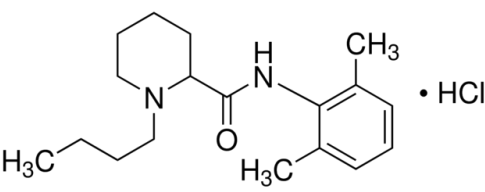
Для приготування вихідних робочих розчинів Лд, Тр, Меп, Буп і Нов з концентрацією $1,0 \cdot 10^{-2}$ М точну наважку субстанції кількісно переносили у мірну колбу місткістю 100,0 мл, розчиняли у 70 мл бідистильованої води, доводили об'єм до позначки за 20 °С і ретельно перемішували.

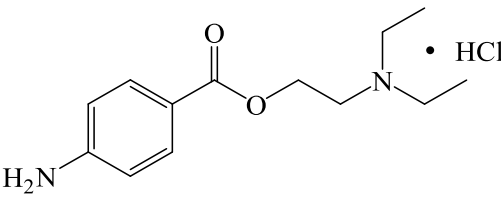
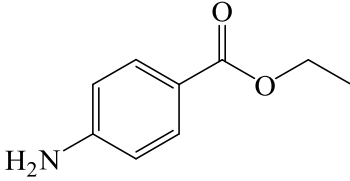
Вихідний робочий розчин Бен готували з субстанції, розчиненням точної наважки у 0,25 М хлоридній кислоті та доводили до позначки бідистилятом.

Вихідні робочі розчини АН зберігали у холодильнику не довше місяця. Робочі розчини менших концентрацій готували з вихідних безпосередньо під час дослідження перед вимірюваннями.

Таблиця 2.1

Будова, характеристика використаних нами субстанцій та коротка інформація про застосування у медицині досліджених у цій роботі АН

Графічна формула	Мол.м., г/моль; CAS № ; Виробник субстанції	Застосування	pK _a
1	2	3	4
Анестетики групи амідів			
<p>Лідокаїн</p> 	<p>234,3 ;</p> <p>CAS 137-58-6</p> <p>Societa Italiana Medicinali (Італія)</p>	<p>МА, який використову- ють найчастіше. Інфільтраційна анестезія та блокування периферійних нервів, шлуночкова аритмія</p>	7,9
<p>Тримекаїн</p> 	<p>283,9</p> <p>CAS 616-68-2</p> <p>Державне підприємство “Завод хімічних реактивів” (Україна, Харків)</p>	<p>Місцева, інфільтраційна, місцева слизова, інгальційна та спинальна анестезія</p>	8.0
<p>Мепівакаїн</p> 	<p>282.8</p> <p>CAS 1722-62-9</p> <p>Wuhan BJM Pharm Inc. (Китай)</p>	<p>Дуже схожий клінічний профіль як у Лд, забезпечує дещо трива- лішу дію. Поєднується з МА тривалої дії, такими як Буп або ропівакаїн під час периферичних нервових блоків</p>	7,6
<p>Бупівакаїн</p> 	<p>324,9;</p> <p>CAS 2180-92-9</p> <p>CLARIS LIFESCIENCES, Ltd., (Індія)</p>	<p>АН тривалої дії, особливо придатний для проведення тривалої епідуральної блокади, під час пологів або в післяопераційному періоді. Однак найбільше кардіотоксичний, більш важкий перебіг викли- каної ним інтоксикації при передозуванні</p>	8,1

1	2	3	4
Анестетики групи естерів			
<p>Новокаїн</p> 	<p>272,8; CAS 51-05-8 Гуансі Шенгтаї Кемікал Ко., Лтд., (Китай)</p>	<p>Використовують тоді, коли необхідна дуже короткотривала дія. Блокована або шкірна інфільтрація.</p>	8,9
<p>Бензокаїн</p> 	<p>165,2 ; CAS № 94-09-7 Чанджоу Санлайт Фармасьютікал Ко., Лтд. (Китай)</p>	<p>Місцеве знеболення на обмежену тривалість, здебільшого на слизовій носа, ротової порожнини або оротрахеї</p>	3.5

2.1.2. Характеристика використаних у роботі окисників. Приготування і стандартизація розчинів окисників

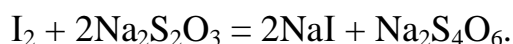
У роботі використовували такі окисники:

1. Комерційну потрійну сіль кислоти Каро – Оксон – $2\text{KHSO}_5 \cdot \text{KHSO}_4 \cdot \text{K}_2\text{SO}_4$ (“extra pure”, ACROS ORGANICS). Активною речовиною є калій гідрогенпероксимоносульфат (KHSO_5 , КПМС). Для приготування 0,01 М розчину КПМС точну наважку Оксону кількісно переносили в мірну колбу на 100 мл, розчиняли у 70 мл бідистильованої води, перемішуючи, і доводили об’єм бідистильованою водою до позначки.
2. Кислоту Каро, синтезовану за реакцією калій пероксидисульфату з сульфатною кислотою, з наступною нейтралізацією надлишку кислоти і видаленням пероксиду (контролювали за утворенням жовтого комплексу Ti(IV) з H_2O_2). Надлишок K_2SO_4 осаджували виморожуванням [1, 2]. Виготовлений розчин кислоти Каро з $C=0,05$ М зберігали у холодильнику, а розчини менших концентрацій готували послідовним розведенням вихідного розчину бідистиллятом.
3. Метаклоропероксибензенкарбонову кислоту (МХПК) (ACROS ORGANICS). Уміст основної речовини (згідно із сертифікатом якості) становить 70,2 %; 10,9 % – це 3-хлоробензенова кислота, 18,4 % – кристалізаційна вода. Для

приготування $2 \cdot 10^{-3}$ М розчину МХПК наважку препарату переносили в мірну колбу на 100,0 мл, розчиняли у 20 мл етанолу, перемішуючи, і доводили об'єм дистильованою водою до позначки.

4. Пероксифталеву кислоту (ПФК) ("reagent grade", SIGMA ALDRICH). Для приготування $2 \cdot 10^{-3}$ М розчину ПФК наважку препарату переносили в мірну колбу на 100,0 мл, розчиняли у 70 мл дистильованої води, перемішуючи, і доводили об'єм дистильованою водою до позначки.

Робочі розчини кислоти Каро, МХПК і ПФК додатково стандартизували йодометрично [3-5]. Для титрування відбирали аліквоту розчину, додавали 2,0 мл 5 % розчину KI. Йод, який виділився, відтитровували стандартизованим розчином натрій тіосульфату за наявності крохмалю:



Уміст основної речовини становив 70,2 % МХПК і 98 % ПФК, що брали до уваги під час обчислення маси наважки окисників для виготовлення вихідних робочих розчинів.

2.1.3. Характеристика використаних у роботі реагентів, приготування розчинів

Усі водні розчини готували в бідистильованій деіонізованій воді з питомим опором більшим, ніж 18 МОм.

Як реагент для діазотування використовували натрій нітрит (ч.д.а.), розчин готували розчиненням наважки у бідистилаті. Надлишок NaNO_2 руйнували 1 М розчином сечовини.

Як реагенти для азосполучення використовували лужний розчин β -нафтолу, саліцилову кислоту та резорцин. Сечовину, β -нафтол, саліцилову кислоту та резорцин готували розчиненням наважок у бідистилаті. Усі реактиви були чистоти не менше, ніж ч.д.а., виготовлені в Україні, придбані у "Сфера Сім", м. Львів.

Для регулювання кислотності, забезпечення інших умов використовували фонові електроліти:

- розчини HCl (фіксанали), H_2SO_4 (фіксанали), CH_3COOH (льодяну і фіксанали), H_3PO_4 (конц., х.ч);
- $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ (ч.д.а.), Na_2CO_3 (ч.д.а.);
- гранульований NaOH (х.ч);
- розчин NH_3 (конц., х.ч);
- буферні розчини.

Виготовлення буферних розчинів. Під час дослідження використовували боратний, карбонатний, фосфатний та універсальний (УБС, Бріттона-Робінсона, БР) буферні розчини. Буферні розчини готували за [7]. Найбільше використовували УБС і фосфатний буфер, які підтримують значення рН у широких межах (рН 2-12), при цьому природа іонів та іонна сила істотно не змінюються. Це важлива особливість фонового електроліту для виконання досліджень ВА методами. УБС з вихідною концентрацією кожного з компонентів приблизно 0,4 М, готували змішуванням 20 г натрій тетраборату, 12 мл 17,5 М ацетатної і 18,5 мл 15,4 М фосфатної кислот, доводили бідистилятом у склянці до 0,5 л. Для такої суміші $\text{pH} \approx 2,1$. Для одержання іншого значення рН до цієї суміші доливали 2,5 М розчин NaOH , контролюючи рН-метром.

Для виготовлення композитних електродів використовували:

- анілін (ч.д.а.);
- водний розчин H_2PtCl_6 з масовою часткою $\omega(\text{H}_2\text{PtCl}_6) = 8\%$ (SIGMA ALDRICH, CAS № 16941-12-1);
- багатошарові ВНТ;
- розчин H_2SO_4 (конц., х.ч.);
- целюлозу (медичну, стерильну).

2.2. Обладнання

Більшість вольтамперометричних досліджень виконали на цифрових установках МТесч у поєднанні з персональним комп'ютером. Прилади та програмне забезпечення до них розроблено на кафедрі аналітичної хімії Львівського національного університету імені Івана Франка [7-9]. Точність

вимірювання потенціалу становить не менше 1 мВ. Невизначеність вимірювання струму – 0,1 %. Потенціал накладали зі швидкістю $V=0,5$ В/с (якщо в умовах не зазначено інше).

Використовували триелектродну електролітичну комірку максимальної місткості 10 мл з робочим ртутним краплинним електродом (р.к.е.), насиченим каломельним електродом порівняння та платиновим допоміжним електродом. Характеристики р.к.е.: $m=5,94 \cdot 10^{-4}$ г/с; $\tau_k=10$ с у 0,2 М розчині NH_4Cl без накладання напруги поляризації. Потенціал наклали на сьомій (для трикутної розгортки) чи на восьмій (для катодної лінійної розгортки). У такому разі площа поверхні краплі не змінюється під час вимірювання і такий електрод можна розглядати як стаціонарну ртутну краплю.

Розчинений кисень з електролітичної комірки видаляли пропусканням через розчин очищеного аргону впродовж 10-15 хв.

Вольтамперометричні вимірювання з використанням АДБЕ виконували на потенціостаті PSTAT 910 mini (Metrohm Ltd., Швейцарія), керованого програмним забезпеченням PSTAT 1.0. Триелектродна система на керамічній підкладці (DropSens, Asturias, Іспанія) складалася з мініатюрного робочого товстоплівкового алмазного електрода (комерційно позначений як CBDD110, діаметром 3,6 мм і вмістом бору 2500 ppm), друкованого вуглецевого допоміжного електрода і срібного псевдореферентного електрода. Перед вимірюванням всю триелектродну систему просто промивали деіонізованою водою. Однак поверхня АДБЕ потребує очищення після кожного вимірювання. Для цього електрод поляризували за постійного потенціалу +2,0 В протягом 40 с в розчині 1 М HNO_3 . Тривалість 40 с попередньої обробки була достатньою для очищення поверхні АДБЕ від аналіту та продуктів його окиснення. Це підтверджено тим, що після попередньої обробки потенціал і струм окиснення аналіту у паралельних вимірюваннях залишалися постійними. Без попереднього анодного очищення струм окиснення аналіту зменшувався на 40 % після кожного вимірювання.

Під час досліджень з композитними електродами використовували потенціостат – програматор ПР-8 з триелектродною коміркою. Робочий електрод –

виготовлений композитний електрод, аргентумхлоридний електрод порівняння та допоміжний – платиновий.

Значення рН контролювали потенціометрично рН-метром MV 870 DIGITAL-pH-MESSEGERÄT (Австрія) зі скляним індикаторним електродом і аргентумхлоридним електродом порівняння або рН-150МИ (Білорусь) з комбінованим скляним електродом.

2.2.1. Виготовлення композитних електродів

Композитні електроди виготовляли на основі графітового електрода з діаметром поверхні 3,0 мм за відомими методиками.

Синтез композиту пАн-ВНТ. Композит поліаніліну (пАн) з багат шаровими вуглецевими нанотрубками (ВНТ) синтезували хімічним методом. Спочатку змішали анілін з ВНТ, так, щоб $\omega(\text{ВНТ})=20\%$, і розчинили суміш у 20 мл HCl з $C=2,93\text{ М}$. Цю суміш піддавали ультразвуковій обробці протягом 3 хв. Далі додавали водий розчин амоній пероксидисульфату у такій кількості, щоб його молярний надлишок становив 1,3 щодо кількості аніліну. Реакційну суміш перемішували за допомогою магнітної мішалки протягом 3 год. Через добу після початку синтезу суміш відфільтровували через фільтрувальний папір середньої щільності, промивали дистильованою водою, сушили у вакуумній пічці за температури 60°C і тиску 0,01 атм. впродовж 24 год. Одержували порошкоподібний композит.

Нанесення композиту на поверхню графітового електрода. Спочатку синтезували нітроцелюлозу, яку використовували потім як зв'язуючий реагент. На очищену, розпушену і висушену целюлозу діяли нітруючою сумішшю (одна частина 45 % нітратної кислоти і дві частини концентрованої сульфатної кислоти) у співвідношенні суміш кислот : целюлоза – приблизно 100 : 1. Отриманий після нітрування продукт багаторазово промивали дистильованою водою і висушували на повітрі. Готували 1 % розчин нітроцелюлози в ацетоні.

На графітовий електрод наносили 1 мг композиту пАН-ВНТ. На композит крапали 10 мкл ацетону, 10 мкл розчину нітроцелюлози в ацетоні та знову 10 мкл ацетону. Композит дуже швидко сохне – впродовж 1-2 хв.

Електрохімічне осадження частинок Pt. На графітовий електрод, покритий шаром пАН-ВНТ, крапали 20 мкл 2 % розчину H_2PtCl_6 , який містив 0,1 % $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$. Осадження здійснювали методом ЦВА, шляхом сканування потенціалу в межах від $-2,500$ до $+1,000$ В з швидкістю накладання розгортки 50 мВ/с. Використовували двохелектродну схему з робочого електрода і допоміжного платинового електрода. Так одержували композит пАН-ВНТ-Pt. Розмір осаджених частинок Pt становить 20-30 мкм. Перед використанням покритий композитом пАН-мВНТ-Pt електрод промивали дистильованою водою.

Електрохімічне осадження співполімеру пАН-Бен. Попередньо очищений графітовий електрод платинували (наносили платинову чернь) за такою самою методикою, як описано вище. Після платинування електрод промивали дистильованою водою і далі методом ЦВА осаджували на нього співполімер поліаніліну з Бен. Осаджували з розчину, який містив 0,01 М аніліну, 0,01 М Бен і 0,1 М HCl . Потенціал сканування в межах від $-0,200$ до $1,200$ В, кількість циклів – 15, швидкість – 50 мВ/с.

2.3. Процедура вимірювань

У дослідженні використовували різновиди ВА: циклічну вольтамперометрію (ЦВА), вольтамперометрію з лінійною швидкою розгорткою потенціалу (ЛВА, linear single sweep), диференційну імпульсну вольтамперометрію (ДІВ) і квадратно-хвильову вольтамперометрію (КХВ).

Аналітичний сигнал завжди вимірювали щонайменше тричі за кімнатної температури. Потенціал піку (E , В) на вольтамперограмах вимірювали завжди у максимумі струму. Для вимірювання струму піку (I_p , мкА) продовжували прямолінійну ділянку, яка відповідає фоновому (залишковому) струму, і вимірювали значення струму від максимуму до проведеної прямої (рис. 2.1). У такий спосіб вводилася фонові корекція (поправка).

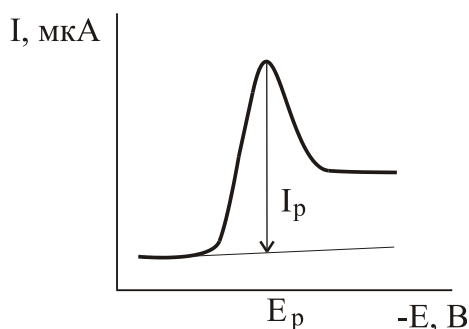


Рис. 2.1. Вимірювання струму на вольтамперограмі.

Електроди з постійною площею поверхні мають таку перевагу, що залишковий струм на них на порядок менший, ніж на р.к.е. Це дає змогу зменшити на порядок межу визначення. Недоліком є те, що у деяких випадках поверхня забруднюється продуктами електродної реакції. Тоді поверхню твердих електродів треба очищувати поліруванням або електрохімічно. Проте оновлена і вихідна поверхні можуть відрізнятися на 5-10 %. У цьому випадку потрібне повторне градування [10]. Це не стосується стаціонарної ртутної краплі, поверхня якої оновлюється.

Струм I_p прямо пропорційний концентрації електроактивної речовини і описується рівнянням Рендлса–Шевчика [10-11]:

$$I_p = 2,69 \cdot 10^5 A n^{3/2} D^{1/2} V^{1/2} C,$$

де A – площа поверхні електроду, см^2 ;

V – швидкість розгортки потенціалу, В/с .

Для необоротних процесів рівняння Рендлса-Шевчика має вигляд [10-11]:

$$I_p = 2,69 \cdot 10^5 A n (a n_a)^{1/2} D^{1/2} V^{1/2} C, \quad (2.1)$$

де α – коефіцієнт перенесення заряду, який для повністю необоротних процесів дорівнює 0,5.

Відповідно до рівняння Рендлса-Шевчика, для необоротних реакцій лінійна зміна струму із зміною $V^{1/2}$ свідчить про дифузійно-контрольований електрохімічний процес. Крім того, невелике значення параметра α у рівнянні прямої залежності $I_p = f(V^{1/2})$ свідчить про незначний вклад адсорбції в електрохімічний процес.

Залежність логарифму струму піків відновлення від логарифму швидкості розгортки напруги поляризації ($\lg I_p = f(\lg V)$) також є діагностичним критерієм природи струму – критерій Семерано [11-12]. Якщо залежність є лінійною зі значенням тангенса кута нахилу $\Delta \lg I / \Delta \lg V$ (параметр b у рівнянні прямої) близького до 0,5, то електрохімічний процес є дифузійно-контрольований. Якщо $b > 0,5$ то процес ускладнений адсорбцією, якщо $b < 0,5$, то виявляються кінетичні обмеження.

За залежністю $E = f(\lg V)$ можна визначити кількість електронів n , які беруть участь в електрохімічній реакції. Нахил цієї залежності дорівнює $2,3RT/\alpha nF$ (F – константа Фарадея, R – універсальна газова константа, α – коефіцієнт перенесення заряду, а T – температура) [11-12].

Якщо залежність $E(B)$ від рН є лінійною і її можна описати рівнянням прямої, то значення параметра b цих рівнянь дає змогу оцінити співвідношення кількості протонів m_{H^+} до кількості електронів n , які беруть участь в електрохімічній реакції m_{H^+}/n [11]:

$$\frac{dE}{dpH} = \frac{2,3RT \cdot m_{H^+}}{\alpha nF}, \quad (2.2)$$

Кількість електронів, які беруть участь в електрохімічній реакції, можна обчислити і за значеннями потенціалів піка E_p та півпіка $E_{p/2}$ за рівнянням [13]:

$$\alpha n = \frac{-47,7}{(E_p - E_{p/2})}, \quad (2.3)$$

де E_p , $E_{p/2}$ – потенціали піка та півпіка, відповідно, мВ.

2.4. Статистичне опрацювання результатів аналізу

Усі прямолінійні залежності статистично аналізували за допомогою програми OriginPro 8.0. Параметри a і b градувальних графіків обчислювали методом найменших квадратів з надійною імовірністю 95% [14].

Межу виявлення (C_{\min} , MB, LOD) (мінімальна концентрація аналіту, яку можна виявити за певною методикою з певною достовірністю) та межу кількісного визначення (C_n , MBK, LOQ) (мінімальна концентрація аналіту, яку можна

визначити цією методикою з певною достовірністю) розраховували згідно з параметрами лінійності градуовального графіка S_a і b за рівняннями (2.4 та 2.5):

$$C_{\min} = 3,3 \cdot \frac{S_a}{b}, \quad (2.4)$$

$$C_n = 10 \cdot \frac{S_a}{b}, \quad (2.5)$$

де S_a – стандартне відхилення при вимірюванні фонового сигналу, b – тангенс кута нахилу градуовального графіка [15-18].

Валідували методики, керуючись [15-18]. Згідно з [15], для оцінювання надійності методики визначення ЛР треба обчислити параметри для валідаційних характеристик робастності (стійкості методики), лінійності, правильності, прецизійності і внутрішньолaboratorної прецизійності, невизначеності результату аналізу. Критерії (критичні значення) цих параметрів наведено у [15, 18].

Максимально допустима невизначеність результату аналізу Δ_{As} залежить від допуску вмісту ЛР у лікарській формі B і повинна становити

$$\Delta_{As} \leq B \cdot 0,32 = 5 \cdot 0,32 = 1,6 \%, \quad (2.6)$$

оскільки найчастіше $B = 5\%$ [15, 18].

Повна невизначеність результатів аналізу складається з невизначеності пробопідготовки та невизначеності кінцевої аналітичної операції. Невизначеність пробопідготовки Δ_{SP} обчислюють на підставі методики пробопідготовки стандартного зразка і досліджуваного розчину, а також виконання аналітичної реакції визначення, за формулою:

$$\Delta_{SP} = \sqrt{\sum_i \Delta_i^2}, \quad (2.7)$$

де Δ_i – окремі складові невизначеності (невизначеність зважування, мірних колб, піпеток тощо), які наведено у [18].

Під час аналізу об'єктів здебільшого виконували по три паралельних досліди.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Карякин Ю.В. Чистые химические вещества / Ю.В. Карякин, И.И. Ангелов. – М.: Химия, 1974. – С. 178-179.
2. Зінчук В. Властивості пероксимоносульфатної кислоти та використання її в аналізі / В. Зінчук, О. Мицук, О. Стаднічук // Вісник Львів. ун-ту. Серія: Хімія – 2004. – Вип. 44. – С. 107-114.
3. Пилипчук О.А. Дослідження стабільності розведених розчинів кислоти Каро / О.А. Пилипчук, В.К. Зінчук, Н.М. Сушинцева, [та ін.] // Укр. хім. журн. – 1996. – Т. 62, № 2. – С. 122-123.
4. McDonald R.N. m-Chloroperbenzoic Acid [Benzenecarboxoperoxoic acid, 3-chloro-] / R.N. McDonald, R.N. Steppel, J.E. Dorsey // Organic Syntheses, A Publication of Reliable Methods for the Preparation of Organic Compounds. Coll. – 1988. – Vol. 6. – P. 276; 1970 – Vol. 50. – P. 15. DOI:10.15227/orgsyn.050.0015.
5. Payne G.B. Monoperphthalic Acid [Phthalic monoperoxy acid] / G.B. Payne // Organic Syntheses, A Publication of Reliable Methods for the Preparation of Organic Compounds. Coll. – 1973. – Vol. 5. – P. 805; 1962 – Vol. 42. – P. 77. DOI: 10.15227/orgsyn.042.0077.
6. Лурье Ю.Ю. Справочник по аналитической химии / Ю.Ю. Лурье. – М.: Химия, 1989. – 448 с.
7. Karbovnyck I. Computer-based polarograph / I. Karbovnyck, L. Dubenska, N. Porerechna // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. хім. – 2002. – № 41. – С. 125.
8. Пацай І. Потенціостат для полярографії зі швидкою розгорткою потенціалу / І. Пацай, П. Ридчук, О. Тимошук // Вісник Львів. ун-ту. Серія: Хімія – 2017. – Вип. 58, Ч. 1. – С. 219-224.
9. Пацай І.О. Новини лабораторії MTech. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://chem.lnu.edu.ua/mtech/mtech.htm>
10. Левицька Г.Д. Електрохімічні методи аналізу: навчальний посібник / Г.Д. Левицька, Л.О. Дубенська. – Львів: ЛНУ імені Івана Франка, 2011. – 273 с.

11. Brett A.M.O. Electrochemistry Principles, Methods, and Applications / A.M.O. Brett, C.M.A. Brett / 1st Edition. – Oxford, New York: Oxford Science Publications, 1993. – 456 p.
12. Scholz F. Electroanalytical Methods. Guide to Experiments and Applications / F. Scholz. – Springer, 2010. – 386 p.
13. Gosser D.K. Cyclic voltammetry: Simulation and Analysis of Reaction Mechanisms / D.K. Gosser. – USA: VCH Publishers, 1993. – 156 p.
14. Дюерфель К. Статистика в аналитической химии / К. Дюерфель. [Пер. с нем. И.С. Шаплыгина. Под ред. В.В. Налимова]. – М.: Мир, 1969. – 247 с.
15. Державна фармакопея України: в 3 т. / Держ. п-во «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2-е вид. – Харків: Держ. п-во «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014-2015.
16. Method Validation in Pharmaceutical Analysis. A Guide to Best Practice / Edited by J. Ermer and J.H.McB. Miller. – Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2005. – 411 p.
17. Гризодуб А.И. Стандартные процедуры валидации методик контроля качества лекарственных средств / А.И. Гризодуб // Фармаком. – 2006. – №1/2. – С. 35-44.
18. Аналитическая химия в создании, стандартизации и контроле качества лекарственных средств. Т. 3. / Под ред. В.П. Георгиевского. – Харьков: НТМТ, 2011 – 1440 с.

РОЗДІЛ 3

РЕАКЦІЇ ОКИСНЕННЯ ДЛЯ ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧНОГО ВИЗНАЧЕННЯ МІСЦЕВИХ АНЕСТЕТИКІВ ГРУПИ АМІДІВ

На підставі огляду літературних даних ми з'ясували, що для розроблення методик вольтамперометричного визначення АН перспективною є реакція окиснення (електрохімічно і хімічно). Зокрема, АН групи амідів, аналогічно до інших третинних амінів, хімічно окиснюються до відповідних N-оксидів, які є полярографічно активними [1-2].

3.1. Порівняння окисників як реагентів для полярографічного визначення анестетиків (на прикладі лідокаїну)

Полярографічно активний N-оксид можна одержати, використовуючи різні окисники. Тому доцільно порівняти ефективність використання різних окисників для одержання N-оксиду. Для цього дослідження використали один з найуживаніших місцевих анестетиків – лідокаїн [3].

На рис. 3.1. показано вигляд полярограм у розчинах калій дихромату і калій перманганату за наявності та за відсутності Лд. Полярограми у розчинах цих окисників мають порівняно складний вигляд і відповідають літературним даним. За зміною вигляду полярограм за наявності Лд бачимо, що відбувається взаємодія окисника з анестетиком, однак для кількісного полярографічного визначення АН ці незначні зміни використати не можна. Для розчину KMnO_4 за наявності Лд у вузьких межах рН 8-10 спостерігаємо невеликий пік, який за потенціалом близький до піків відновлення продуктів окиснення Лд з іншими окисниками (Оксоном, органічними пероксикислотами, див. далі). Однак цей пік з'являється на фоні високих піків відновлення окисника, тому вимірювання струму у максимумі є утрудненим, а значення струму погано повторювані. Тому використовувати KMnO_4 для полярографічного визначення АН недоцільно.

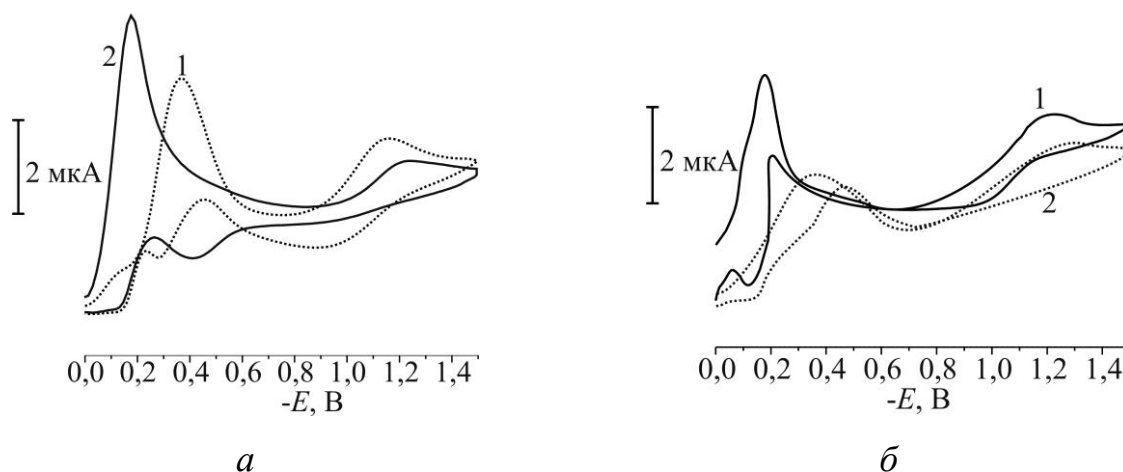


Рис. 3.1. Вигляд полярограм у розчинах калій дихромату (а) та калій перманганату (б) за відсутності (1) та за наявності (2) Лд: $C_{\text{окисн}}=1 \cdot 10^{-4}$ М, $C_{\text{Лд}}=5,0 \cdot 10^{-5}$ М, рН 3,0.

Дослідили також можливість використання амоній і калій персульфату для дериватизації АН. Амоній або калій персульфат не відновлюються на р.к.е., однак і не окиснюють Лд до N-оксиду: на одержаних полярограмах характерний пік відновлення N-оксиду не простежувався.

Отже, окисники калій дихромат, калій перманганат, амоній або калій персульфат взаємодіють з лідокаїном, однак незначні зміни на полярограмах продуктів окиснення не можна використати для кількісного визначення анестетика.

Такі окисники, як кислота Каро (синтезована нами за відомою методикою [4]), Оксон (комерційна потрійна сіль кислоти Каро), *m*-хлоропероксибензен-карбонова кислота (МХПК) і пероксифталева кислота (ПФК), окиснюють Лд до його N-оксиду. N-оксиди третинних амінів утворюються у лужному середовищі. Підкисленням реакційної суміші процес окиснення зупиняють [1-2, 3, 5]. Визначили, що оптимальним для окиснення є середовище фосфатного буферного розчину з рН 8 для МХПК і ПФК (рис. 3.2). Для кислоти Каро залежність струму піку відновлення N-оксиду Лд повністю збігається з аналогічною залежністю для Оксону, оскільки в лужному середовищі ці окисники перебувають у формі пероксимоносульфат-аніона (SO_5^{2-} , ПМСА).

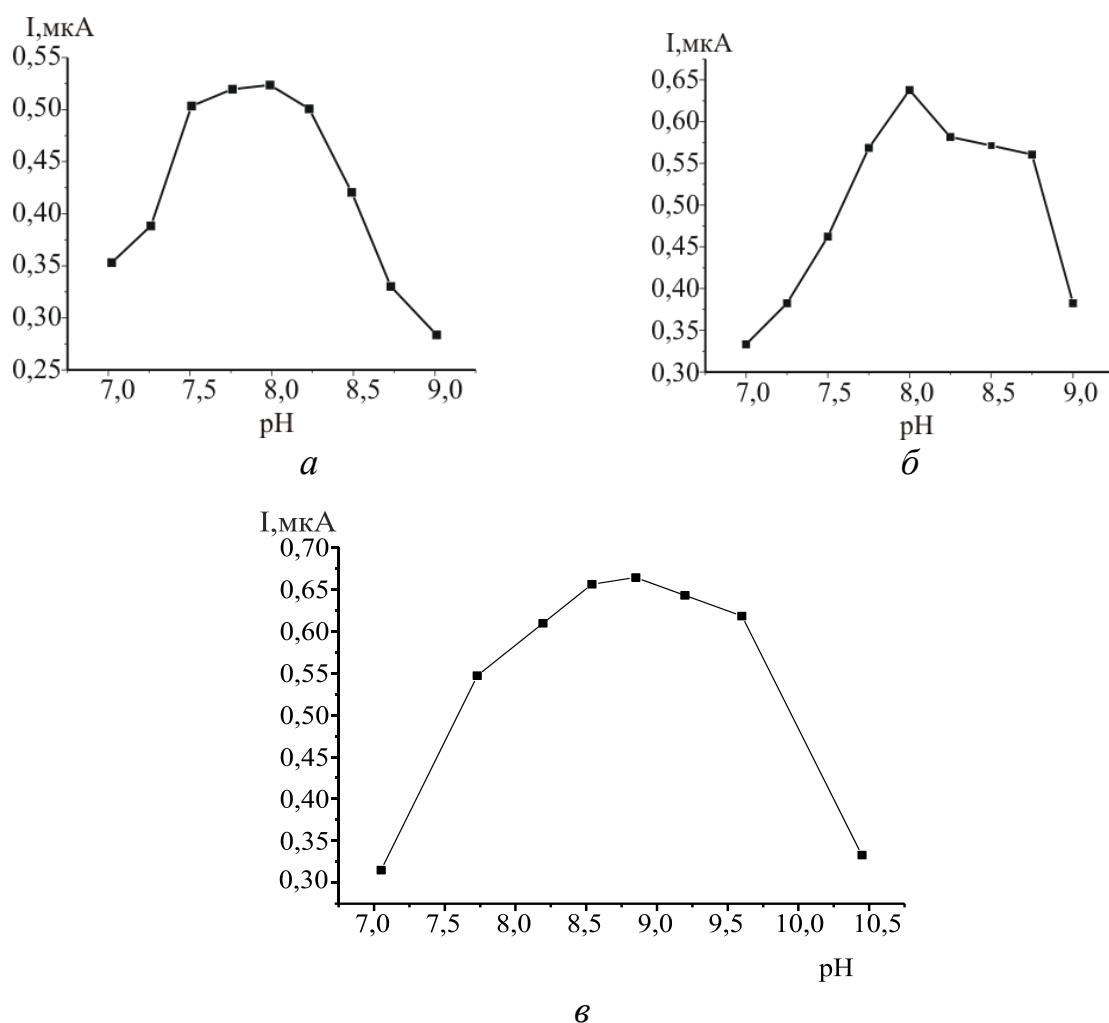


Рис. 3.2. Залежність струму піку відновлення N-оксиду Лд від рН окиснення, $C_{\text{Лд}}=5,0 \cdot 10^{-5}$ М, $C_{\text{окисн}}=1 \cdot 10^{-4}$ М, тривалість окиснення – 10 хв. Полярограми одержані за рН 3,0 і $V=0,5$ В/с, окисники – МХПБ (*a*), ПФК (*б*) і ПМСА (*в*).

Полярографувати N-оксиди, одержані за допомогою ПМСА або МХПБ, краще у кислому середовищі (рис. 3.3). Однак під час використання ПФК значення струму досягає максимуму за рН 6,5 і не зменшується в слабо лужній ділянці (рис. 3.3б). Потенціал відновлення N-оксиду також залежить від рН. Для забезпечення найліпшого рН для одержання полярограм (для підкислення розчину від рН 8-9 до рН 3-7) використовували фосфатну кислоту.

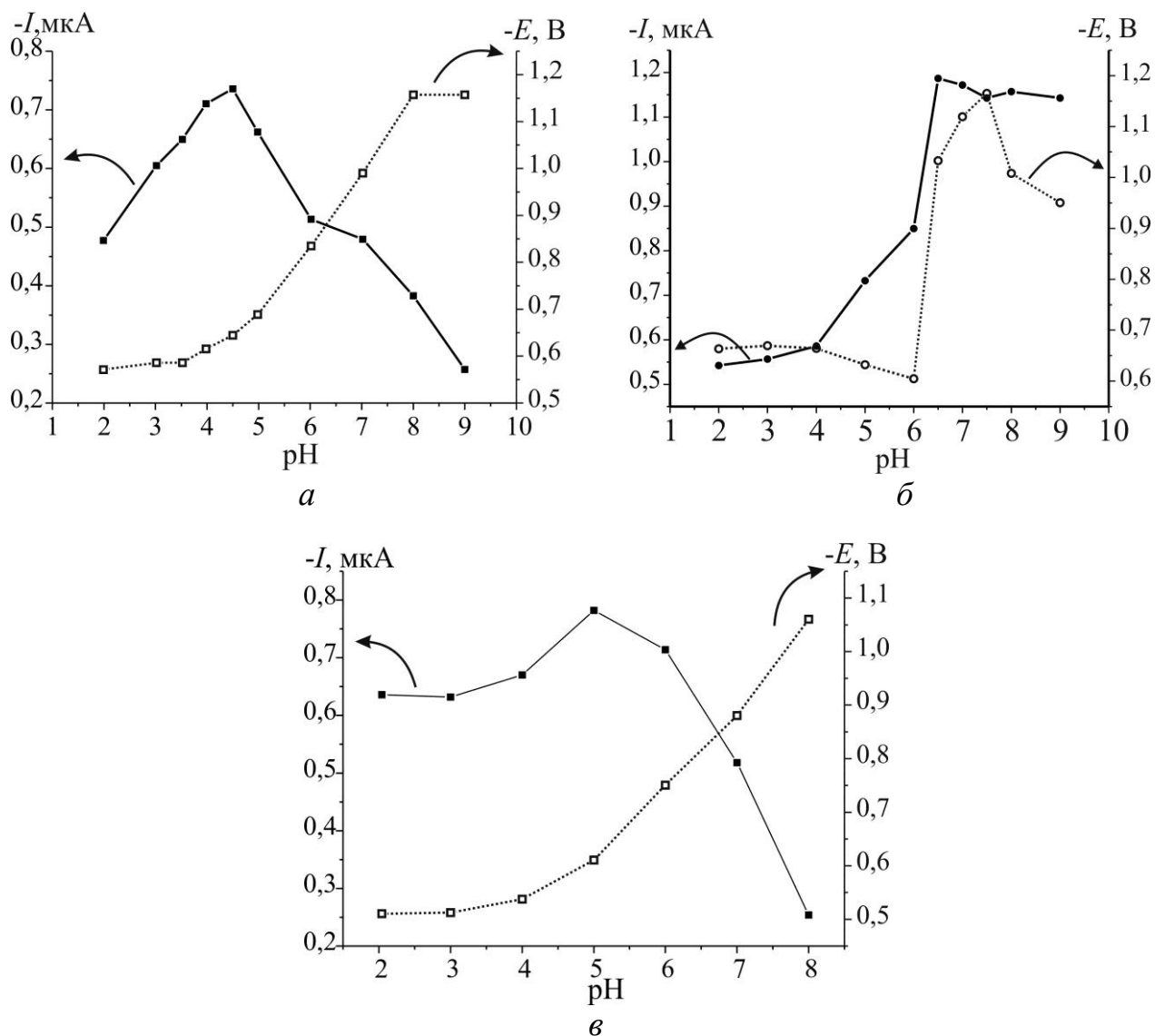


Рис. 3.3. Залежності струму і потенціалу піку відновлення N-оксиду Лд від рН полярографованого розчину $C_{\text{Лд}}=5,0 \cdot 10^{-5}$ М, $C_{\text{окисн}}=1 \cdot 10^{-4}$ М, тривалість окиснення – 10 хв, фон – фосфатний буферний розчин, окисники – МХПБ (*a*), ПФК (*б*) і ПМСА (*в*).

Надлишок реагента є важливим чинником, який впливає на вихід продукту окиснення (рис. 3.4*a*), швидкість окиснення (рис. 3.4*б*), а також на полярографічні характеристики відновлення N-оксиду (рис. 3.5). Збільшення концентрації (молярного надлишку) МХПК і ПФК у розчині дещо збільшує фоновий струм і змінює фонову лінію. У разі малого надлишку окисника окиснення має тривати не менше 20 хв (рис. 3.4*б*). Зі збільшенням молярного надлишку окисника необхідний час окиснення зменшується: у разі чотирьохкратного надлишку МХПК для

кількісного виходу N-оксиду достатньо 5 хв. ПФК окиснює лідокаїн повільніше: окиснення має тривати не менше, ніж 10 хв (рис. 3.4б, крива 3). Зауважимо, що на струм відновлення найбільше впливає ПФК, однак на вигляд фонові лінії і на полярограму відновлення N-оксиду Лд загалом суттєво впливає МХПК.

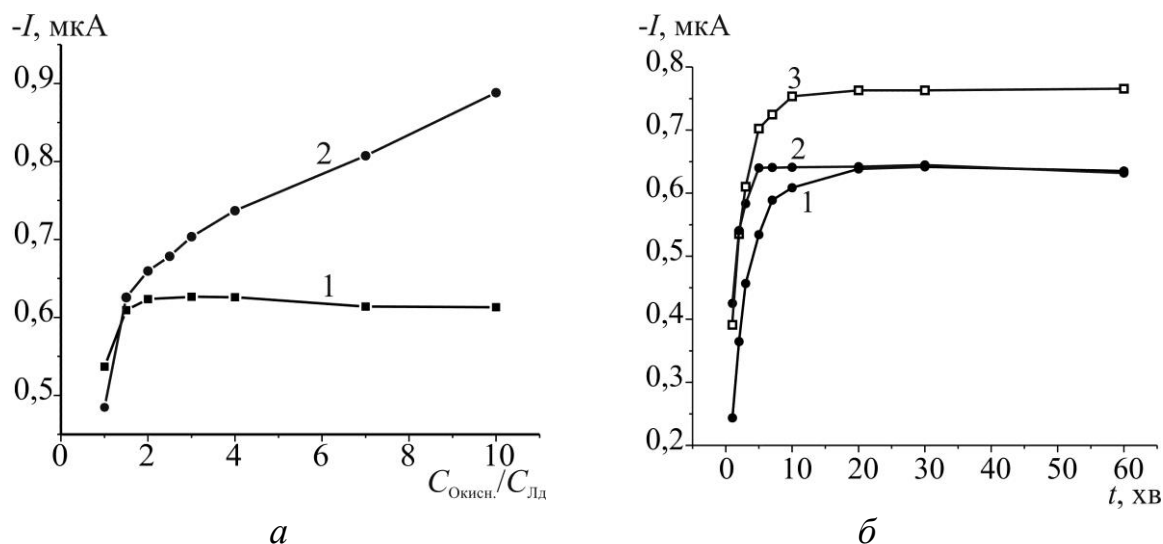


Рис. 3.4. Залежність струму у піку відновлення N-оксиду лідокаїну ($C_{\text{Лд}}=5 \cdot 10^{-5}$ М) від молярного надлишку МХПК (1) і ПФК (2) за тривалості окиснення 10 хв (а) і залежність струму від тривалості окиснення (б) за $C_{\text{МХПК}}=10^{-4}$ М (1); $C_{\text{МХПК}}=2 \cdot 10^{-4}$ М (2), $C_{\text{ПФК}}=2 \cdot 10^{-4}$ М (3). Полярографували за рН 3,0; $V=0,5$ В/с.

Щоб переконатися у тому, що природа і концентрація окисника впливає тільки на полярографічні характеристики відновлення N-оксиду Лд, а продукт окиснення в усіх випадках є однаковий, ми виконали такий експеримент. За відомою методикою [6] одержали очищений від залишку окисника N-оксид Лд: N-оксид вилучили трьома порціями хлороформу по 5 мл, далі реекстрагували трьома порціями хлоридної кислоти по 5 мл з $C(\text{HCl})=10^{-3}$ М. Потім до реекстракту додали 2 мл фосфатного буфера з рН 3,0, довели до позначки у мірній колбі місткістю 25 мл і полярографували. До інших порцій аналогічно одержаного N-оксиду Лд додавали окисники до їхньої концентрації $2 \cdot 10^{-4}$ М в кінцевому об'ємі 25 мл. Отримані полярограми наведено на рис. 3.5. Отже, надлишок органічних пероксикислот впливає тільки на вигляд полярограм, оскільки за наявності різних пероксикислот фонові лінії відрізняються.

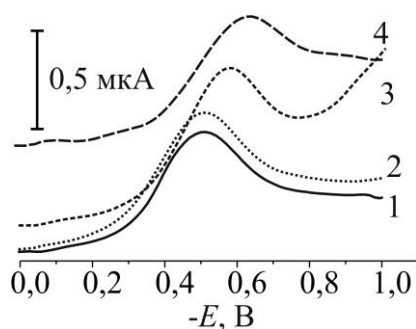


Рис. 3.5. Полярограми на фоні фосфатного буферного розчину з рН 3,0 у розчинах реекстракту N-оксиду за відсутності окисника (1); за наявності ПМСА (2); ПФК (3), МХПК (4), $C_{\text{ПМСА}} = C_{\text{ПФК}} = C_{\text{МХПК}} = 2 \cdot 10^{-4}$ М.

На підставі досліджень визначили оптимальні умови виконання аналізу з використанням різних окисників (табл. 3.1) [3].

Таблиця 3.1

Оптимальні умови полярографічного визначення лідокаїну у формі його N-оксиду з використанням різних окисників

Умови одержання N-оксиду і полярографування	ПМСА (Оксон або кислота Каро)	МХПК	ПФК
Фоновий електроліт	Фосфатний буферний розчин з $C_{\text{заг}} = 0,2$ М (приготування див. вище)		
рН окиснення лідокаїну	9,0	8,0	8,0
Концентрація окисника, М	10^{-4}	$2 \cdot 10^{-4}$	$2 \cdot 10^{-4}$
Мінімальний молярний надлишок окисника	2	4	4
Тривалість окиснення, хв	5	5	10
рН, за якого струм відновлення N-оксиду лідокаїну найвищий	5	4,5-5,5	6-7
Потенціал $-E$, В, за якого вимірювали струм I	0,51	0,60	0,56

У вибраних оптимальних умовах одержали градуовальні графіки для визначення Лд з використанням різних окисників (рис. 3.6).

Методика одержання градуовальних розчинів. У мірну колбу на 25,0 мл послідовно вносили аліквоти стандартного $1,0 \cdot 10^{-3}$ М розчину Лд для одержання розчину заданої концентрації від $1,0 \cdot 10^{-6}$ М до $1,0 \cdot 10^{-4}$ М, у кожену колбу додавали по 2 мл 1,25 М фосфатного буферного розчину (з рН 8,0 у разі використання

МХПК або ПФК, і рН 9,0 для ПМСА) і 2,5 мл вихідного розчину окисника, перемішуючи. Суміш витримували 5 хв для ПМСА і МХПК або 10 хв для ПФК, доводили рН до 3,0 (за рН-метром), додаючи орієнтовно 1,25 мл 2,5 М розчину H_3PO_4 , та доводили об'єм дистильованою водою до позначки. Переносили розчин до електролізера та знімали полярограми в інтервалі потенціалів від 0 до $-1,0$ В з $V = 0,5$ В/с.

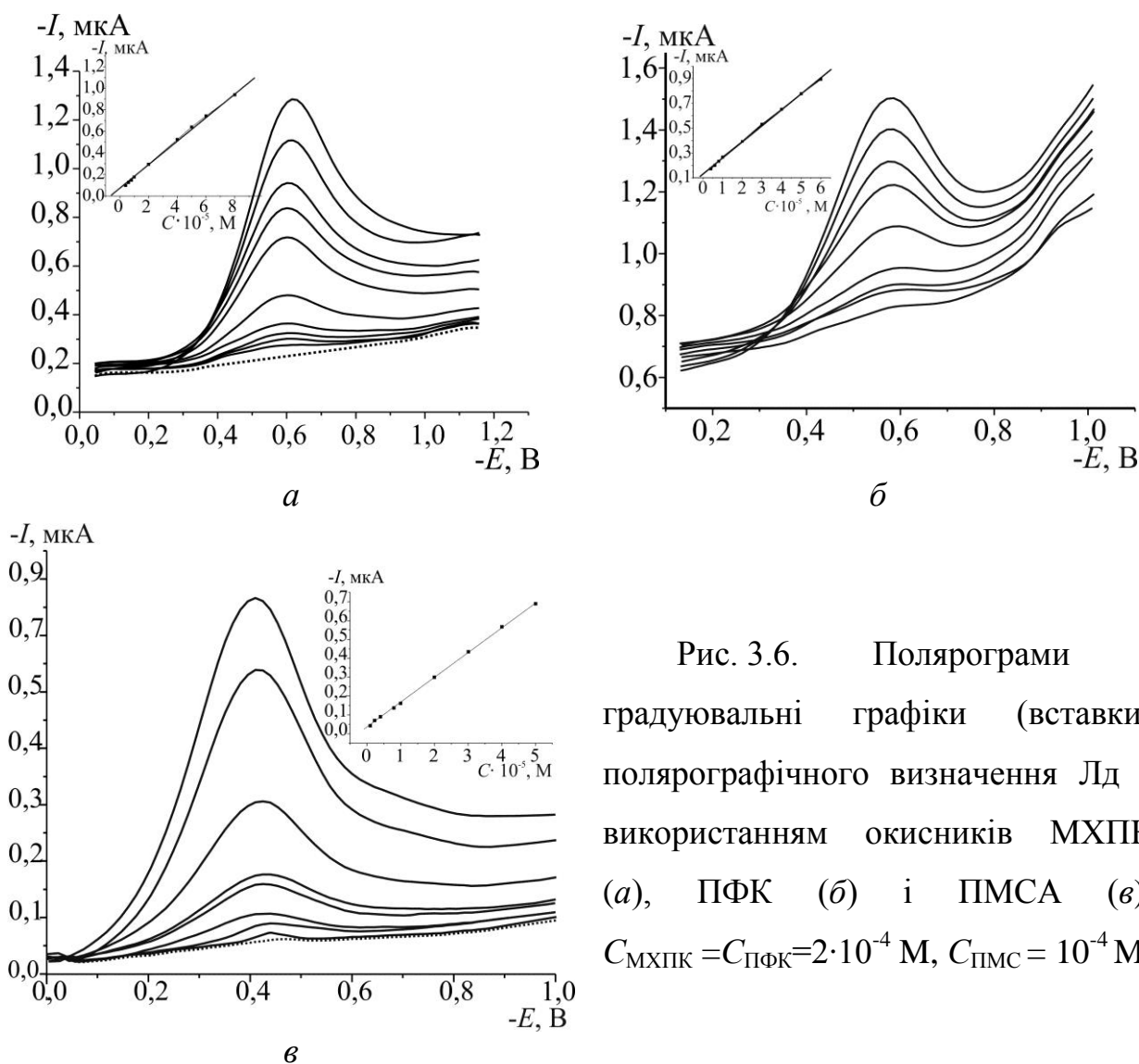


Рис. 3.6. Полярограми і градувальні графіки (вставки) полярографічного визначення Лд з використанням окисників МХПК (а), ПФК (б) і ПМСА (в). $C_{\text{МХПК}} = C_{\text{ПФК}} = 2 \cdot 10^{-4}$ М, $C_{\text{ПМС}} = 10^{-4}$ М.

На підставі одержаних результатів обчислили метрологічні характеристики полярографічного визначення Лд у формі його N-оксиду з використанням синтезованої кислоти Каро, МХПК і ПФК (табл. 3.2). У табл. 3.2 також зазначено деякі аналітичні характеристики розроблених методик, зокрема стабільність розчину окисника (концентрацію робочих розчинів окисників контролювали методом йодометричного титрування).

Таблиця 3.2

Характеристика полярографічного визначення лідокаїну з використанням різних окисників

Окисник	Кислота Каро	ПФК	МХПК
Розчинність окисника у воді	висока	низька	низька
Стабільність водного розчину окисника (зменшення концентрації вдвічі)	стійкий (не змінюється впродовж 4-х місяців)	24 год	24 год
Межі лінійності	$1,8 \cdot 10^{-6} - 5 \cdot 10^{-5}$	$4 \cdot 10^{-6} - 6 \cdot 10^{-5}$	$4 \cdot 10^{-6} - 8 \cdot 10^{-5}$
Коефіцієнт кореляції, R	0,9993	0,9995	0,9993
Параметр b , мкА моль л ⁻¹	$1,30 \cdot 10^4$	$1,29 \cdot 10^4$	$1,12 \cdot 10^4$
Параметр a , мкА	$4,0 \cdot 10^{-2}$	0,13	$6,0 \cdot 10^{-2}$
RSD (%)	1,13	0,89	1,24
$C_{\text{мін}}$, М	$1,4 \cdot 10^{-6}$	$2,2 \cdot 10^{-6}$	$1,9 \cdot 10^{-6}$
$C_{\text{н}}$, М	$4,2 \cdot 10^{-6}$	$4,8 \cdot 10^{-6}$	$5,7 \cdot 10^{-6}$

Отже, окисники кислота Каро, Оксон, МХПК і ПФК окиснюють лідокаїн до його N-оксиду – оксидують. Метрологічні характеристики визначення лідокаїну 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 відбувається повільніше. Тому для дериватизації лідокаїну доцільніше використовувати калій пероксимоносульфат: високочистий комерційний реагент Оксон або кислоту Каро, яку легко синтезувати в лабораторних умовах з доступних реактивів [3].

3.2. Вибір оптимальних умов полярографічного визначення МА групи амідів з використанням Оксону

На рис. 3.7 зображено циклічні полярограми N-оксидів лідокаїну (Лд), тримекаїну (Тр), мепівакаїну (Меп), бупівакаїну (Буп), одержані за однакових умов

з використанням окисника Оксону – потрійної солі калій пероксимоносульфату (КПМС). Для всіх АН простежується один пік відновлення в межах потенціалів $-0,4 - -0,6$ В. Анодних піків нема, що свідчить про повністю необоротний процес [5]. Тому у подальших дослідженнях для оптимізації умов аналізу використовували метод ЛВА.

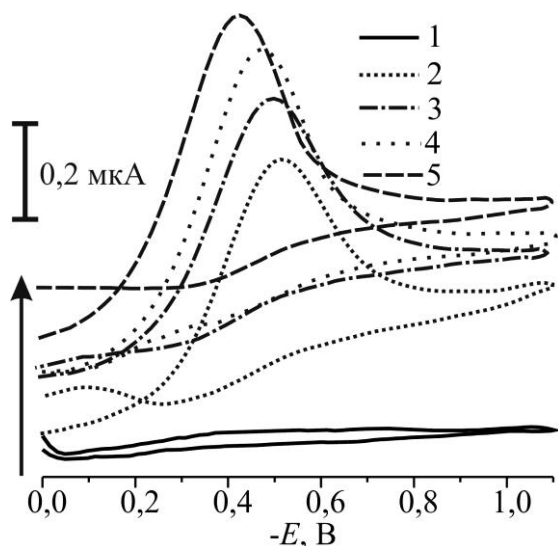
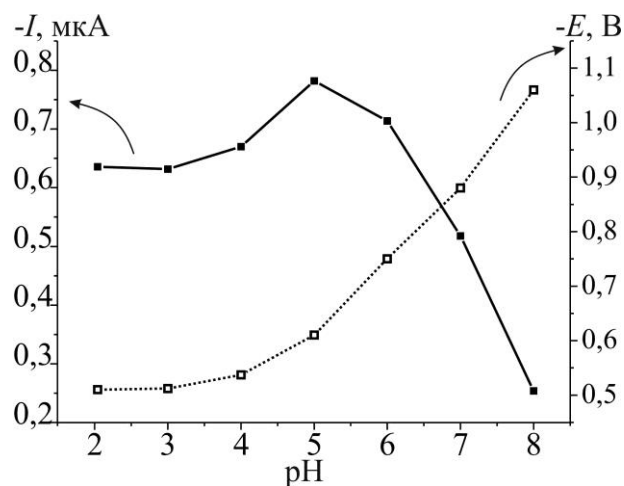
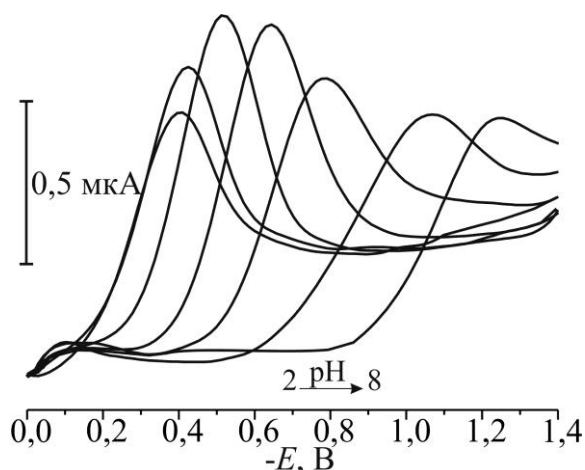


Рис. 3.7. Полярні грами на фоні фосфатного буферу з $C_{\text{буф.}} \sim 0,2$ М, $C_{\text{АН}} = 5,0 \cdot 10^{-5}$ М, $C_{\text{КПМС}} = 1 \cdot 10^{-4}$ М; $V = 0,5$ В/с, рН 3,0 фоновий електроліт (1), Лд (2), Тр (3), Буп (4), Меп (5).

Стрілка на рис. 3.7 означає, що полярні грами послідовно зміщено вверх по осі ординат для кращого вигляду.

3.2.1. Вплив рН на полярнографічне відновлення N-оксидів МА групи амідів

Дослідили залежність полярнографічних характеристик (струму, потенціалу) відновлення N-оксидів МА від рН полярнографованого розчину ($\text{pH}_{\text{пол}}$) на фоні фосфатного буферу (рис 3.8-3.9).



а

б

Рис. 3.8. Вигляд катодних полярнограм за різних $\text{pH}_{\text{пол}}$ (а) та залежність полярнографічних характеристик відновлення N-оксиду Лд від рН на фоні фосфатного буферу $C_{\text{буф.}} \sim 0,2$ М (б), $C_{\text{Лд}} = 5,0 \cdot 10^{-5}$ М, $C_{\text{КПМС}} = 1,0 \cdot 10^{-4}$ М.

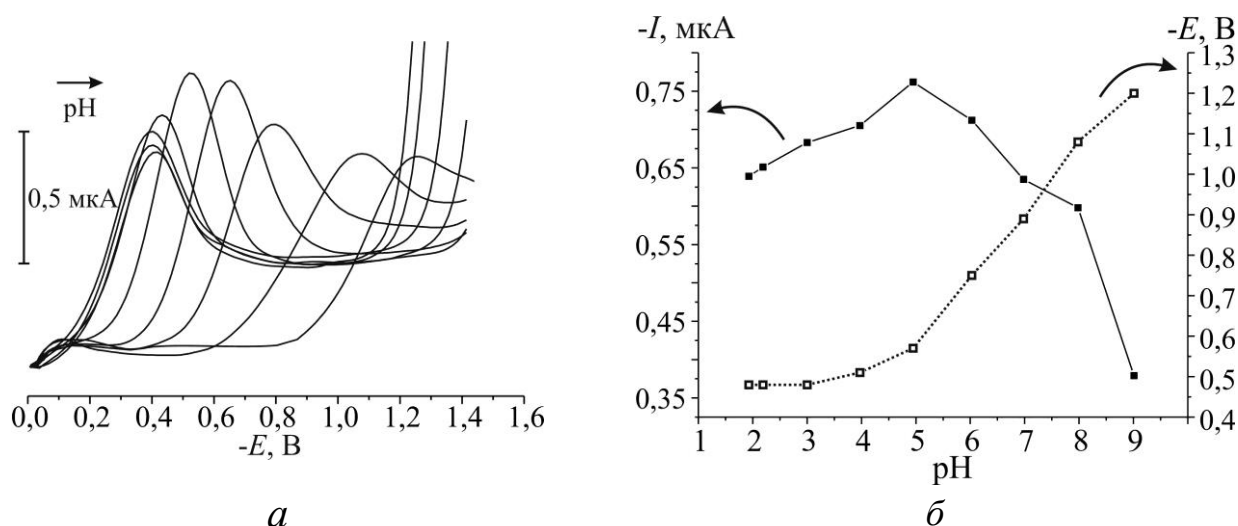


Рис. 3.9. Вигляд катодних полярограм за різних $\text{pH}_{\text{пол}}$ (а) та залежність полярографічних характеристик відновлення N-оксиду Меп від рН на фоні фосфатного буферу $C_{\text{буф}} \sim 0,2 \text{ М}$ (б), $C_{\text{Меп}} = 5,0 \cdot 10^{-5} \text{ М}$, $C_{\text{КПМС}} = 1,0 \cdot 10^{-4} \text{ М}$.

Зі збільшенням $\text{pH}_{\text{пол}}$ відновлення МА утруднюється: за $\text{pH} > 4$ потенціали піків відповідних N-оксидів МА зміщуються в негативний бік. Отже, в електрохімічній реакції беруть участь іони H^+ . Залежності $-E(\text{В})$ від $\text{pH}_{\text{пол}}$ є лінійними й описуються рівняннями, наведеними в табл. 3.3. Значення параметра b цих рівнянь дає змогу оцінити співвідношення кількості протонів до кількості електронів, які беруть участь у електрохімічній реакції m_{H^+}/n (рівняння (2.2)). Для всіх досліджених речовин співвідношення кількості протонів до електронів, які беруть участь у електрохімічній реакції, є близьким до 1 (табл. 3.3).

Таблиця 3.3

Рівняння прямої для лінійної частини залежності $-E, \text{В}$ від рН;

умови див. рис. 3.8-3.9

АН	$\text{pH}_{\text{пол.}}^*$	Рівняння прямої	R	m_{H^+}/n
Лд	4-8	$E = (0,06 \pm 0,03) + (0,146 \pm 0,005) \cdot \text{pH}$	0,9984	1,20
Тр	5-8	$E = -(0,21 \pm 0,04) + (0,158 \pm 0,006) \cdot \text{pH}$	0,9980	1,34
Меп	4-7	$E = -(0,09 \pm 0,06) + (0,12 \pm 0,01) \cdot \text{pH}$	0,9933	1,02
Буп	4-7	$E = -(0,12 \pm 0,04) + (0,110 \pm 0,008) \cdot \text{pH}$	0,9890	0,93

* – межі $\text{pH}_{\text{пол}}$, для яких обчислено рівняння прямої

За значеннями потенціалів піку E_p та півпіку $E_{p/2}$ можна обчислити кількість електронів, які беруть участь у електрохімічній реакції відповідно до рівняння (2.3).

У табл. 3.4 наведено результати обчислень кількості електронів (n) для рН, для яких визначено співвідношення m_H^+/n .

Таблиця 3.4

Результати обчислення кількості електронів (n), які беруть участь в електрохімічній реакції відновлення N-оксидів МА за різних рН,

$$C_{MA} = 5,0 \cdot 10^{-5} \text{ М}, C_{KPMС} = 1 \cdot 10^{-3} \text{ М}, V = 0,5 \text{ В/с}$$

Лд		Тр		Меп		Буп	
рН	n	рН	n	рН	n	рН	n
3,5	0,95	3,0	1,00	3,0	0,97	4,0	0,88
4,0	0,99	4,0	0,92	4,0	1,00	4,6	0,92
4,5	0,96	5,0	0,82	5,0	1,00	5,0	1,00
5,0	0,96	6,0	0,86	6,0	0,91	5,5	0,97
		7,0	0,90	7,0	0,93	6,0	1,04

Відповідно до отриманих даних, участь в електрохімічній реакції відновлення N-оксидів усіх МА бере один електрон та один протон.

Максимальне значення граничного струму відновлення N-оксидів АН простежується за рН ~ 5 , а потім струм різко зменшується. Однак, для Лд і Тр оптимальним для визначення є рН ~ 3 , оскільки за такого рН струм і потенціал відновлення мало залежать від кислотності. У подальшій роботі усі полярограми для цих АН одержували за рН 3,0.

3.2.2. Вплив рН і фонового електроліту на окиснення АН групи амідів

Важливим чинником, який впливає на кількісний вихід N-оксидів МА, є також рН окиснення [5]. Оптимальним для окиснення ($pH_{окс}$) є лужне середовище у фосфатному буферному розчині з рН 8,5-9,5 (рис. 3.10). Процес окиснення зупиняють підкисленням реакційної суміші, і отриманий розчин полярографують.

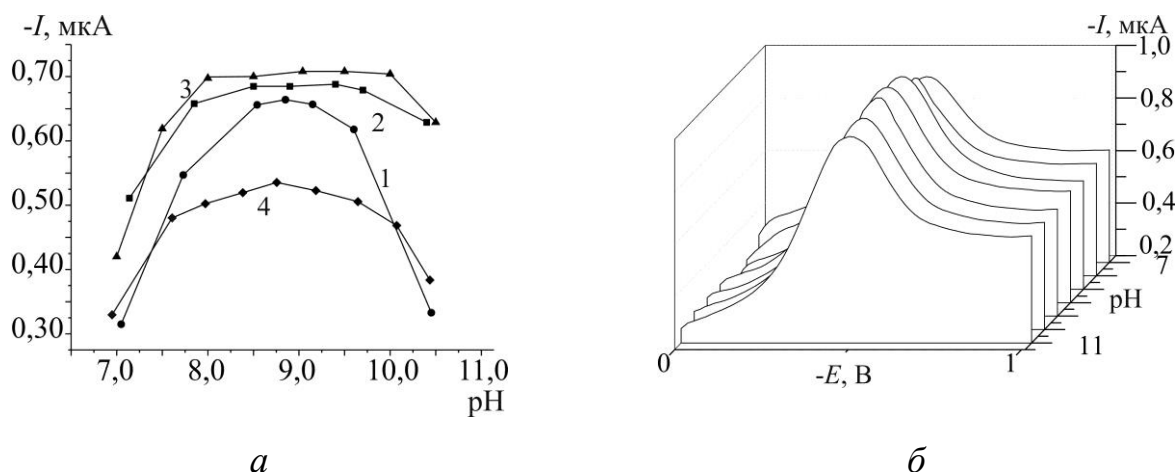


Рис. 3.10. Вплив $\text{pH}_{\text{окс}}$ на струм відновлення АН на фоні фосфатного буферу (а), та вигляд відповідних полярограм для тримекаїну (б). $C_{\text{АН}} = 5,0 \cdot 10^{-5} \text{ M}$, $C_{\text{КПМС}} = 1,0 \cdot 10^{-4} \text{ M}$, $\text{pH}_{\text{пол}} = 3,0$; 1 – Лд; 2 – Тр; 3 – Меп; 4 – Буп.

Як середовище для окиснення досліджували боратний, аміачний, карбонатний, фосфатний і універсальний (УБС, Бріттона-Робертса) буферні розчини. При використанні фосфатного і УБС буферів одержуємо дещо вищі струми відновлення N-оксидів, порівняно з іншими середовищами. Із застосуванням аміачного, карбонатного, боратного буферу одержано практично однакові результати (рис. 3.11). Природа фонового електроліту визначає структуру подвійного електричного шару і, як наслідок, характеристики піку відновлення (форму, висоту і потенціал), а також фоновий струм.

Для підкислення розчину до $\text{pH}_{\text{пол}}$ можна використовувати ацетатну, форміатну, хлоридну чи фосфатну кислоту. Якщо окиснювати АН у фосфатному буферному розчині, то найліпше – фосфатна кислота. У разі використання інших кислот у розчині з'являються аніони іншої природи, що може впливати на структуру подвійного електричного шару і, як наслідок, на характеристики відновлення деполаризатора.

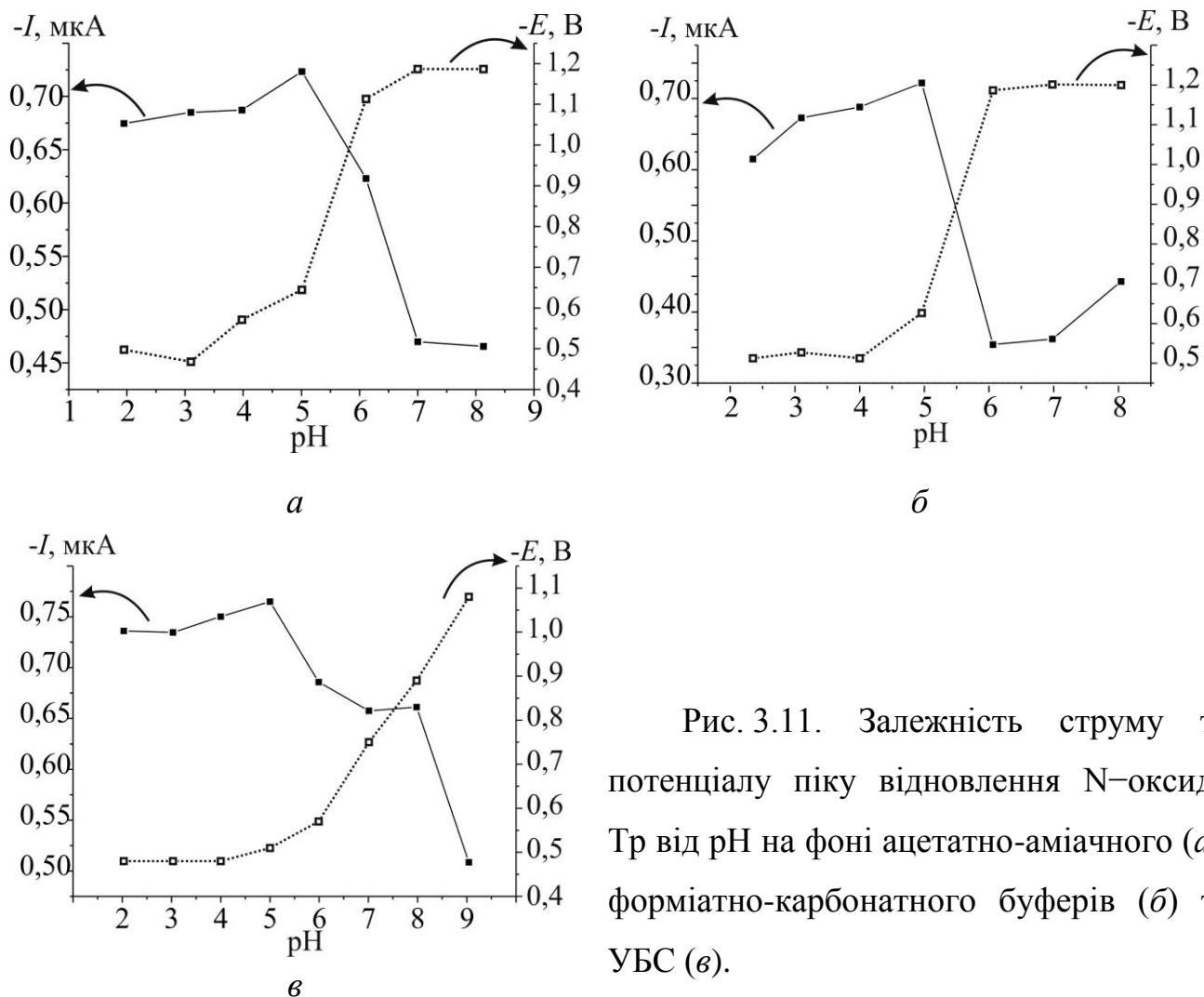


Рис. 3.11. Залежність струму та потенціалу піку відновлення N-оксиду Тр від рН на фоні ацетатно-аміачного (а), форміатно-карбонатного буферів (б) та УБС (в).

У подальших дослідженнях використовували здебільшого фосфатний буферний розчин або УБС, оскільки у цьому разі найпростіше змінити рН від 8,5-9,5 (оптимального для окиснення АН) до 3,0-5,0 ($\text{pH}_{\text{пол}}$ – оптимальне для одержання полярограм).

3.2.3. Вплив тривалості окиснення, співвідношення концентрації реагентів і нагрівання розчинів на полярографічне відновлення N-оксидів МА групи амідів

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 надалі окисдували анестетики впродовж 5-6 хв (рис. 3.12а).

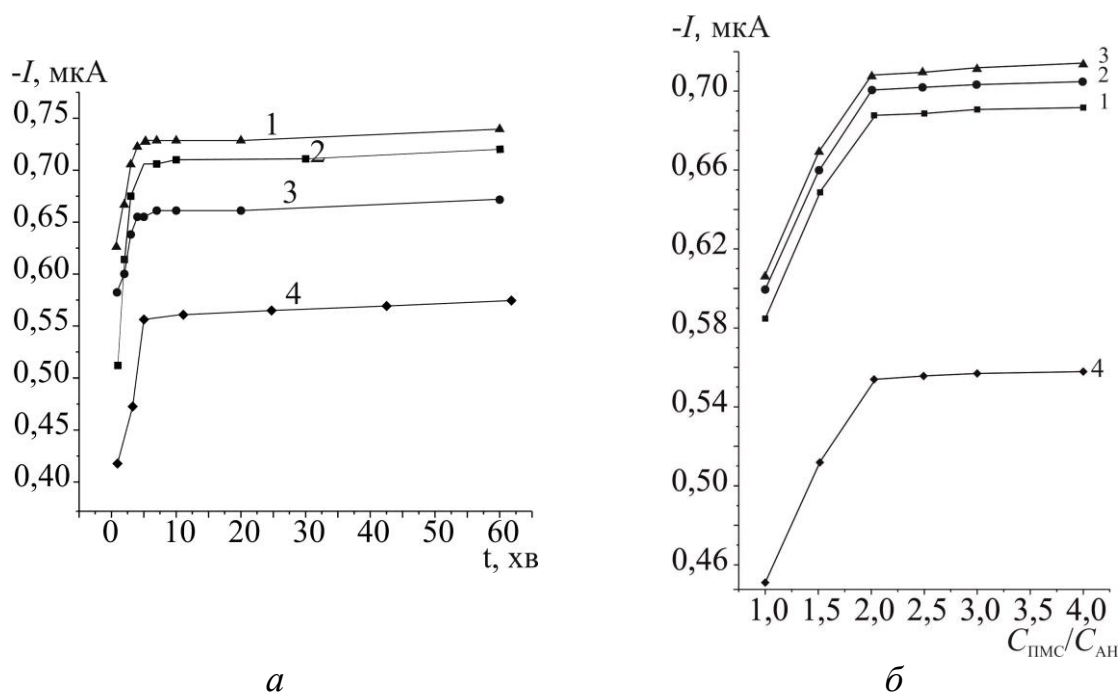


Рис. 3.12. Вплив тривалості окиснення (а) та молярного надлишку КПМС (б) на струм відновлення АН на фоні фосфатного буферу. $C_{\text{АН}} = 5,0 \cdot 10^{-5} \text{ М}$, $C_{\text{КПМС}} = 1 \cdot 10^{-4} \text{ М}$, $\text{pH}_{\text{пол}} = 3,0$; 1 – Лд; 2 – Тр; 3 – Меп; 4 – Буп.

Експериментально встановлено, що зменшення концентрації КПМС в ході реакції з АН пропорційне нагромадженню відповідного аміноксиду в розчині. Як видно з рис. 3.12б, 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 (на рис. 3.12б не відображено надлишку понад 1:4). Отже, для максимального виходу продукту треба забезпечити щонайменше двократний надлишок КПМС. Проте, бажано, щоб концентрація КПМС у розчині не перевищувала 10^{-4} М , оскільки через відновлення КПМС збільшується залишковий струм і дещо спотворюється фонові лінії полярограми.

Залишковий (фоновий) струм, зумовлений відновленням надлишку КПМС, можна зменшити, додаючи у розчин відновники, які взаємодіють з надлишком окисника. Дослідили можливість використання натрій сульфїту й аскорбінової кислоти (рис. 3.13). Сульфїт відновлюється на р.к.е. й спотворює полярограму. Доцільно використовувати аскорбінову кислоту, наявність якої зменшує

залишковий струм, вирівнює фонову лінію, але не змінює вигляду полярограми відновлення N-оксиду Лд впродовж тривалого часу.

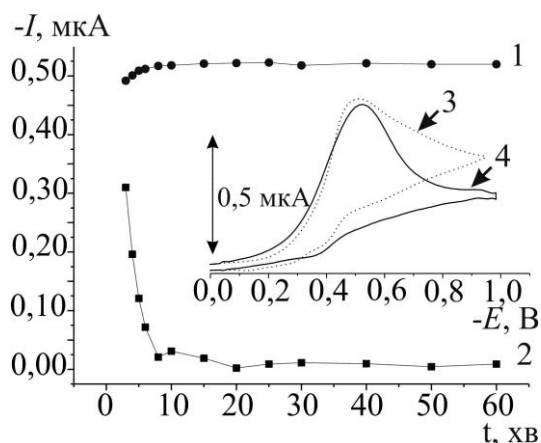


Рис. 3.13 Залежність струму відновлення N-оксиду Лд (1) і фонового струму (2) від часу за наявності аскорбінової кислоти. Вставка: полярограми N-оксиду Лд за наявності Na_2SO_3 (3) та аскорбінової кислоти (4) $C_{\text{віднов}} = 2 \cdot 10^{-4} \text{ M}$, $C_{\text{Лд}} = 5 \cdot 10^{-5} \text{ M}$, $\text{pH}_{\text{пол}} 3,0$.

Вплив температури розчину на вихід N-оксидів АН (на прикладі Лд) досліджували двома способами [5].

Перший спосіб: в одну склянку вносили фосфатний буфер з рН 9 і аліквоту Лд, в іншу склянку – аліквоту КПМС. Далі обидві склянки одночасно занурювали у водяну баню до встановлення відповідної температури у склянках, яку додатково контролювали термометром. Після встановлення відповідної температури розчини змішували і витримували ще 5 хв. Далі додавали фосфатну кислоту до рН 3 і охолоджували до кімнатної температури.

Другий спосіб: змішували усі реагенти (фосфатний буфер з рН 9, лідокаїн і КПМС) у потрібному співвідношенні у склянці, склянку занурювали у водяну баню до встановлення відповідної температури, яку додатково контролювали термометром. Після встановлення відповідної температури додавали фосфатну кислоту до рН 3 і охолоджували до кімнатної температури.

Отримані залежності аналітичного сигналу від температури двома способами мали ідентичний характер (рис. 3.14). Струм відновлення N-оксиду майже не залежить від температури розчину під час окиснення за звичайних умов. За

температури вище 60 °С струм відновлення зменшується, очевидно, через розкладання окисника під час нагрівання. Отже, оптимальною є кімнатна температура, а для окиснення АН не потрібне нагрівання.

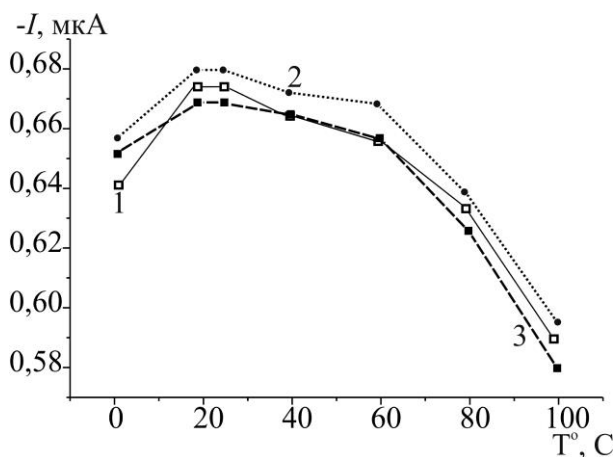


Рис. 3.14. Вплив температури розчину під час окиснення АН на струм відновлення N-оксидів. $C_{\text{КПМС}} = 10^{-4}$ М, $C_{\text{АН}} = 5,0 \cdot 10^{-5}$ М, рН=3; 1 – Лд; 2 – Тр; 3 – Меп.

3.2.4. Вплив швидкості розгортки напруги поляризації на відновлення N-оксидів МА

Важливим критерієм для з'ясування особливостей електрохімічного процесу є зміна вольтамперометричних характеристик (струму, потенціалу) із зміною швидкості розгортки напруги поляризації V (В/с). Потенціал піків відновлення N-оксидів МА зсувається в катодну ділянку зі збільшенням швидкості розгортки V . Це свідчить про необоротний процес відновлення. Відповідно до рівняння Рендлса-Шевчика (рівняння (2.1)) для необоротних реакцій лінійна зміна струму із зміною $V^{1/2}$ (рис. 3.15) свідчить про дифузійно-контрольований електрохімічний процес. Крім того, невелике значення параметра a у рівнянні прямої залежності $I_p = f(V^{1/2})$ свідчить про незначний вклад адсорбції N-оксидів МА на р.к.е.:

$$I_p = (0,20 \pm 0,01) + (0,73 \pm 0,01) \cdot V^{1/2} \quad R = 0,9953 \text{ для Буп}$$

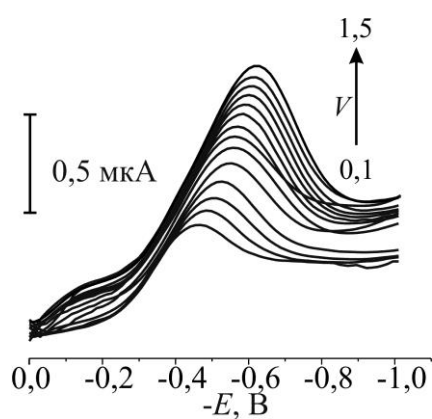
Залежність логарифму струму піків відновлення від логарифму швидкості розгортки напруги поляризації (рис. 3.15, табл. 3.5) також є лінійною зі значеннями

тангенсів кутів нахилу $\Delta \lg I / \Delta \lg V$ (критерію Семерано) близьких до теоретичного значення 0,5, що додатково підтверджує дифузійно-контрольований процес:

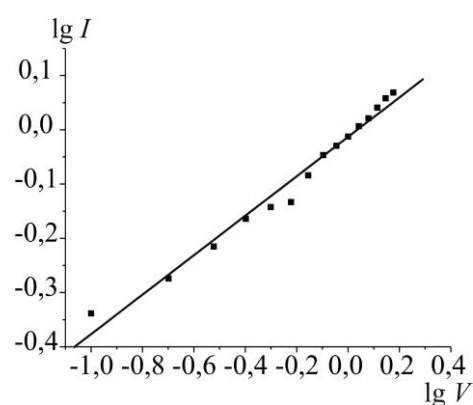
$$\lg I_p = -(0,025 \pm 0,001) + (0,384 \pm 0,006) \cdot \lg V \quad R = 0,9987 \text{ для Буп}$$

Окремі значення тангенса кута нахилу логарифмічної залежності дещо менші від 0,5, що може свідчити про незначні кінетичні обмеження. Крім того, значення струму відновлення N-оксидів АН практично не залежать від висоти ртутного стовпа, що також вказує на кінетичну природу струму. Кінетичні обмеження можуть бути спричинені реакцією протонування функціональної групи, що зазнає перетворення на електроді.

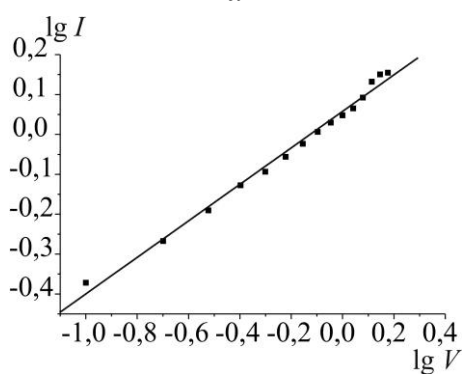
Наявність відновника аскорбінової кислоти мало впливає на природу струму відновлення N-оксидів Лд і Тр (табл. 3.5).



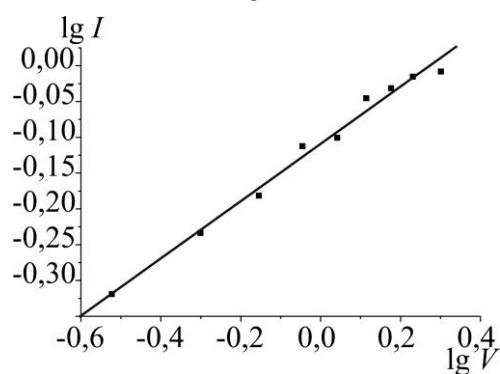
а



б



в



г

Рис. 3.15 Вигляд полярограм (а) та залежність логарифму струму від логарифму швидкості напруги поляризації для Лд (б) ($C_{\text{Лд}} = 5,0 \cdot 10^{-5} \text{ М}$), Меп (в) ($C_{\text{Меп}} = 5,0 \cdot 10^{-5} \text{ М}$) та Тр (г) ($C_{\text{Тр}} = 4,0 \cdot 10^{-5} \text{ М}$). Фосфатний буфер з $\text{pH}=3,0$, $C_{\text{буф}} \sim 0,2 \text{ М}$, $C_{\text{КПМС}} = 1 \cdot 10^{-4} \text{ М}$.

Таблиця 3.5

Значення критерію Семерано ($\Delta(\lg I/\lg V)$) для процесу відновлення N-оксидів АН за різних умов. $C(\text{КПМС}) = 1 \cdot 10^{-4}$ моль/л

АН	$C_{\text{АН}}, \text{М}$	pH	$\Delta(\lg I/\lg V)$
Лд	Без аскорбінової кислоти		
	$5,0 \cdot 10^{-5}$	2,0	0,42
		3,0	0,40
		4,0	0,40
		5,0	0,50
	З аскорбіновою кислотою $C = 2 \cdot 10^{-4}$ моль/л		
	$5,0 \cdot 10^{-5}$	2,0	0,44
		3,0	0,45
		4,0	0,45
		5,0	0,55
Тр	Без аскорбінової кислоти		
	$4,0 \cdot 10^{-5}$	3,0	0,40
	$1,0 \cdot 10^{-5}$	3,0	0,25
		4,0	0,40
		5,0	0,53
	З аскорбіновою кислотою $C = 2 \cdot 10^{-4}$ моль/л		
	$1,0 \cdot 10^{-5}$	3,0	0,42
		4,0	0,44
		5,0	0,60
Буп	$1,0 \cdot 10^{-5}$	4,0	0,40
	$5,0 \cdot 10^{-5}$	5,0	0,43
Меп	$5,0 \cdot 10^{-5}$	3,0	0,46
		6,0	0,53

3.2.5. Метрологічні параметри полярографічного визначення АН у формі N-оксидів

На підставі виконаних досліджень визначили оптимальні умови полярографічного визначення Лд, Тр, Меп і Буп у формі їхніх N-оксидів, одержаних за допомогою КПМС (табл. 3.6.).

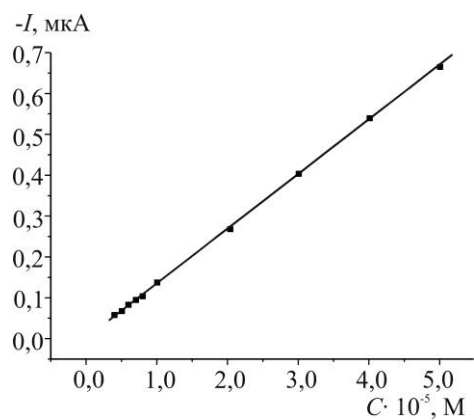
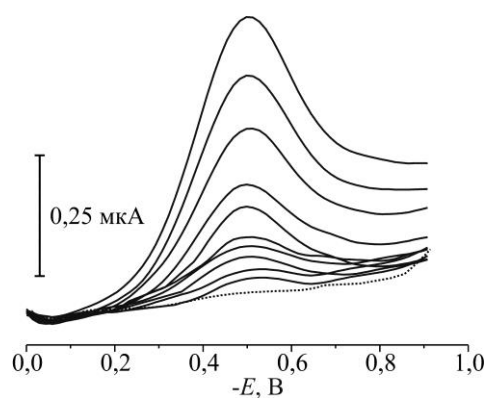
Таблиця 3.6

Оптимальні умови окиснення МА за допомогою Оксону і подальшого відновлення на р.к.е. одержаних N-оксидів Лд, Тр, Меп і Буп [5, 7]

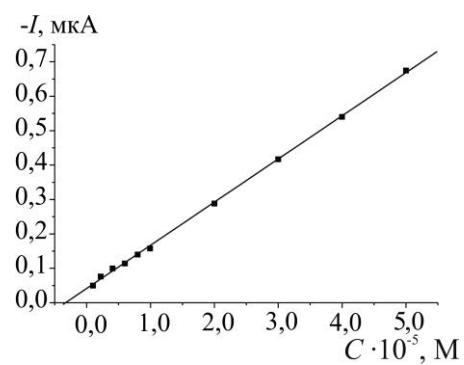
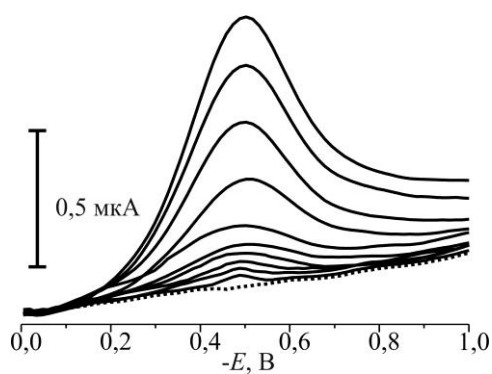
Умови	Лд	Тр	Меп	Буп
	одержання N-оксиду			
Фосфатний буферний розчин, $C_{\text{заг.}} = 0,2 \text{ М}$	pH 8,7-9,0	pH 8,5-9,5	pH 8,5-9,5	pH 8,0-9,0
Максимальна концентрація КПМС (бажано)	10^{-4} М			
Мінімальний молярний надлишок окисника	Двократний			
Тривалість окиснення	5-6 хв			
одержання полярограм				
pH, за якого доцільно одержувати полярограми	3,0	3,0	5,0	5,0
Діапазон розгортки потенціалу, В	0 – -1			
Швидкість розгортки потенціалу, В/с	0,5 – 1			
Потенціал $-E$, В, за якого вимірювали струм I	0,51	0,48	0,41	0,43

Методика одержання розчинів для градуювання. У мірні колби на 25,0 мл послідовно вносили аліквоти стандартного $1,0 \cdot 10^{-3}$ моль/л розчину АН, для одержання розчину заданої концентрації від $1,0 \cdot 10^{-6}$ М до $5,0 \cdot 10^{-5}$ М, у кожену колбу додавали по 2 мл 1,25 М фосфатного буферного розчину з pH 9,0 і 2,5 мл 10^{-3} моль/л КПМС при перемішуванні. Суміш витримували 5 хв, доводили pH до 3,0, додаючи орієнтовно 1,25 мл 2,5 М розчину H_3PO_4 (додатково pH контролювали pH-метром) та доводили об'єм дистильованою водою до позначки. Переносили розчин до електролітичної комірки та одержували полярограми в інтервалі потенціалів від 0 до -1,0 В.

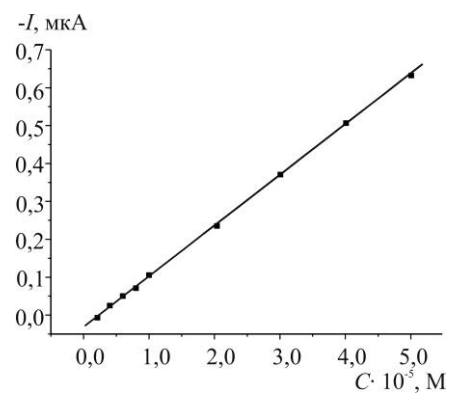
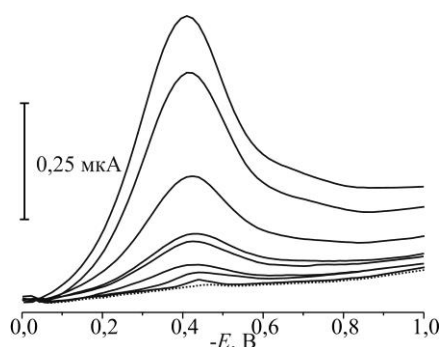
Полярограми, одержані у розчинах для градуювання, і градуювальні графіки зображено на рис. 3.16, а метрологічні характеристики полярографічного визначення АН у формі їхніх N-оксидів – у табл. 3.7.



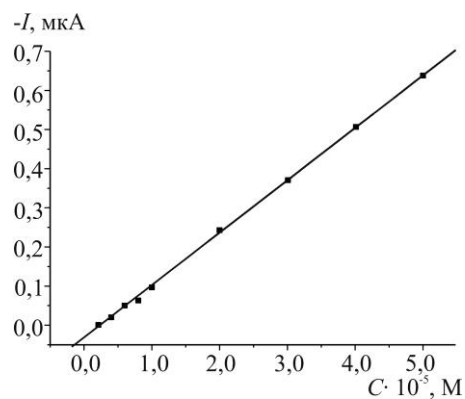
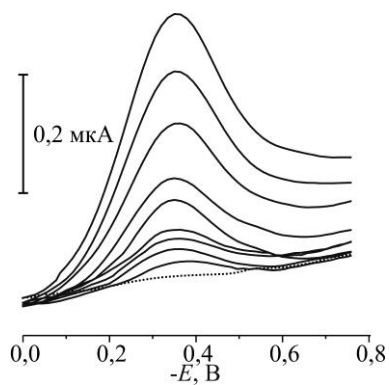
а



б



в



г

Рис. 3.16. Полярограммы, одержані у розчинах для градуювання, і градуювальні графіки полярографічного визначення Лд (а), Тр (б), Меп (в), Буп (г).

Таблиця 3.7

Метрологічні характеристики полярографічного визначення у формі їхніх
N-оксидів. Умови: див табл. 3.6

Параметри		Лд	Тр		Меп	Буп
			pH 3,0	pH 5,0		
Межі лінійності, моль/л		$1,8 \cdot 10^{-6} - 5 \cdot 10^{-5}$	$1,1 \cdot 10^{-6} - 5 \cdot 10^{-5}$	$2,0 \cdot 10^{-6} - 5 \cdot 10^{-5}$	$1,2 \cdot 10^{-6} - 5 \cdot 10^{-5}$	$1,0 \cdot 10^{-6} - 5 \cdot 10^{-5}$
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		$1,2 \cdot 10^{-2}$	$0,8 \cdot 10^{-2}$	$1,7 \cdot 10^{-2}$	$0,8 \cdot 10^{-3}$	$0,5 \cdot 10^{-3}$
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

Доцільно було також порівняти метрологічні характеристики полярографічного визначення Лд і Тр за pH 3,0 (табл. 3.7), за якого незначні зміни pH мало впливають на значення аналітичного сигналу, і за pH 5,0, за якого простежувалися найвищі значення струму відновлення N-оксидів (рис. 3.9). Для цього ми приготували серію стандартних розчинів Тр у формі N-оксиду, зареєстрували полярограми і обчислили параметри одержаного градуовального графіка. Як виявилось, інструментальна чутливість очікувано є дещо вищою, а межа виявлення – дещо меншою, порівняно з цими ж параметрами за pH 3,0. Однак, збіжність результатів вимірювання за pH 5,0 є гіршою, що вплинуло на значення RSD, Δb , Δa і R.

Висновки до розділу 3.2

Калій дихромат, калій перманганат, амоній або калій персульфат взаємодіють з Лд, однак незначні зміни на полярограмах продуктів окиснення не можна використати для кількісного визначення анестетика. Такі окисники, як кислота Каро, Оксон, МХПК і ПФК, окиснюють Лд до його N-оксиду – оксидують. 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 відбувається повільніше. Тому для дериватизації АН доцільніше використовувати калій пероксимоносульфат: високочистий комерційний реагент Оксон або кислоту Каро, яку легко синтезувати в лабораторних умовах з доступних реактивів [3].

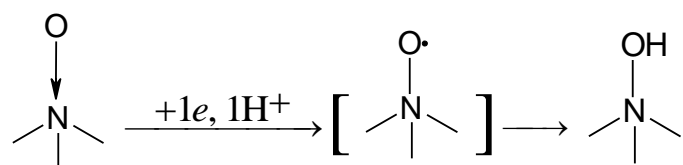
Наявність третинної аміногрупи у молекулі МА зумовлює подібність процесів їхнього окиснення калій пероксимоносульфатом та відновлення на р.к.е. відповідних N-оксидів. Максимальний вихід N-оксидів МА простежується у слабо лужному середовищі (рН 8 – 9), тоді як відновлювати на р.к.е. N-оксиди доцільно у слабо кислому середовищі: струм піку відновлення N-оксидів досягає максимального значення в межах рН 3 – 5 [5, 7].

На полярограмах відновлення усіх досліджених N-оксидів реєструється один необоротний катодний пік. 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 із структурою самих МА.

Відновлення N-оксидів МА контролювано дифузією з можливими незначними кінетичними обмеженнями, а вклад адсорбції є низьким. Електрохімічний процес відновлення досліджених N-оксидів є одноелектронним і супроводжується приєднанням одного протона. У літературі [8-9] наведено гіпотетичну схему полярографічного відновлення N-оксиду Лд, в якому бере

участь два електрони, однак ніяких кількісних доказів двоелектронного відновлення не наведено. Інформації про механізм відновлення N-оксидів інших МА в літературі нема. Однак, запропоновано можливі механізми відновлення N-оксидів інших речовин, зокрема 37 похідних індолу чи ді-N-оксидів похідних хіноксалін-2-карбоксаміду [10-11]. Результати спектроелектрохімічних досліджень, а також методом ЦВА й електронного парамагнітного резонансу в апротонних розчинниках свідчать про перенесення одного електрона з утворенням стабільних аніон-радикалів. Внаслідок додавання невеликих кількостей води відновлення полегшується, що пояснюють протонізацією аніон-радикала [11].

Одержані нами дані (m_n^+ і n) добре узгоджуються з наведеними у літературі [10-11]. У водному середовищі за кислого рН більш імовірним видається, що реакція протонування Оксигену N-оксиду передує перенесенню електрона. Отже, відновлення N-оксидів МА на р.к.е. є одноелектронним і відбувається за схемою [12]:



За оптимальних умов окиснення АН і 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 залежність I , мкА від C , моль/л для кількісного визначення АН. Межа визначення АН становить $(2-4) \cdot 10^{-6}$ моль/л, що майже на два порядки менше від відомих титриметричних чи спектрофотометричних методик і може конкурувати з деякими хроматографічними.

3.3. Умови полярографічного визначення бензокаїну та новокаїну з використанням Оксону

На рис. 3.17 зображено катодні полярограми продуктів окиснення Бен та Нов. Полярограми реєстрували на ділянці потенціалів від 0 до -1,5 В. Анодних піків нема, що свідчить про повністю необоротний процес [13].

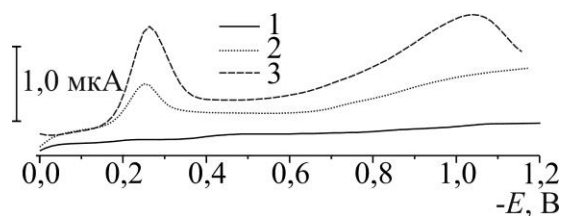


Рис. 3.17. Полярограми на фоні фосфатного буферу за наявності у розчині КПМС, що не містить Бен чи Нов (1), а також у розчині після окиснення Бен (2) та Нов (3). $C_{\text{Бен}} = C_{\text{Нов}} = 5,0 \cdot 10^{-5} \text{ М}$, $C_{\text{КПМС}} = 1 \cdot 10^{-3} \text{ М}$, $\text{pH} = 4,0$, $C_{\text{буф}} = 0,2 \text{ М}$.

3.3.1. Вплив рН на полярографічне відновлення продуктів окиснення бензокаїну та новокаїну

Аміни окиснюються Оксоном в лужному середовищі. Підкислення реакційної суміші зупиняє процес окиснення. Оптимальне рН ($\text{pH}_{\text{окс}}$) для окиснення Бен та Нов від 8,7 до 9,3. Як фонові електроліти досліджували боратний, фосфатний, карбонатний і універсальний буферні розчини [13]. Природа фонового електроліту незначно впливає на струм і потенціал відновлення дериватів Бен і Нов. Для подальших експериментів як фоновий електроліт обрали фосфатний буфер.

Вигляд полярограм продуктів окиснення Бен і Нов істотно залежить від рН полярографованого розчину ($\text{pH}_{\text{пол}}$) (рис. 3.18-3.19). За $\text{pH} < 4,5$ продукти окиснення Нов відновлюються з утворенням двох піків: -0,13 – -0,3 В (перший пік П1) і приблизно -1,15 В (другий пік, П2) (рис. 3.18). 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 рН простежувався один пік П1 (рис. 3.19). За $\text{pH} > 8$ цей пік поділяється аналогічно, як і піки відновлення деривату Нов. Піку, який відповідає П2 для Нов, не спостерігали на полярограмах деривату Бен.

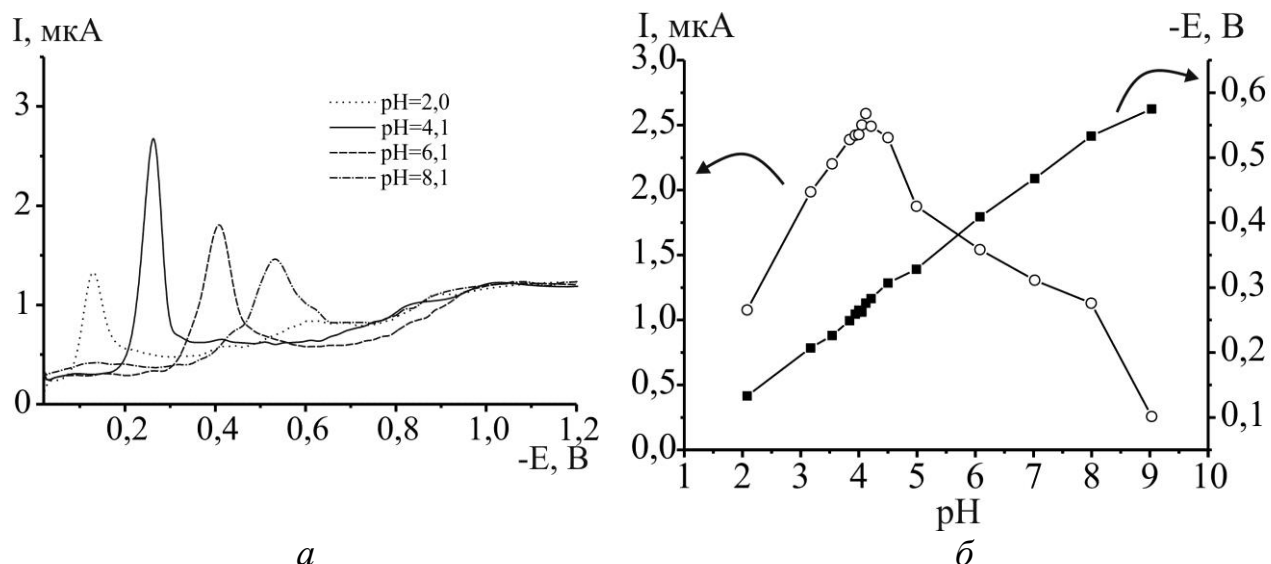


Рис. 3.18. Вигляд катодних полярограм (а) та залежність струму і потенціалу ПІ (б) від $\text{pH}_{\text{пол}}$ деривату Бен на фоні фосфатного буферу, $C_{\text{Бен}} = 5,0 \cdot 10^{-5}$ М, $C_{\text{КПМС}} = 10^{-3}$ М, $C_{\text{буф}} = 0,2$ М.

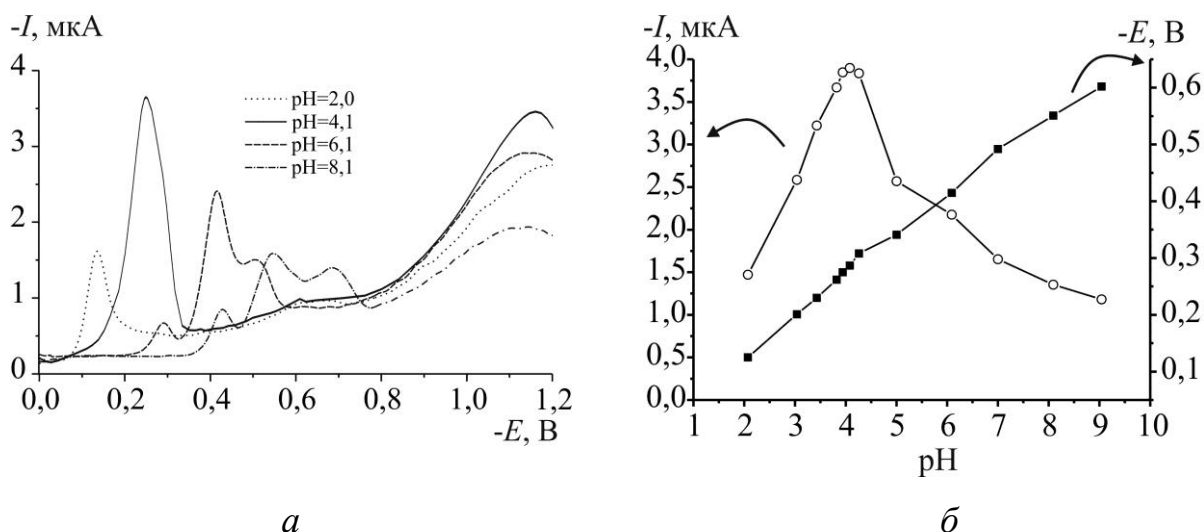


Рис. 3.19. Вигляд катодних полярограм (а) та залежність струму і потенціалу ПІ (б) від $\text{pH}_{\text{пол}}$ деривату Нов на фоні фосфатного буферу, $C_{\text{Нов}} = 5,0 \cdot 10^{-5}$ М, $C_{\text{КПМС}} = 10^{-3}$ М, $C_{\text{буф}} = 0,2$ М.

Максимальне значення струму для ПІ дериватів Бен і Нов простежується за $\text{pH } 4,0$, тому подальші дослідження виконували за цього pH .

Зі збільшенням pH процес відновлення утруднюється – потенціали усіх піків відповідних дериватів Бен і Нов зміщуються в негативну ділянку. Це свідчить про участь іонів H^+ в електрохімічній стадії. Встановлено, що залежність $-E(\text{В})$ від

$pH_{пол}$ є лінійною в усьому дослідженому діапазоні pH , однак за $pH > 4,5$ кут нахилу залежності для П1 дещо змінюється. Отримані залежності описуються рівняннями, наведеними в табл. 3.8. Для дериватів обох АН співвідношення кількості протонів до електронів m_{H^+}/n , які беруть участь у електрохімічній реакції, є дробовим. Це вказує на те, що в стадіях відновлення дериватів Бен і Нов бере участь не однакова кількість електронів і протонів.

Таблиця 3.8

Рівняння лінійної залежності $E=f(pH)$; умови див. рис. 3.18-3.19

АН	Пік	Межі $pH_{пол}$, для яких обчислено рівняння прямої	Рівняння прямої	R	$\frac{m_{H^+}}{n}$
Нов	П1	2,1-4,3	$E=(-0,047 \pm 0,007) + (0,082 \pm 0,002) \cdot pH$	0,9984	0,70
		5,0-9,1	$E=(0,021 \pm 0,002) + (0,065 \pm 0,003) \cdot pH$	0,9961	0,55
	П3	5,0-8,1	$E=(-0,16 \pm 0,02) + (0,069 \pm 0,003) \cdot pH$	0,9971	0,58
	П4	5,0-8,1	$E=(0,011 \pm 0,020) + (0,078 \pm 0,003) \cdot pH$	0,9977	0,66
Бен	П1	2,0-4,5	$E=(-0,018 \pm 0,009) + (0,071 \pm 0,002) \cdot pH$	0,9957	0,60
		5,0-9,0	$E=(0,03 \pm 0,03) + (0,062 \pm 0,004) \cdot pH$	0,9951	0,53

За значеннями потенціалів піку E_p та півпіку $E_{p/2}$ можна обчислити кількість електронів, які беруть участь у електрохімічній реакції відповідно до рівняння (2.3). Результати усіх розрахунків щодо кількості протонів m_{H^+} і електронів n наведено далі в табл. 3.21.

3.3.2. Вплив тривалості окиснення, співвідношення концентрації реагентів і нагрівання розчинів на полярографічне відновлення дериватів бензокаїну та новокаїну

Реакція окиснення Бен і Нов Оксоном за кімнатної температури відбувається повільно. Максимальний полярографічний струм досягається після 60 хв окиснення, що є надто тривалим. На швидкість реакції окиснення впливає нагрівання розчину. Тому всі дослідження проводили нагріваючи розчини під час окиснення. Розчини всіх реагентів (фосфатний буфер з pH 9, анестетик і КПМС) змішували у потрібному співвідношенні у склянці, склянку занурювали у розігріту

водяну баню до встановлення відповідної температури, яку додатково контролювали термометром. Після встановлення відповідної температури додавали фосфатну кислоту до рН 4 і охолоджували до кімнатної температури. Після охолодження розчину рН додатково контролювали рН-метром.

Для продукту окиснення Бен оптимальна температура нагрівання 40-60 °С (рис. 3.20а), а для продукту окиснення Нов (рис. 3.20б) – в межах 70-95 °С. Всі подальші дослідження виконували в цих температурних інтервалах.

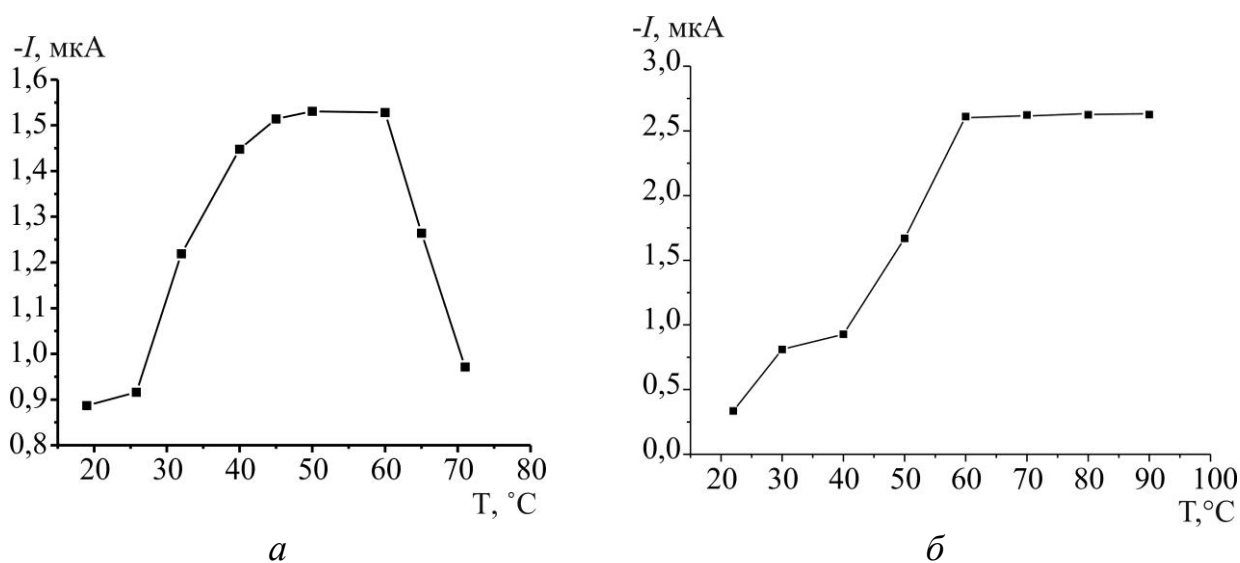


Рис. 3.20. Вплив температури розчину під час окиснення (впродовж 10 хв) на вихід продукту окиснення Бен (а) та Нов (б) (за результатами вимірювання струму П1), $C_{\text{Бен}} = C_{\text{Нов}} = 5,0 \cdot 10^{-5} \text{ М}$, $C_{\text{КПМС}} = 1 \cdot 10^{-3} \text{ М}$, $C_{\text{буф}} = 0,2 \text{ М}$ рН=4,0.

Важливим чинником, який впливає на кількісний вихід відповідних продуктів окиснення, є тривалість окиснення [13]. Дослідження показали, що окиснення Бен і Нов повинно тривати не менше 10 хв, після 10 хв кількість продукту не змінюється, тому надалі окислювали ці анестетики впродовж 10-12 хв (рис. 3.21а).

Також дослідили вплив надлишку КПМС на відновлення дериватів Бен і Нов у межах від 2- до 200-кратного надлишку КПМС. На рис. 3.21б показано лише фрагмент залежності. Як видно з цього рис., для максимального виходу дериватів Бен і Нов потрібно 5-кратний надлишок КПМС. З використанням понад 5-кратного надлишку КПМС полярографічні характеристики відновлення дериватів Бен і Нов майже не змінюються. Отже, для максимального виходу продукту треба

забезпечити щонайменше 5-кратний надлишок КПМС. Проте, бажано, щоб концентрація КПМС у розчині не перевищувала 10^{-3} моль/л, оскільки через відновлення КПМС збільшується залишковий струм і дещо спотворюється фонові лінії полярограми.

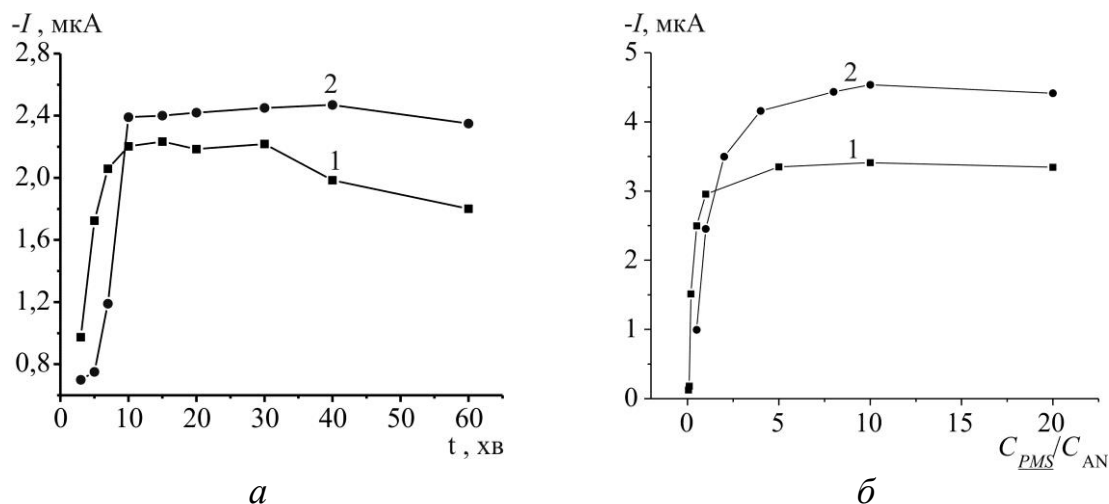


Рис. 3.21. Залежність струму піку відновлення ПІ похідного Бен (1) та Нов (2) від тривалості окиснення (а) та від молярного надлишку КПМС (б), $C_{\text{Бен}} = C_{\text{Нов}} = 5,0 \cdot 10^{-5}$ М, $C_{\text{КПМС}} = 10^{-3}$ М $\text{pH}_{\text{пол}} = 4,0$.

Зауважимо, що за різних умов окиснення завжди одержували безбарвні продукти окиснення бензокаїну та новокаїну.

3.3.3. Вплив швидкості розгортки напруги поляризації

Потенціал піків відновлення дериватів Бен і Нов зсувається в катодну ділянку зі збільшенням швидкості розгортки V , а висота піків збільшується. Це свідчить про необоротний процес відновлення (рис. 3.22). Відповідно до рівняння Рендлса-Шевчика (рівняння (2.1)) для необоротних реакцій лінійна зміна струму із зміною $V^{1/2}$ (рис. 3.22) свідчить про дифузійно-контрольований електрохімічний процес. Залежність логарифму струму піків відновлення від логарифму швидкості розгортки напруги поляризації (рис. 3.22, табл. 3.20) також є лінійною.

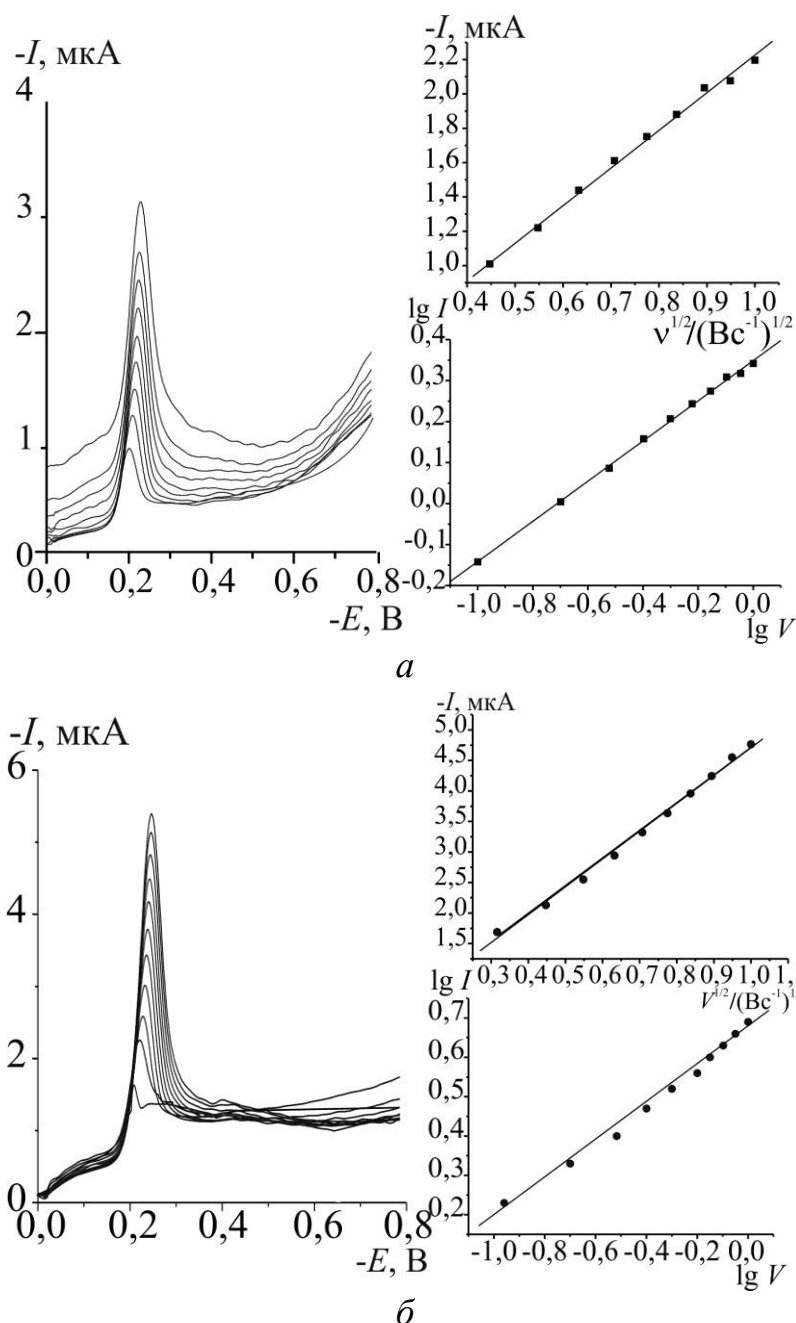


Рис. 3.22. Полярограми у розчинах $5,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л Бен (а) та Нов (б) для швидкості напруги поляризації V від 0,1 до 1,0 В/с; $C_{\text{КПМС}} = 1 \cdot 10^{-3}$ моль/л, $\text{pH}_{\text{пол}} = 4,0$. Вставки: залежності I , мкА від $V^{1/2}$ та $\lg I$ від $\lg V$.

Для Нов за $\text{pH} < 5$ тангенс кута нахилу логарифмічної залежності (критерій Семерано) для П1 становить 0,50, що свідчить про дифузійну природу струму. За $\text{pH} 7,5$ для трьох піків П1, П3 і П4 тангенс кута нахилу прямує до 1, що свідчить про адсорбцію (табл. 3.20).

Таблиця 3.20

Значення критерію Семерано ($\Delta \lg I / \lg V$) для процесу відновлення дериватів Бен та Нов за різних умов. $C(\text{КПМС}) = 1 \cdot 10^{-3}$ моль/л; V змінювали від 0,1 до 1,0 В/с.

АН	$C_{\text{АН}}, \text{М}$	Пік	pH	$\Delta(\lg I / \lg V)$
Бен	$5,0 \cdot 10^{-5}$	П1	4,0	0,54
			5,0	0,53
			7,5	0,41
	$1,0 \cdot 10^{-5}$	П1	4,0	0,50
			7,5	0,33
Нов	$5,0 \cdot 10^{-5}$	П1	4,0	0,50
		П2	4,0	0,53
	$1,0 \cdot 10^{-5}$	П1	4,0	0,50
	$5,0 \cdot 10^{-5}$	П1	6,1	0,76
		П3		0,85
		П4		0,89
	$5,0 \cdot 10^{-5}$	П1	7,5	0,90
		П2		0,63
		П3		0,93
		П4		0,94

Для Бен $\Delta \lg I / \lg V$ набуває значень від 0,33 до 0,54 за різних умов, що вказує на дифузійну природу струму з незначними кінетичними утрудненнями, які посилюються із збільшенням pH розчину.

Із залежності $E_{\text{п}} = f(\lg V)$ можна обчислити кількість електронів (Розділ 2). Результати обчислення двома способами узгоджуються (табл. 3.21).

Таблиця 3.21

Результати обчислення кількості електронів (n) та іонів H^+ (m_{H^+}), які беруть участь у електрохімічному процесі відновлення на р.к.е. дериватів Бен та Нов,

$$C_{\text{Бен}} = C_{\text{Нов}} = 5,0 \cdot 10^{-5} \text{ М}, C_{\text{КПМС}} = 1 \cdot 10^{-3} \text{ моль/л}$$

АН	pH	Пік	n		m_{H^+}
			За рівн. (2.3)	За $E_{\text{п}} = f(\lg V)$	
Нов	4,0	П1	4	4	3
	6,1	П1	2	—	1
		П3	3	—	3
		П4	2	—	1
Бен	4,0	П1	4	4	3
	7,5	П1	2	2	1

3.3.4. Метрологічні параметри полярографічного визначення Бен та Нов з використанням Оксону

На підставі виконаних досліджень визначили оптимальні умови полярографічного визначення Бен і Нов у формі їхніх продуктів окиснення, одержаних за допомогою КПМС (табл. 3.22.).

Таблиця 3.22

Оптимальні умови окиснення Бен і Нов за допомогою Оксону і подальшого відновлення на р.к.е. одержаних дериватів цих АН

Умови	Бен	Нов
	одержання продуктів окиснення (дериватів)	
Фосфатний буферний розчин, $C_{\text{заг}} = 0,2 \text{ М}$	pH 8,5-9,5	
Максимальна концентрація КПМС, моль/л	$1 \cdot 10^{-3}$	
Мінімальний молярний надлишок окисника	п'ятикратний	
Температура розчину під час окислення АН, °С	45-55	65-80
Тривалість окиснення, хв	10-12	
одержання полярограм		
pH, за якого доцільно одержувати полярограми	4,0	4,0
Діапазон розгортки потенціалу, В	0 – -1	
Швидкість розгортки потенціалу, В/с	0,5 – 1	
Потенціал $-E$, В, за якого вимірювали струм I	0,24	0,28

Методика одержання розчинів для градуювання. У мірні колби на 25,0 мл послідовно вносили аліквоти стандартного $1,0 \cdot 10^{-3} \text{ М}$ розчину АН, для одержання розчину заданої концентрації від $1,0 \cdot 10^{-6} \text{ М}$ до $5,0 \cdot 10^{-5} \text{ М}$, у кожену колбу додавали по 2 мл фосфатного буферного розчину з рН 9,0 і $C_{\text{заг}} = 1,25 \text{ М}$, по 4 мл КПМС з $C = 6,1 \cdot 10^{-2} \text{ моль/л}$ при перемішуванні. Суміш витримували 10-12 хв в електричній

водяній бані за температури, зазначеної у табл. 3.22. Далі додавали краплями розчин H_3PO_4 з $C=2,5 \text{ М}$ до досягнення рН 4,0 (приблизно 1,1-1,2 мл) та доводили об'єм дистильованою водою до позначки. Переносили розчин до електролітичної комірки та одержували полярограми в інтервалі потенціалів від 0 до -1,0 В.

Полярограми, одержані у розчинах для градування, і градувальні графіки зображено на рис. 3.23, а метрологічні характеристики полярографічного визначення Бен та Нов з використанням Оксону – у табл. 3.23.

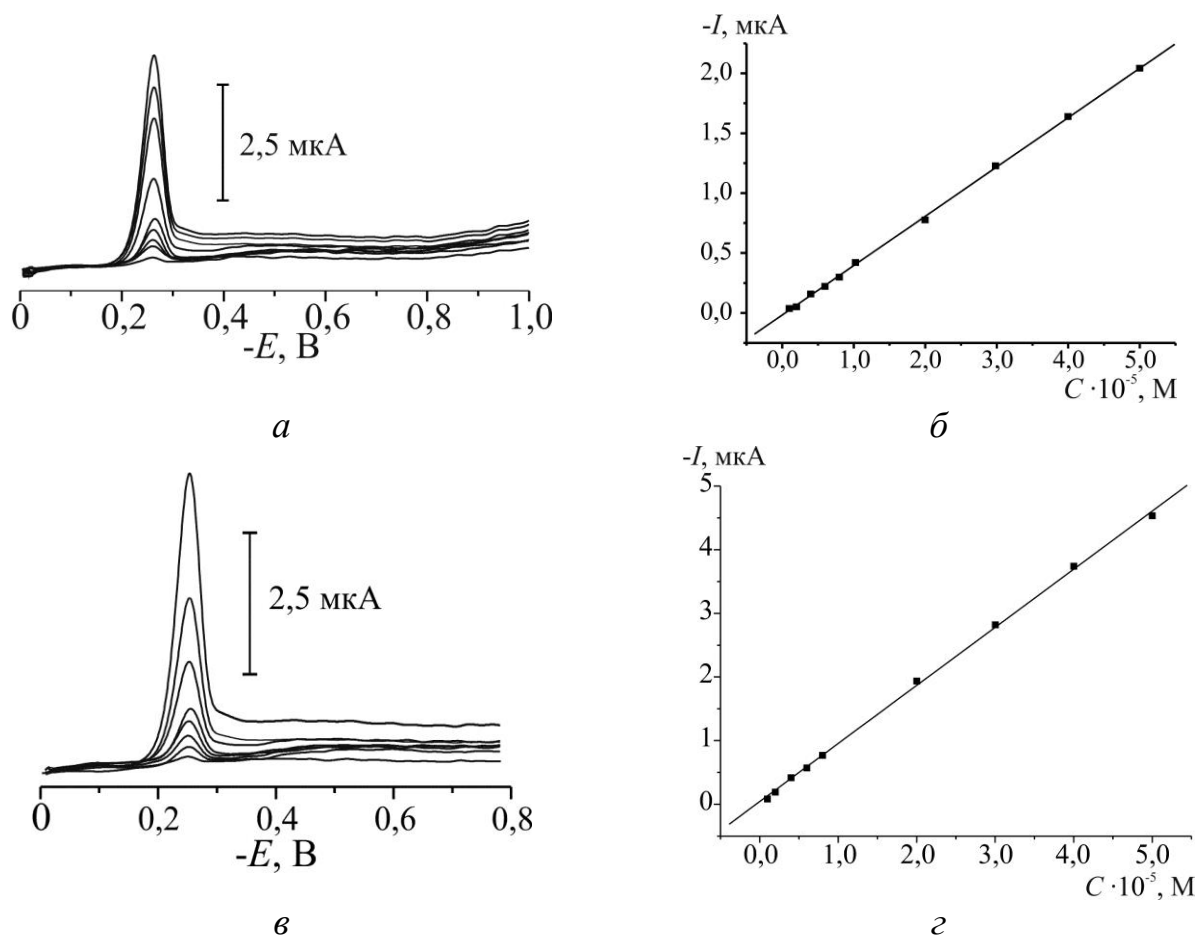


Рис. 3.23. Вигляд катодних полярограм (а, в) і градувальні графіки (б, г) полярографічного визначення Бен (а, б) та Нов (в, г). Умови – див табл. 3.22.

Таблиця 3.23

Метрологічні характеристики полярографічного визначення Бен та Нов.

Умови – див табл. 3.22

Параметри		Бен	Нов
Межі лінійності, моль/л		$1 \cdot 10^{-6} - 5 \cdot 10^{-5}$	$1 \cdot 10^{-6} - 5 \cdot 10^{-5}$
b , мкА моль ⁻¹ л		$4,1 \cdot 10^4$	$9,1 \cdot 10^4$
a , мкА		$1,7 \cdot 10^{-2}$	$4,2 \cdot 10^{-2}$
Коефіцієнт кореляції, R		0,9996	0,9996
RSD (%)		2,12	1,13
Межа кількісного визначення (LOQ)	моль/л	$1,8 \cdot 10^{-6}$	$1,9 \cdot 10^{-6}$
	ppm	0,297	0,448
Межа виявлення (LOD)	моль/л	$5,6 \cdot 10^{-7}$	$6,0 \cdot 10^{-7}$
	ppm	0,092	0,142

Висновки до розділу 3.3

Наявність первинної аміногрупи у молекулі Бен і Нов зумовлює подібність процесів їхнього окиснення калій пероксимоносульфатом та відновлення на р.к.е. відповідних дериватів. Максимальний вихід продуктів окиснення Бен і Нов простежується за рН 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 рН 3,8 – 4,5.

Оптимальні умови окиснення: не менше, ніж п'ятикратний надлишок КПМС, тривалість окиснення не менше, ніж 10 хв за температури розчину для Бен 45-55 °С і 75-85 °С для Нов. 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.

Полярограми похідних Бен і Нов за однакових умов мають дуже подібний вигляд, а зміна різних чинників (рН, надлишок окисника тощо) впливає на них аналогічно. Це вказує на участь однакових функціональних груп в електрохімічних

реакціях, а також на однаковий механізм перетворення [13]. Спільною (однаковою) групою для Бен і Нов, здатною до окиснення, є первинна аміногрупа.

У разі окиснення Бен і Нов за кімнатної температури з використанням надлишку окисника пік П1 з'являється на полярограмах після окиснення впродовж 60 хв. 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 [14].

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 [15-17]. В іншому разі аміногрупа окиснюється до нітрозосполуки, а на електроді відбувається відновлення знову до аміногрупи. В лужному середовищі відновлення відбувається поетапно, 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 [16] Нов, за аналогією до інших АН групи амідів (Лд, Тр, Меп і Буп) [5]. Однак, ми не використовували цього піку в подальших експериментах.

Для детального з'ясування механізму окиснення Бен і Нов було б доцільним використання спектрального аналізу (ЯМР або мас-спектрометрії) продуктів окиснення АН, а також кулонометрії для дослідження відновлення відповідних дериватів.

За оптимальних умов окиснення АН і 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 залежність I , мкА від C , моль/л для кількісного визначення АН. Межа визначення АН становить орієнтовно $2 \cdot 10^{-6}$ моль/л, що майже на два порядки

менше від відомих титриметричних чи спектрофотометричних методик і може конкурувати з деякими хроматографічними.

3.4. Окиснення бензокаїну на електродах, модифікованих композитами на основі поліаніліну

У літературі наявно багато робіт, присвячених вивченню відгуку на різні аналіти електродів, модифікованих електропровідними полімерами (Розділ 1, п. 1.3), зокрема поліаніліном (пАн) [19, 20]. Оскільки Бен можна розглядати як *пара*-заміщене похідне аніліну, очікували цікавих ефектів з використанням електродів, модифікованих композитами на основі пАн. Дослідили можливість використання для визначення Бен графітового електрода, модифікованого композитами поліанілін – багатошарові вуглецеві нанотрубки (пАн-ВНТ), пАн-ВНТ-Pt, а також графітового електрода, покритого платиновою черню і плівкою співполімеру поліаніліну з Бен (Pt-пАн-Бен). Синтез композитів і їх нанесення на поверхню графітового електрода описано у Розділі 2 п. 2.2.1. Методом ЦВА дослідили поведінку композитних електродів у розчинах за відсутності та за наявності Бен. На рис. 3.24 зображено цикли, для яких вигляд ЦВА-кривих повністю стабілізувався.

На ЦВА кривих для композиту пАн-ВНТ (рис. 3.24а) не простежується піків, які б відповідали процесам відновлення чи окиснення Бен. На ЦВА кривих для композиту пАн-ВНТ-Pt (рис. 3.24б) також не простежується піків, які б відповідали процесам перетворення Бен на електроді. Однак, додавання Бен призводило до зменшення струмів майже у всьому діапазоні потенціалів. Причиною цього може бути адсорбція Бен на поверхні електрода, що призводить до зменшення ємності подвійного електричного шару (і, відповідно, зменшення струмів заряджання) та утруднення перебігу електрохімічних процесів за участю інших частинок. У кислому середовищі внаслідок додавання Бен струми зменшуються у вужчому діапазоні потенціалів. Крім того, виникають піки в межах потенціалів 1,20–1,45 В, які відповідають редокс процесам Бен. Тому дослідили хроноамперометричний

відклик на додані кількості Бен за 1,20 В і 1,45 В, однак, відклик на додані кількості Бен нечіткий та нестабільний (рис. 3.25).

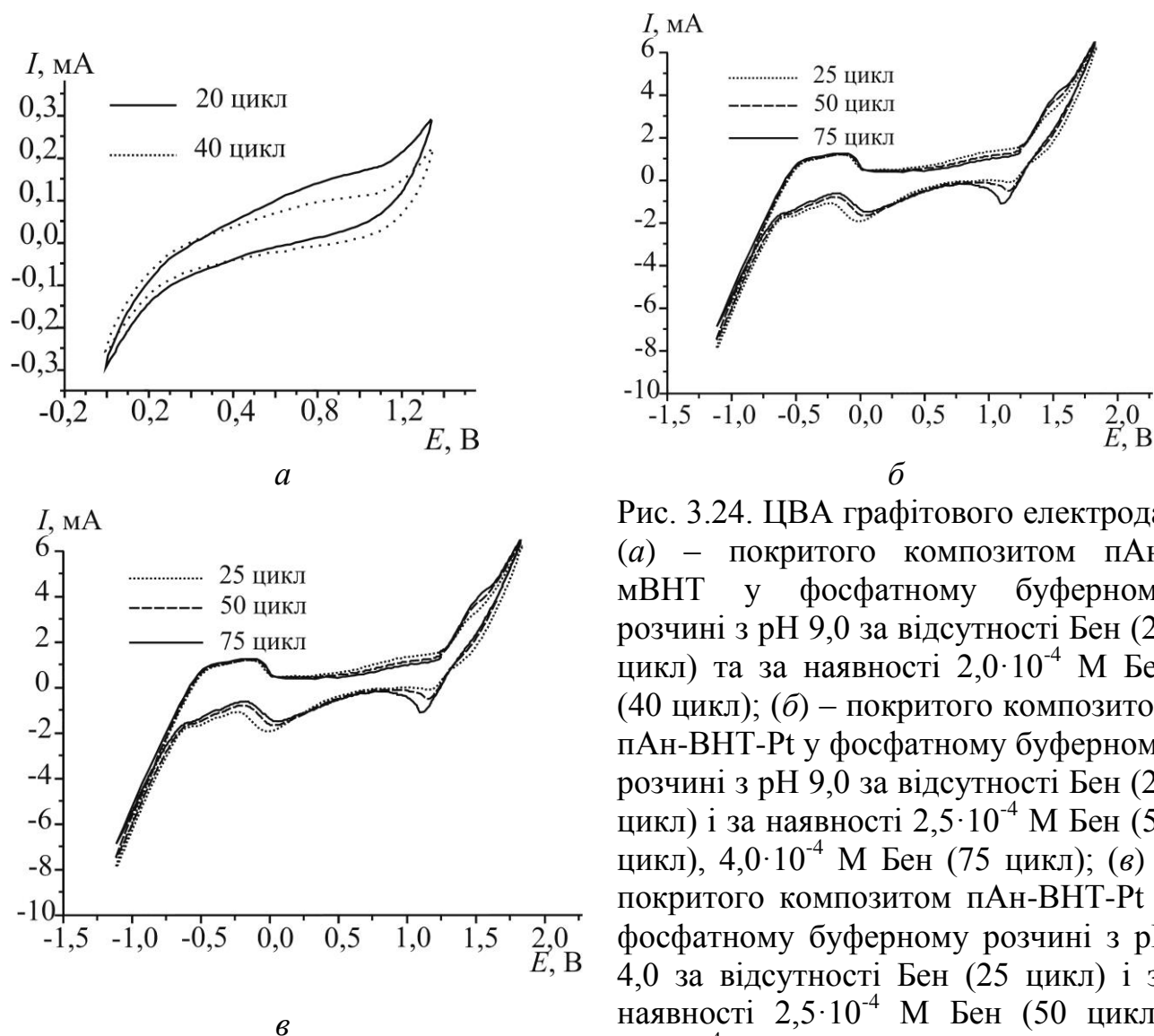


Рис. 3.24. ЦВА графітового електрода: (а) – покритого композитом пАН-мВНТ у фосфатному буферному розчині з рН 9,0 за відсутності Бен (20 цикл) та за наявності $2,0 \cdot 10^{-4}$ М Бен (40 цикл); (б) – покритого композитом пАН-ВНТ-Pt у фосфатному буферному розчині з рН 9,0 за відсутності Бен (25 цикл) і за наявності $2,5 \cdot 10^{-4}$ М Бен (50 цикл), $4,0 \cdot 10^{-4}$ М Бен (75 цикл); (в) – покритого композитом пАН-ВНТ-Pt у фосфатному буферному розчині з рН 4,0 за відсутності Бен (25 цикл) і за наявності $2,5 \cdot 10^{-4}$ М Бен (50 цикл), $4,0 \cdot 10^{-4}$ М Бен (75 цикл).

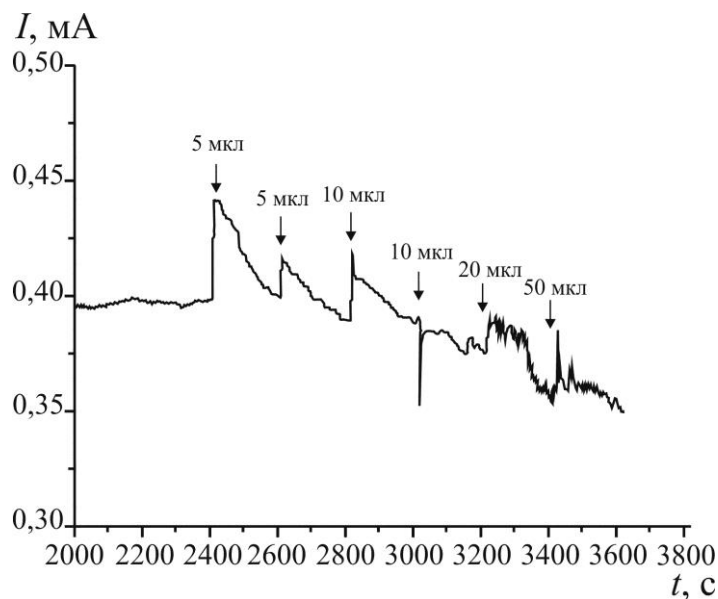


Рис. 3.25. Відклик графітового електрода, покритого композитом пАН-ВНТ-Рт, у фосфатному буферному розчині з рН 4,0 на додані кількості стандартного розчину Бен з $C_{\text{Бен}} = 1,0 \cdot 10^{-3}$ М за потенціалу електрода 1,45 В.

Вигляд ЦВА кривих електрода, модифікованого композитом Рт-пАН-Бен (рис. 3.26) дещо схожий до кривих для пАН-ВНТ-Рт (рис. 3.24): внаслідок додавання до розчину Бен в широкому діапазоні потенціалів простежується зменшення струмів, а також виникають піки в межах потенціалів 1,20-1,45 В.

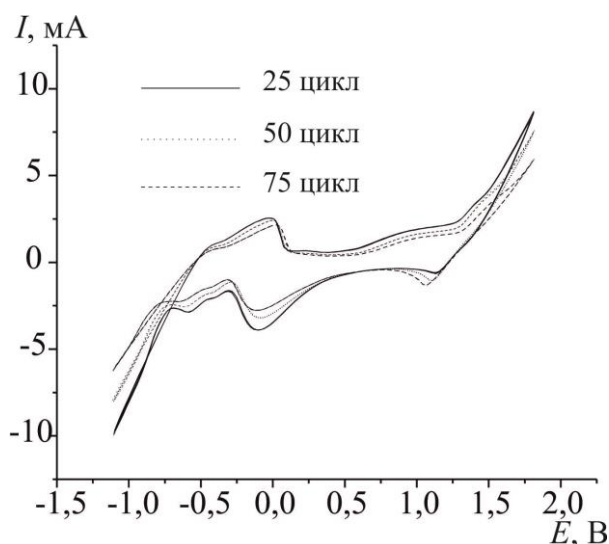


Рис. 3.26. ЦВА криві електрода, модифікованого Рт-пАН-Бен у фосфатному буферному розчині з рН 4,0 за відсутності Бен (25 цикл) і за наявності $2,5 \cdot 10^{-4}$ М Бен (50 цикл), $4,0 \cdot 10^{-4}$ М Бен (75 цикл).

Методом хроноамперометрії дослідили відклик електрода Pt-пАн-Бен на додані кількості Бен (рис. 3.27). Відклик не надто стабільний, лінійну залежність струму від концентрації Бен у розчині простежували у межах від $1,6 \cdot 10^{-4}$ до $1,2 \cdot 10^{-3}$ моль/л. Рівняння прямої градувального графіка $I = (37,8 \pm 0,6) + (1,18 \pm 0,08) \cdot 10^4 \cdot C_{\text{Бен}}$, коефіцієнт кореляції $R = 0,9937$. При подальшому збільшенні концентрації струми відклику зменшувалися, очевидно внаслідок блокування поверхні продуктами окиснення.

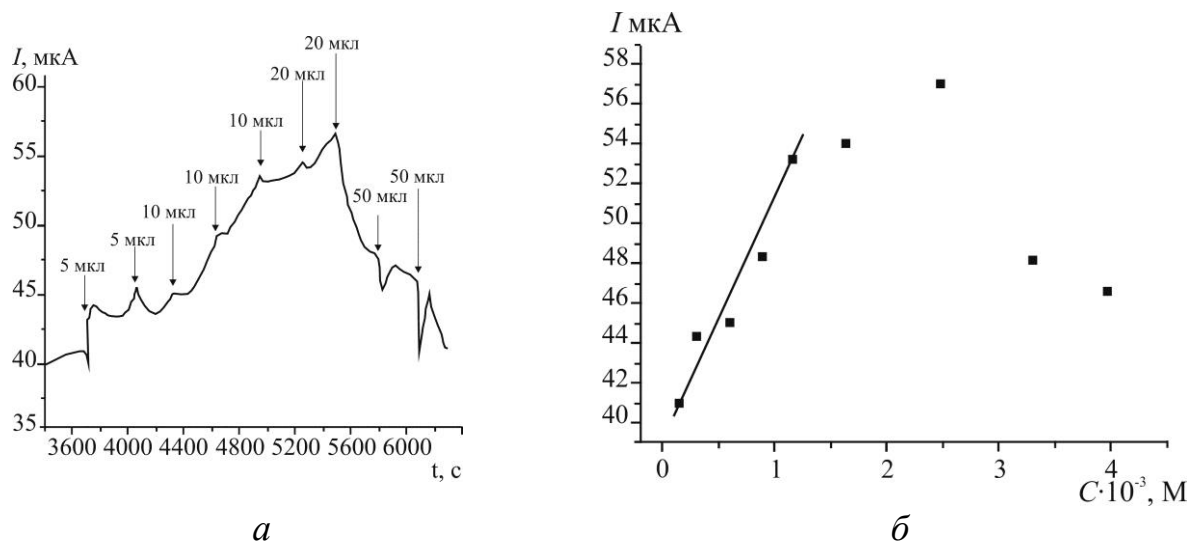


Рис. 3.27. Відклик графітового електрода (а), покритого композитом Pt-пАн-Бен, у фосфатному буферному розчині з рН 4,0 на додані кількості стандартного розчину Бен з $C_{\text{Бен}} = 1,0 \cdot 10^{-3}$ моль/л, та залежність струму від концентрації Бен (б) за потенціалу електрода 1,45 В.

Виготовлення модифікованого Pt-пАн-Бен електрода тривале і затратне, межі лінійного відклику електрода від концентрації Бен порівняно вузькі, 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.

3.5. Окиснення бензокаїну на алмазному, допованому бором, електроді

Для алмазних, допованих бором, електродів (АДБЕ) характерно багато переваг: широкий робочий діапазон потенціалів, стійкість у лужному і в кислому середовищі, слабка адсорбція речовин на поверхні, низькі фонові струми. Ми використали у роботі дешевий і портативний мініатюрний товстоплівковий АДБЕ, який не позбавлений переваг стаціонарних алмазних електродів [21].

3.5.1. Вплив рН та природи фонового електроліту на окиснення бензокаїну на АДБЕ

В межах потенціалів від -1,5 до +1,5 В в інтервалі рН від 2,0 до 12,0 на вольтамперограмі АДБЕ зареєстровано один пік окиснення Бен (рис. 3.28), піків відновлення не простежується, що свідчить про повністю необоротне перетворення Бен на алмазному електроді.

Природа фонового електроліту визначає структуру подвійного електричного шару і, як наслідок, вольтамперометричні характеристики: форму піку окиснення, його висоту і потенціал, а також фоновий струм. Як фонові електроліти досліджували фосфатний, ацетатний та універсальний буферні розчини, хлоридну кислоту і натрій гідроксид різних концентрацій. Найліпших результатів досягнуто за допомогою УБС, на фоні якого було зафіксовано найвищі і добре сформовані піки окиснення Бен, а також найнижчий фоновий струм. На фоні фосфатного буферного розчину струм окиснення Бен у два рази менший, ніж на фоні УБС. На фоні ацетатного буфера чи натрій гідроксиду (0,01 – 2 моль/л) простежували більші значення фонового струму і спотворення піків окиснення Бен у порівнянні з буфером БР. Тому для подальших досліджень як фоновий електроліт обрали БР буфер.

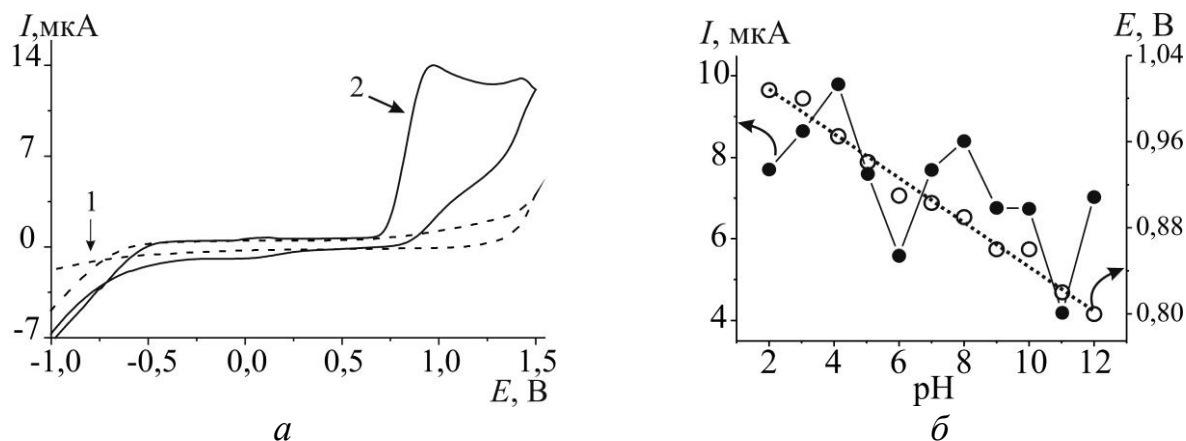


Рис. 3.28. Вольтамперограми (а) на фоні БР буфера з рН 4,0 (1), а також за наявності Бен (2), та залежність струму та потенціалу окиснення Бен на АДБЕ від рН (б) на фоні фоні БР буфера; $C_{\text{Бен}} = 5,0 \cdot 10^{-4} \text{ М}$, $C_{\text{буф.}} \sim 0,4 \text{ М}$, $V = 0,1 \text{ В/с}$.

Залежності струму і потенціалу окиснення Бен від рН на фоні УБС зображено на рис. 3.28. Найбільші значення струму реєстрували за рН 4,0, тому це значення рН обрали для всіх подальших експериментів. Залежність $E(\text{В})$ від рН є лінійною в усьому діапазоні рН й описується рівнянням $E = (1,05 \pm 0,04) - (0,025 \pm 0,007) \cdot \text{pH}$ з $R = 0,9816$.

Отже, в електрохімічній реакції беруть участь іони H^+ . Значення параметра b рівняння дає змогу оцінити, що на електроді, очевидно, відбувається процес за участю одного H^+ і двох електронів (за рівняннями (2.2) і (2.3)).

3.5.2 Вплив швидкості розгортки напруги поляризації

Потенціал піків окиснення Бен зсувається до більших значень зі збільшенням швидкості розгортки V . Це підтверджує необоротний процес окиснення Бен на АДБЕ. Значення потенціалу піку лінійно залежить від $\lg V$:

$$E_p = (-0,002 \pm 0,003) + (0,053 \pm 0,002) \cdot \lg V \quad \text{з} \quad R = 0,9883.$$

Зі значення параметра b , враховуючи, що для повністю необоротної системи $\alpha = 0,5$ (Розділ 2), розраховано, що кількість електронів, які беруть участь у електродній реакції Бен на АДБЕ, становить приблизно 2.

Відповідно до рівняння Рендлса-Шевчика (рівняння (2.1)) для необоротних реакцій лінійна зміна струму із зміною $V^{1/2}$ (рис. 3.30) свідчить про дифузійно-

контрольований електрохімічний процес. Крім того, невелике значення параметра a у рівнянні прямої залежності $I_p = f(V^{1/2})$ свідчить про незначний вклад адсорбції:

$$I_p = (0,39 \pm 0,42) + (22 \pm 1) \cdot V^{1/2} \quad R = 0,9858.$$

Залежність логарифму струму піків відновлення від логарифму швидкості розгортки напруги поляризації (рис. 3.30) також є лінійною зі значенням тангенсу кута нахилу (критерію Семерано) $b = \Delta \lg I / \Delta \lg V = 0,47$ близького до теоретичного значення 0,5, що додатково підтверджує дифузійно-контрольований процес:

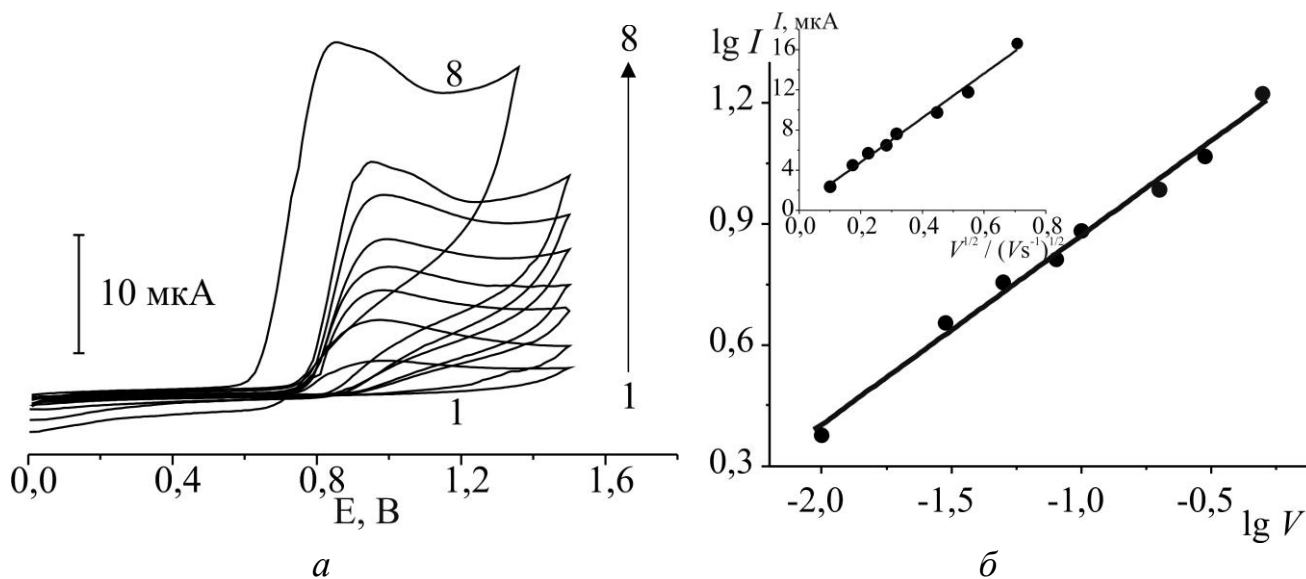
$$\lg I_p = (1,34 \pm 0,02) + (0,47 \pm 0,02) \cdot \lg V \quad R = 0,9888.$$


Рис. 3.30. Вигляд анодних вольтамперограм АДБЕ у розчині Бен на фоні БР буфера з рН 4,0 за різних значень швидкості сканування від 10 до 500 мВ/с (1-8) (а) і залежності (б) $\lg I$ від $\lg V$ та I від $V^{1/2}$ (вставка). $C_{\text{Бен}} = 5,0 \cdot 10^{-4}$ М, $C_{\text{буф}} \sim 0,4$ М.

3.5.3. Оптимізація інструментальних параметрів визначення Бен за окисненням на АДБЕ методами диференційно-імпульсної і квадратно-хвильової вольтамперометрії

Оптимізували робочі параметри ДІВ (амплітуда і тривалість імпульсу) і КХВ (амплітуда і частота) для отримання найвищого струму окиснення Бен, забезпечуючи таким чином високу інструментальну чутливість і якомога меншу межу визначення АН. Під час дослідження один параметр змінювали, а інший залишали постійним [21]. Результати експерименту подано на рис. 3.31.

Амплітуду імпульсів ΔE в методі ДІВ змінювали в діапазоні 10 – 200 мВ з постійною тривалістю імпульсу $t_{\text{ім}}=10$ мс і швидкістю лінійної розгортки $V=10$ мВ/с. Зі збільшенням ΔE струми в піку окиснення Бен збільшувалися (рис. 3.31а), однак водночас збільшувався фоновий струм. Як оптимальне значення, яке забезпечує найліпше співвідношення фарадеївського і фонового струмів, обрали амплітуду імпульсу $\Delta E = 50$ мВ. Вплив $t_{\text{ім}}$ на струм окиснення Бен досліджували в діапазоні від 10 до 45 мс (вставка на рис. 3.31а). Зі збільшенням тривалості імпульсу струм окиснення Бен зменшується, тому надалі обрали $t_{\text{ім}}=10$ мс.

Щодо КХВ, то як оптимальні робочі параметри обрали частоту 50 Гц, яка забезпечує порівняно високе значення струму окиснення Бен, але пік мало спотворюється, а також амплітуду $\Delta E = 50$ мВ (рис. 3.31б), для якої простежується найліпше співвідношення аналітичного і фонового струмів.

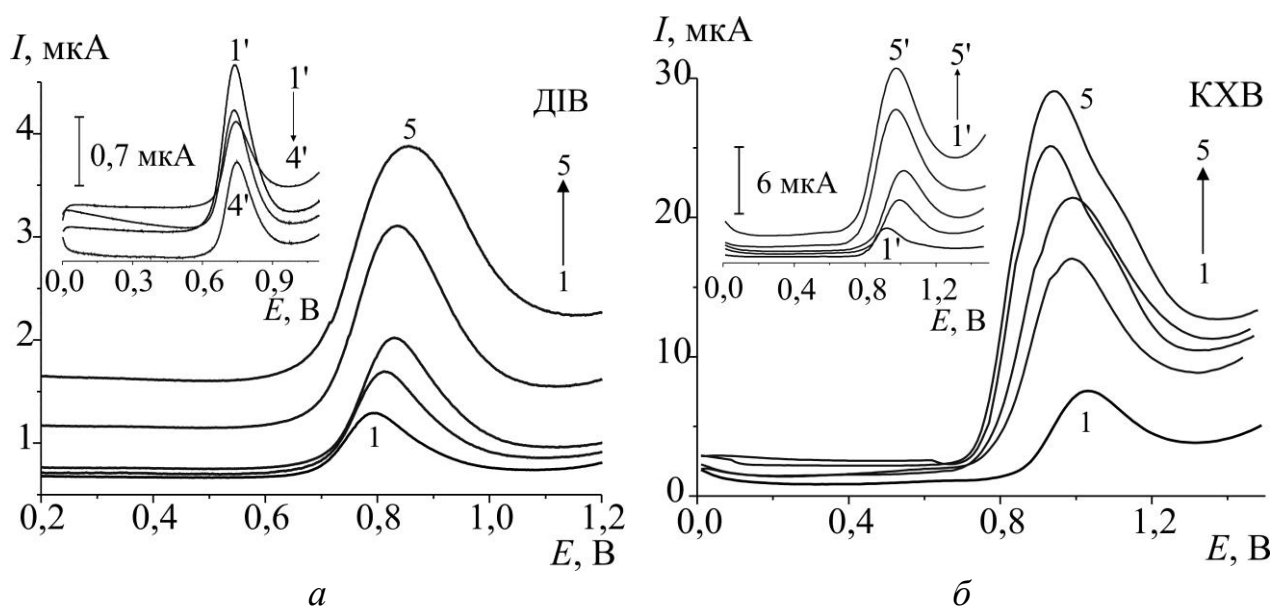


Рис. 3.31. Вигляд анодних вольтамперограм АДБЕ у розчині Бен з $C_{\text{Бен}} = 4,0 \cdot 10^{-5}$ М на фоні УБС з рН 4,0: (а) – одержаних методом ДІВ за різних значень амплітуди 1 – 10, 2 – 50, 3 – 80, 4 – 100, 5 – 200 мВ і різної тривалості імпульсу 1' – 10, 2' – 20, 3' – 30 і 4' – 45 мс (на вставці); (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).

3.5.4. Метрологічні параметри визначення Бен за струмами окиснення на АДБЕ методами диференційно-імпульсної і квадратно-хвильової вольтамперометрії

На підставі виконаних досліджень визначили оптимальні умови ВА визначення Бен на АДБЕ (табл. 3.24.).

Таблиця 3.24

Оптимальні умови ВА визначення Бен на АДБЕ

Умови	ДІВ	КХВ
Універсальний буферний розчин, $C_{\text{заг}} = 0,4 \text{ М}$	рН 4,0	
Діапазон розгортки потенціалу, В	0,2–1,2	
Швидкість накладання лінійної напруги поляризації V , мВ/с	10	–
Амплітуда імпульсу ΔE , мВ	50	50
Тривалість імпульсу $t_{\text{ім}}$, мс	10	–
Частота, Гц	–	50
Потенціал E , В, за якого вимірювали струм I	0,74 – 0,87	0,73 – 0,89

ВА криві, одержані у розчинах для градуювання методами ДІВ і КХВ, і градуювальні графіки зображено на рис. 3.32–3.33. Зі збільшенням концентрації Бен у розчині, потенціал піку окиснення Бен дещо зміщувався в анодний бік, а за концентрацій $C_{\text{Бен}} > 2,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л кут нахилу лінійної залежності I , мкА від $C_{\text{Бен}}$, моль/л зменшувався. На градуювальник графіках простежується два лінійних сегменти. Такі ефекти можуть бути спричинені блокуванням поверхні електроду аналітом та/або продуктами його окиснення. Струм вимірювали завжди у максимумі ВА кривої.

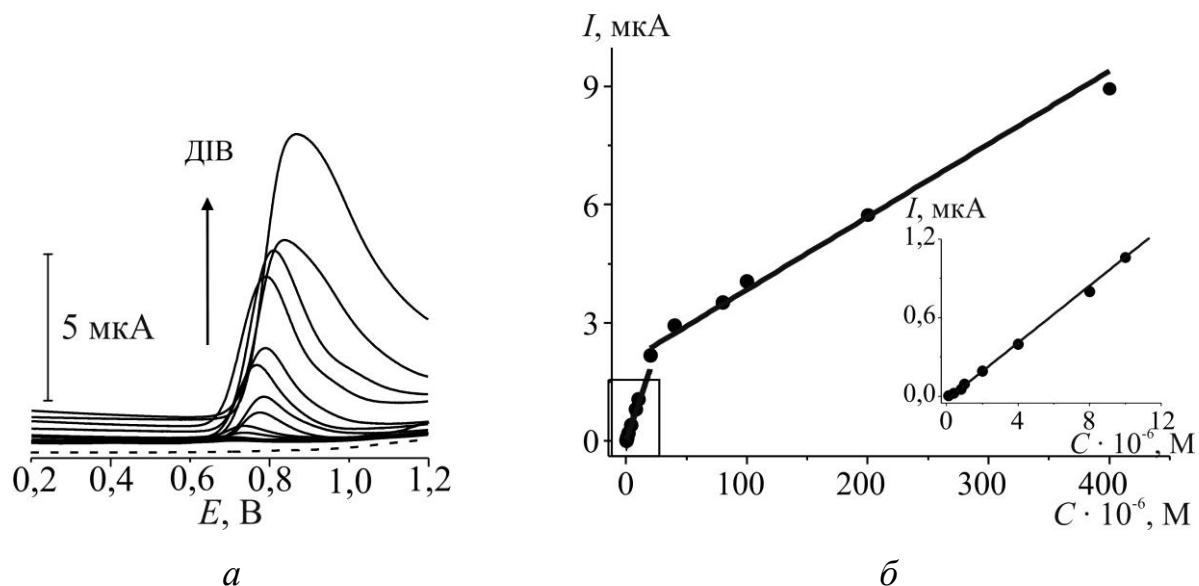


Рис. 3.32. Анодні вольтамперограми (а) і градувальні графіки (б) визначення Бен на АДБЕ, одержані методом ДІВ. Умови – див табл. 3.24.

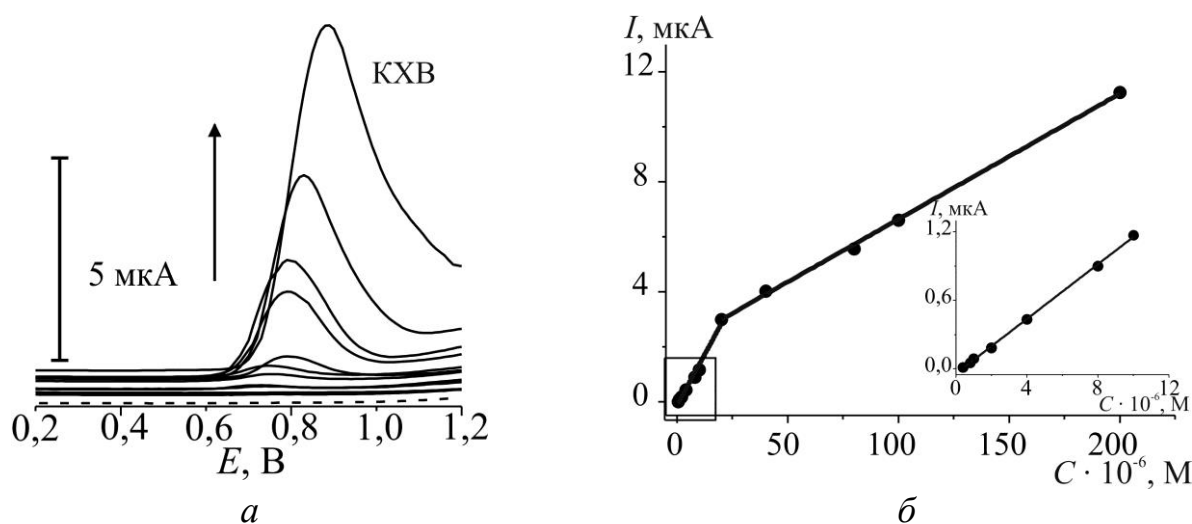


Рис. 3.33. Анодні вольтамперограми (а) і градувальні графіки (б) визначення Бен на АДБЕ, одержані методом КХВ. Умови – див табл. 3.24.

Метрологічні характеристики визначення Бен подано у табл. 3.25. Найнижчого значення межі виявлення ($8,0 \cdot 10^{-8}$ моль/л) і найширшого діапазону лінійності досягнуто методом ДІВ. Повторюваність перевіряли за шістьма паралельними вимірюваннями для $C_{\text{Бен}} = 4,0 \cdot 10^{-6}$ моль/л, яка відповідає приблизно середині градувального графіка. Обчислені значення відносного стандартного відхилення (RSD, %) свідчать про хорошу збіжність результатів, а також

підтверджують незначний вплив адсорбції Бен та/або продуктів його окислення на поверхні електрода.

Таблиця 3.25.

Метрологічні характеристики визначення Бен на АДБЕ. Умови – див табл. 3.24.

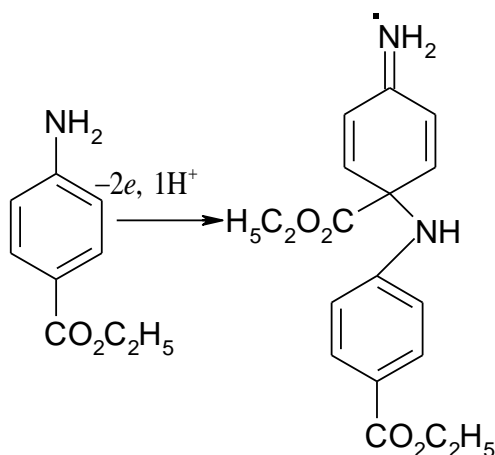
Параметри		ДІВ	КХВ
Межі лінійності, моль/л		$1,0 \cdot 10^{-7} - 2,0 \cdot 10^{-5}$ ($2,0 \cdot 10^{-5} - 4,0 \cdot 10^{-4}$)	$4,0 \cdot 10^{-7} - 2,0 \cdot 10^{-5}$ ($2,0 \cdot 10^{-5} - 2,0 \cdot 10^{-4}$)
b , мкА моль ⁻¹ л		$10,9 \cdot 10^4$	$12,4 \cdot 10^4$
Δb		$1,1 \cdot 10^4$	$3,0 \cdot 10^4$
a , мкА		-0,026	-0,059
Δa		0,003	0,004
Коефіцієнт кореляції, R		0,9996	0,9997
RSD (%)		4,87	4,46
Межа кількісного визначення (LOQ)	моль/л	$2,7 \cdot 10^{-7}$	$3,2 \cdot 10^{-7}$
	ppm	0,045	0,053
Межа виявлення (LOD)	моль/л	$8,0 \cdot 10^{-8}$	$1,0 \cdot 10^{-7}$
	ppm	0,013	0,017

Висновки до розділу 3.5

Досліджені нами закономірності окиснення Бен на мініатюрному АДБЕ добре узгоджуються з описаними у літературі перетвореннями Бен на скловуглецевому [22] і на друкованому графітовому [23] електродах: один необоротний анодний пік за потенціалів від +0,9 до +1,18 В. Однак оптимальні умови для кількісного визначення Бен у цих роботах дещо відрізняються від досліджених нами.

У молекулі Бен наявно два активні центри, які можуть бути електрохімічно окиснені, – аміногрупа й естерна група. Однак відомо, що естерні групи зазвичай окиснюються за потенціалів, що перевищують +1,2 В [24-25]. Тому простежуваний нами струм окиснення Бен найімовірніше відповідає окисненню аміногрупи. У літературі нема інформації про точний механізм електрохімічного перетворення

Бен на електродах, проте добре відомо, що електрохімічне окиснення похідних аніліну є необоротним і відбувається за ЕС механізмом, за участю двох електронів і двох протонів з утворенням хіноніміну [25]. Загалом, окиснення Бен як *para*-заміщеного аніліну може відбуватися у дві стадії: під час першої стадії за участю двох електронів і одного протону може бути утворений катіон-радикал (перебіг саме цієї стадії простежуємо на вольтамперограмі). Далі катіон-радикал швидко взаємодіє з новою молекулою Бен з утворенням 4-заміщених 4-амінодифеніламінів за схемою [21]:



Однак, для детального з'ясування механізму окиснення Бен було б доцільним використання гальваностатичної або потенціостатичної кулонометрії для повного перетворення аналіту з подальшим спектральним аналізом (ЯМР або мас-спектрометрією) для ідентифікації продукта/продуктів окиснення Бен.

За оптимальних умов окиснення Бен струм лінійно залежить від концентрації анестетика в широких межах концентрацій від $1 \cdot 10^{-7}$ до $2 \cdot 10^{-5}$ моль/л (методом ДІВ) 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 методом ДІВ становить $2,7 \cdot 10^{-7}$ моль/л, а методом КХВ – $3,2 \cdot 10^{-7}$ моль/л, що суттєво менше від багатьох відомих методик визначення цього анестетика (Додаток Б). Тому розроблений нами підхід, який ґрунтується на застосуванні мініатюрного товстоплівкового АДБЕ та методів ДІВ і КХВ, можна успішно використати для визначення Бен у ЛЗ та біологічних рідинах.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Блажеєвський М.Є. Кількісне визначення лідокаїну та тримекаїну за реакцією N-оксидування пероксомonosульфатною кислотою / М.Є. Блажеєвський, Я.Ю. Анацька // Фармац. часопис. – 2009. – № 2. – С. 46-52.
2. Блажеєвський М.Є. Застосування пероксидних похідних карбонових кислот у хімічному аналізі: дис. ... д-ра хім. наук: 02.00.02 / Блажеєвський Микола Євстахійович. – Національний фармацевтичний ун-т. – Харків, 2006. – арк.425-524.
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.
4. Карякин Ю.В. Чистые химические вещества / Ю.В. Карякин, И.И. Ангелов. – М.: Химия, 1974. – С. 178-179.
5. Plotycya S. Determination of local anesthetics of amide group in pharmaceutical preparations by cyclic voltammetry / S. Plotycya, L. Dubenska, M. Blazheyevskiy, // Electroanalysis. – 2016. – V. 28, No. 10. – P. 2575-2581.
6. Крамаренко В.Ф. Токсикологическая химия / В.Ф. Крамаренко. – К.: Вища школа, 1989. – 447 с.
7. Плотнікова К.М. Спосіб полярографічного визначення місцевого анестетика бупівакаїну / К.М. Плотнікова, О.М. Сарахман, С.І. Плотиця, [та ін.] // 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.
8. Oelschläger H. Polarographische Bestimmung des Lidocains in Injektionslösungen / H. Oelschläger, H. Hoffmann // Arch. Pharmaz. – 1966. – Vol. 299, No. 12. – P. 1025-1030.
9. Hoffmann H. Polarographische Bestimmung tertiärer Amine über ihre Aminoxide / H. Hoffmann // Arch. Pharmaz. – 1971. – Vol. 305, No. 72. – P. 254-258.
10. Reybier K. Electrochemical behavior of indolone-N-oxides: Relationship to structure and antiplasmodial activity / K. Reybier, T.H.Y. Nguyen, H. Ibrahim, [et al.] // Bioelectrochem. – 2012. – Vol. 88. – P. 57-64.

11. Moreno E. 1,4-Di-N-oxide quinoxaline-2-carboxamide: Cyclic voltammetry and relation between electrochemical behavior, structure and anti-tuberculosis activity / E. Moreno, S. Pérez-Silanesa, Sh. Gouravaram, [et al.] // *Electrochim. Acta*. – 2011. – Vol. 56, No. 9. – P. 3270-3275.
12. 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, [та ін.] // *Вісн. Львів. ун-ту. Серія хім.* – 2019. – Вип. 60, Ч. 1. – С. 191-199.
13. Plotycya S. A new approach for the determination of benzocaine and procaine in pharmaceuticals by single-sweep polarography / Plotycya S., Strontsitska O., Pysarevska S., [et al.] // *Int. J. Electrochem.* – 2018. – Vol. 2018. – Article ID 1376231 – 10 p.
14. Фармацевтична хімія.; Підручник для студ. вищ. фармац. навч. закл. І фармац. ф-тів вищ. мед. навч. закл. III-IV рівнів акредитації / [За заг. ред. П.О. Безуглого]. – Вінниця: НОВА КНИГА, 2008. – 560 с.
15. Squella J.A. Recent developments in the electrochemistry of some nitro compounds of biological significance / J.A. Squella, S. Bollo, L.J. Nunez-Vergara // *Current Organic Chemistry*. – 2005. – Vol. 9, No. 6. – P. 565-581.
16. Tall O.E. Electroanalysis of some nitro-compounds using bulk bismuth electrode / O.E. Tall, D. Beh, N. Jaffrezic-Renault, [et al.] // *Int. Journ. Environm. Anal. Chem.* – 2010. – Vol. 90, No. 1. – P. 40-48.
17. Organic Electrochemistry, An Introduction and a Guide / [Ed. by H. Lund and M.M. Baizer] – New York: Marcel Dekker, 1991. – 1550 p.
18. Хавкинс Э.Дж.Э. Органические перекиси / Э.Дж.Э.Хавкинс. – М., Л.: Химия, 1964. – 536 с.
19. Inzelt G. Chapter 1: Introduction in Conducting Polymers: A New Era in Electrochemistry Monographs in Electrochemistry / G. Inzelt [Ed. by F. Scholz]. – Springer, 2008. – P. 1-6.
20. Nigmatullin R.R. Process of electrochemical electrode modification by polyaniline in the frame of percolation model / R.R. Nigmatullin, H. Budnikov, A.G. Mustafin, [et al.] // *J. Solid State Electrochem.* – 2019. – Vol. 23, No. 4. – P. 1221-1235.

21. 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. Plotycya, [et al.] // *Sensors Actuators B: Chem.* – 2018. – Vol. 270. – P. 9-17.

22. Reddy T.M. Differential pulse adsorptive stripping voltammetric determination of benzocaine and butacaine with Nafionmodified glassy carbon electrode / T.M. Reddy, K. Balaji, S.R.J. Reddy // *Croat. Chem. Acta.* – 2006. – Vol. 79. – P. 253-259.

23. de Lima R.M.F. Determination of benzocaine and tricaine in fish fillets using BIA with amperometric detection / R.M.F. de Lima, M.D. de Oliveira Silva, F.S. Felix, [et al.] // *Electroanalysis.* – 2018. – Vol. 30, No. 2. – P. 283-287.

24. Komorsky-Lovrić S. Voltammetric determination of microparticles of some local anesthetics and antithusics immobilized on the graphite electrode / S. Komorsky-Lovrić, N. Vukašinović, P. Penovski // *Electroanalysis.* – 2003. – Vol. 15, No. 5-6. P. 544-547.

РОЗДІЛ 4

ДІАЗОТУВАННЯ Й АЗОСПОЛУЧЕННЯ ЯК РЕАКЦІЇ ДЕРИВАТИЗАЦІЇ ДЛЯ ПОЛЯРОГРАФІЧНОГО ВИЗНАЧЕННЯ МІСЦЕВИХ АНЕСТЕТИКІВ

На підставі огляду літературних даних ми з'ясували, що для дериватизації АН перспективними є реакції утворення діазо- та азосполук, які відновлюються на р.к.е. у близькій катодній ділянці потенціалів. Бен та Нов містять первинну аміногрупу, яку можна діазотувати нітритною кислотою, а утворену діазосіль використати для реакції азосполучення [1-4]. Загалом, реакції діазотування та азосполучення, а також відновлення діазо- й азосполук на р.к.е. ґрунтовно описано в науковій і навчальній літературі [1-11], тому доцільно зосередити увагу на практичному використанні цих реакцій для визначення Бен та Нов.

4.1. Дослідження оптимальних умов реакції діазотування і відновлення на р.к.е. діазосолей Нов та Бен

Реакцію діазотування зазвичай здійснюють дією на амін натрій нітритом у водному розчині мінеральної кислоти під час охолодження ($\sim 4^\circ\text{C}$). На рис. 4.1 зображено циклічні полярограми, одержані за однакових умов для діазосолей Бен та Нов. Для обох АН простежується один пік відновлення приблизно за потенціалу $-0,2\text{ В}$. Анодних піків нема, що свідчить про повністю необоротний процес [12].

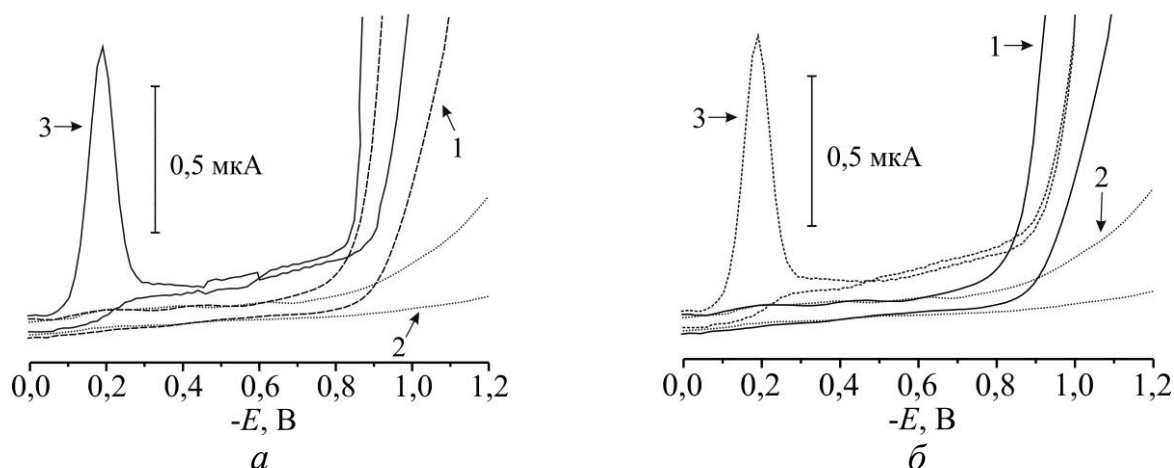


Рис. 4.1. Полярограми у розчинах: (а) – NaNO_2 (1), Бен (2) й одержаної діазосолі Бен (3); (б) – Нов (1) й одержаної діазосолі Нов (2) на фоні $0,2\text{ М}$ УБС з $\text{pH}=3,0$; $C_{\text{АН}}=5,0 \cdot 10^{-5}\text{ М}$. Умови діазотування: $C(\text{NaNO}_2)=0,001\text{ М}$, $C(\text{HCl})=0,01\text{ М}$.

Піки відновлення діазосолей Нов та Бен на фоні УБС зміщуються у від'ємну область потенціалів за $\text{pH} > 7$ (рис. 4.2). Очевидно, що найліпшим для визначення є pH у межах 3 – 5, коли струм і потенціал відновлення мало залежать від кислотності середовища. Надалі усі полярограми одержували за цих pH .

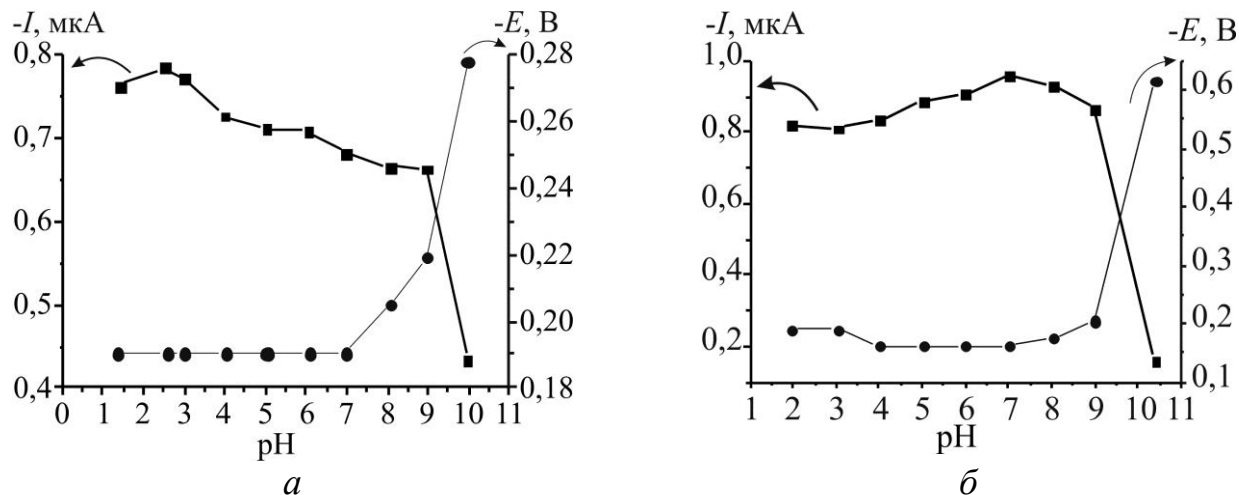


Рис. 4.2. Вплив pH на полярографічні характеристики відновлення діазосолей Бен (а) та Нов (б). Умови діазотування: $C(\text{NaNO}_2)=0,001 \text{ M}$, $C(\text{HCl})=0,01 \text{ M}$, $C_{\text{АН}}=5,0 \cdot 10^{-5} \text{ M}$, $t=5 \text{ хв}$. Умови одержання полярограм: $C(\text{УБС})=0,2 \text{ M}$, $V=0,5 \text{ В/с}$.

Полярографічні характеристики відновлення діазосолей Бен та Нов мало залежать від тривалості діазотування (табл. 4.1) та концентрації натрій нітриту (табл. 4.2).

Таблиця 4.1

Значення струму відновлення діазосолей Бен та Нов за різної тривалості діазотування. Умови діазотування: $C(\text{NaNO}_2)=0,001 \text{ M}$, $C(\text{HCl})=0,01 \text{ M}$, $C_{\text{АН}}=5,0 \cdot 10^{-5} \text{ M}$. Умови одержання полярограм: $C(\text{УБС})=0,2 \text{ M}$, $\text{pH}=3,2$

Тривалість діазотування t , хв	Струм піку діазосоли I , мкА	
	Бен	Нов
3	0,83	0,89
5	0,83	0,89
10	0,83	0,89
15	0,83	0,90
30	0,83	0,90
45	0,84	0,90

Достатнім часом діазотування є 3-5 хв, оскільки струм піку після 5 хв не збільшується. За понад 40-кратного надлишку NaNO_2 над концентрацією анестетика, простежували пік відновлення нітрит-іона за потенціалів $-0,32 - -0,38$ В, однак наявність цього піку не впливала на струм чи потенціал відновлення діазосолі. Для подальших досліджень використовували для діазотування $0,001$ М NaNO_2 (табл. 4.2).

Таблиця 4.2.

Значення струму та потенціалу відновлення діазосолі МА за різної концентрації NaNO_2 . Умови діазотування: див. підпис табл. 4.1, $t=5$ хв

Концентрація NaNO_2 , М	Струм піку діазосолі Нов I , мкА	Потенціал піку діазосолі Нов $-E$, В	Струм піку діазосолі Бен I , мкА	Потенціал піку діазосолі Бен $-E$, В
0,001	0,90	0,18	0,83	0,19
0,002	0,89	0,18	0,82	0,19
0,004	0,89	0,18	0,82	0,19
0,010	0,90	0,18	0,82	0,19
0,030	0,89	0,18	0,82	0,19

Бен та Нов добре діазотуються як за 0°C (у льодяній бані) так і за кімнатної температури ($18-20^\circ\text{C}$) (рис. 4.3). За вищих значень температури процес утруднюється, а висота піків зменшується. Тому всі наступні дослідження виконували за кімнатної температури.

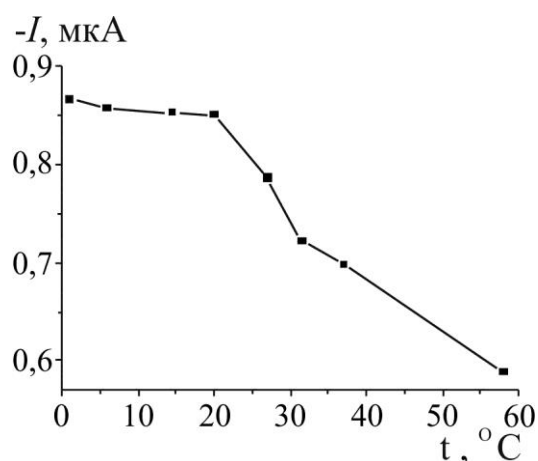


Рис. 4.3. Залежність струму піку відновлення діазосолі Нов від температури діазотування. Умови діазотування: див. підпис табл. 4.1, $t=5$ хв.

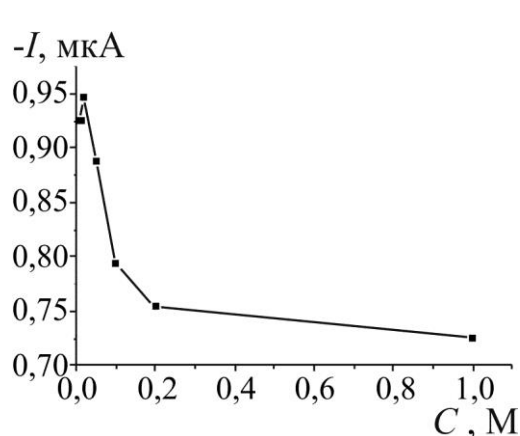
Як середовище для діазотування досліджували хлоридну, ацетатну, фосфатну та сульфатну кислоти (табл. 4.3, рис. 4.4). За використання HCl одержали дещо вищі струми відновлення діазосолей, порівняно з іншими середовищами. У середовищах ацетатної, фосфатної та сульфатної кислоти Бен і Нов також діазотуються, проте значення струму є меншими, зміщується також потенціал піку відновлення. Надалі використовували для діазотування середовище 0,01 М хлоридної кислоти.

Таблиця 4.3

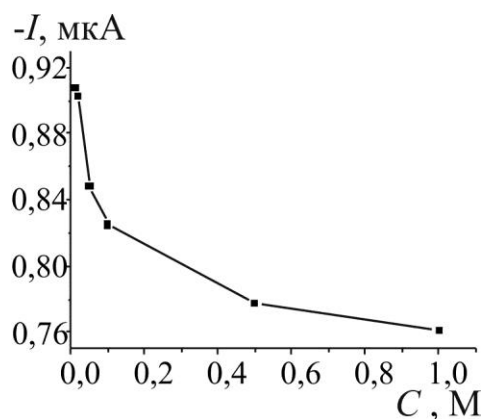
Порівняння кислот як середовища діазотування Бен та Нов.

Інші умови: див. підпис табл. 4.1

Кислота, $C=0,1 \text{ M}$	Струм піку діазосолю Бен I , мкА	Потенціал піку діазосолю Бен $-E$, В	Струм піку діазосолю Нов I , мкА	Потенціал піку діазосолю Нов $-E$, В
HCl	0,82	0,18	0,83	0,19
H_3PO_4	0,81	0,09	0,71	0,10
H_2SO_4	0,71	0,07	0,75	0,09
CH_3COOH	0,61	0,07	0,53	0,10



а



б

Рис. 4.4. Залежність струму відновлення діазосолей Бен (а) та Нов (б) від концентрації хлоридної кислоти. Інші умови: див. підпис табл. 4.1.

Важливим критерієм є швидкість розгортки напруги поляризації V , В/с. Зі збільшенням V висота піків збільшується, потенціал зсувається в негативний бік, що характерно для необоротних процесів (рис. 4.5). Тангенс кута нахилу залежності $\lg I = f(\lg V)$ для Бен становить 1,07, для Нов – 0,93. Отже, струм відновлення діазосолей адсорбційний.

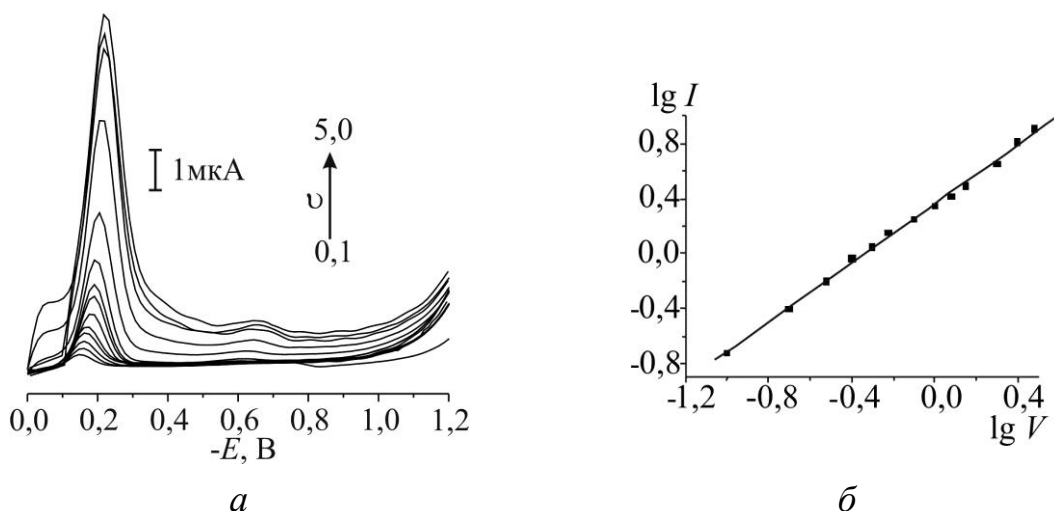


Рис. 4.5. Полярограми у розчинах $5,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л Бен (а) з $\text{pH}_{\text{пол}}=3,2$ для швидкості напруги поляризації V від 0,1 до 5,0 В/с і залежність $\lg I$ від $\lg V$ (б). Умови діазотування: див. підпис табл. 4.1.

4.1.1. Метрологічні параметри полярографічного визначення Бен та Нов у формі діазосолей

На підставі виконаних досліджень визначили оптимальні умови полярографічного визначення Бен і Нов у формі їхніх діазосолей (табл. 4.4.).

Таблиця 4.4

Оптимальні умови діазотування Бен і Нов і подальшого відновлення на р.к.е. одержаних діазосолей

Умови	Бен	Нов
	діазотування	
Хлоридна кислота, C_{HCl} , М	0,01	
Концентрація NaNO_2 , М	10^{-3}	
Температура діазотування, °С	0-20	
Тривалість діазотування, хв	3-5	
одержання полярограм		
рН, за якого доцільно одержувати полярограми (забезпечували УБС)	3,0-5,0	
Діапазон розгортки потенціалу, В	0 – -1	
Швидкість розгортки потенціалу V , В/с	0,5 - 1	
Потенціал $-E$, В, за якого вимірювали струм I	0,18	0,19

Методика одержання розчинів для градуювання. У мірні колби об'ємом 25,0 мл послідовно вносили аліквоти стандартного $1,0 \cdot 10^{-3}$ моль/л розчину АН, для одержання розчину заданої концентрації. У кожену колбу додавали по 1,0 мл 0,25 М хлоридної кислоти і 0,25 мл 0,1 М NaNO_2 , витримували 4 хв. Далі додавали 4 мл УБС ($C_{\text{заг}}=0,42$ М) для досягнення рН 3,0 – 5,0, контролюючи на рН-метрі. Для всіх градуювальних розчинів рН повинно бути однаковим. За потреби додавали краплями розчин NaOH з концентрацією 2,5 М для досягнення заданого рН. Доводили об'єм бідистильованою водою до позначки. Переносили розчин до електролітичної комірки, видаляли розчинений кисень впродовж 10 хв та одержували полярограми в інтервалі потенціалів від 0 до -1,0 В.

Градуювальні графіки зображено на рис. 4.6, а метрологічні характеристики полярографічного визначення Бен та Нов у формі їхніх діазосолей – у табл. 4.5. Зауважимо, що зі зменшенням концентрації МА потенціал піку відновлення діазосолей зсувається в бік негативніших потенціалів.

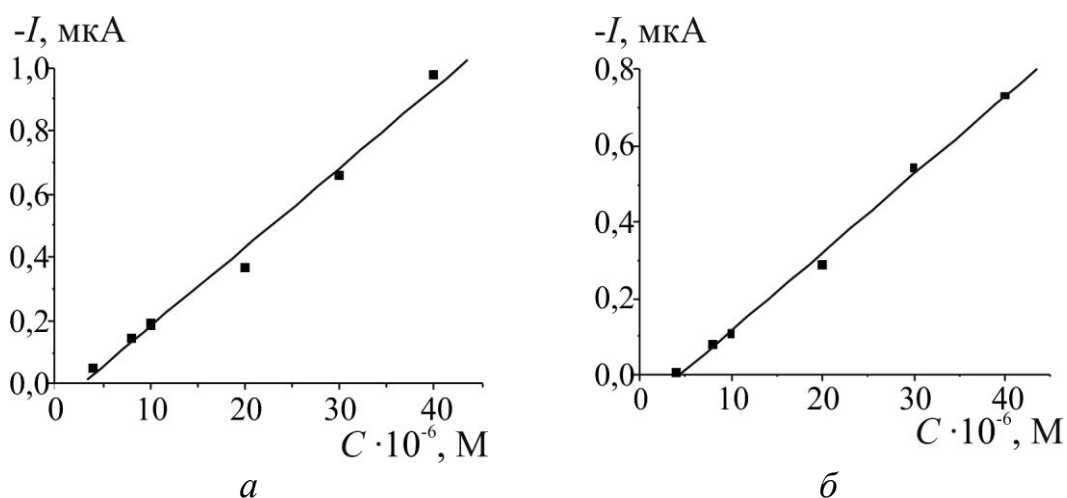


Рис. 4.6. Градуювальні графіки полярографічного визначення Бен (а) та Нов (б) у формі їхніх діазосолей. Умови: див табл. 4.4.

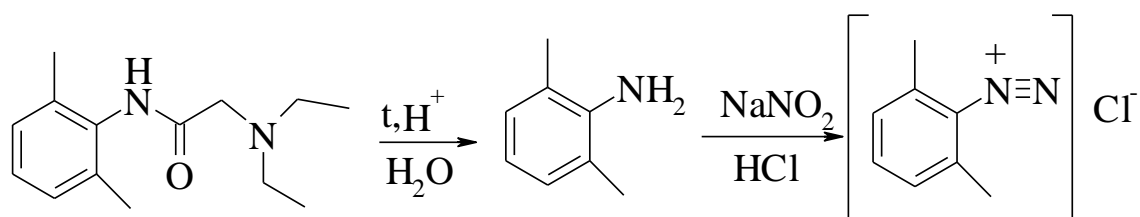
Таблиця 4.5

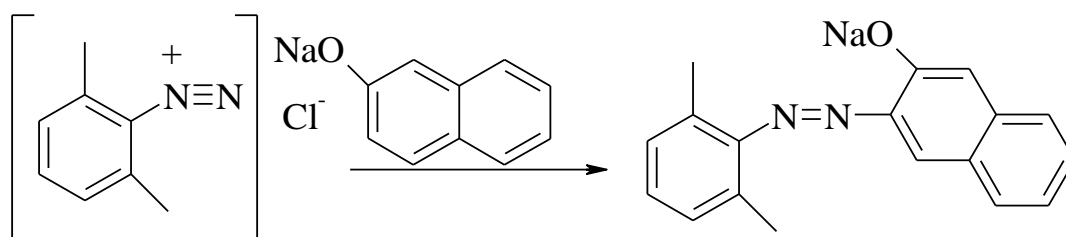
Метрологічні характеристики полярографічного визначення Бен та Нов у формі діазосолей. Умови: див табл. 4.4

Параметри		Бен	Нов
Межі лінійності, моль/л		$4,0 \cdot 10^{-6} - 4,0 \cdot 10^{-5}$	$4,0 \cdot 10^{-6} - 4,0 \cdot 10^{-5}$
b , мкА моль ⁻¹ л		$2,5 \cdot 10^4$	$2,0 \cdot 10^4$
Δb		$1,3 \cdot 10^3$	$6,1 \cdot 10^2$
a , мкА		-0,07	-0,091
Δa		0,03	0,014
Коефіцієнт кореляції, R		0,9945	0,9983
RSD (%)		4,17	1,91
Межа кількісного визначення (LOQ)	моль/л	$5,3 \cdot 10^{-6}$	$5,5 \cdot 10^{-6}$
	ppm	0,871	1,29
Межа виявлення (LOD)	моль/л	$1,6 \cdot 10^{-6}$	$1,7 \cdot 10^{-3}$
	ppm	0,264	0,394

4.2. Дослідження умов діазотування Лд і відновлення діазосолі на р.к.е.

З літератури [1-3] відомо, що лідокаїн гідролізує під час нагрівання в сильно кислому чи сильно лужному середовищі з утворенням 2,6-диметиланіліну, який можна діазотувати нітритною кислотою, а утворену діазосіль використати для реакції азосполучення. На такому принципі ґрунтується спосіб якісної ідентифікації субстанції Лд. Усе перетворення виконують на предметному склі, як азоскладову застосовують β -нафтол, одержують азобарвник жовтогогарячого або червоного кольору:





Методика одержання діазосолі 2,6-диметиланіліну з лідокаїну. Для того, щоб одержати 2,6-диметиланілін, у хімічну склянку місткістю 50 мл вносили аліквоту водного розчину субстанції Лд, додавали 2 мл концентрованої сульфатної кислоти і нагрівали на піщаній бані до появи білих парів сульфатної кислоти. Охолоджену суміш частково нейтралізували (приблизно половину кислоти) додаванням насиченого розчину NaOH з охолодженням на льодяній бані. Далі додавали 0,25 мл 0,1 М NaNO_2 , залишали на 5 хв.

Діазосіль 2,6-диметиланіліну відновлюється на р.к.е. (рис. 4.7).

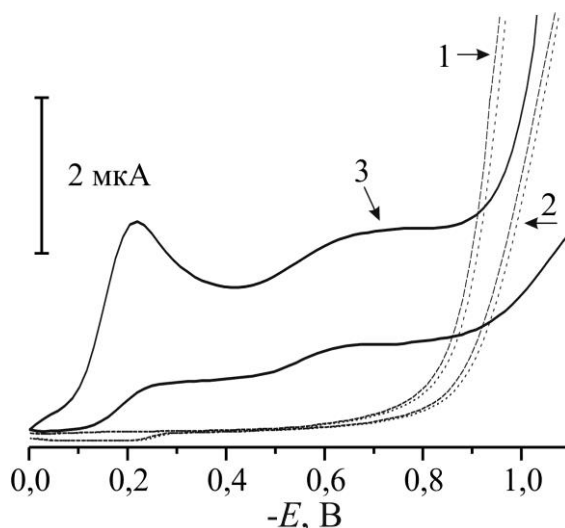


Рис. 4.7. Полярограми у розчинах: NaNO_2 (1), лідокаїну (2) й одержаної діазосолі 2,6-диметиланіліну (3) на фоні 0,2 М УБС з рН 2; $C(\text{NaNO}_2)=10^{-3}$ М, $C_{\text{Лд}}=5,0 \cdot 10^{-5}$ М.

Зі збільшенням рН розчину пік відновлення діазосолі 2,6-диметиланіліну зміщується у катодну ділянку потенціалів, а струм зменшується – відновлення утруднюється (рис. 4.8).

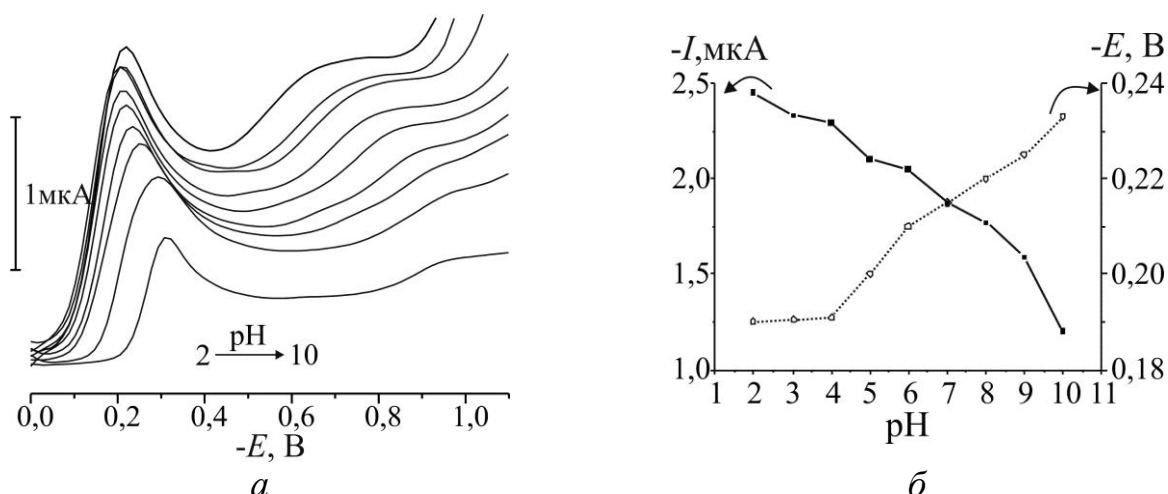


Рис. 4.8. Вигляд катодних полярограм (а) та залежність струму і потенціалу (б) від рН для діазосолі 2,6-диметиланіліну на фоні 0,2 М УБС, $C_{\text{Лд}}=5,0 \cdot 10^{-5}$ М.

Вигляд і параметри полярограм відновлення діазосолі 2,6-диметиланіліну мало залежить від концентрації натрій нітриту і тривалості діазотування (табл. 4.6).

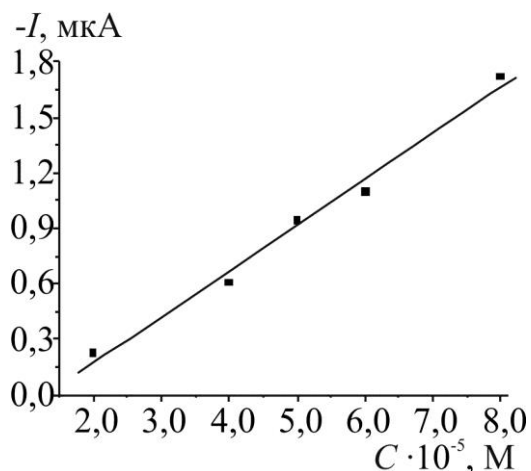
Таблиця 4.6

Значення струму відновлення діазосолі 2,6-диметиланіліну за різної тривалості діазотування і різної концентрації NaNO_2 . Умови: див. підпис до рис. 4.7

Тривалість діазотування t , хв	Струм піку I , мкА	Концентрація NaNO_2 , М	Струм піку I , мкА
3	0,95	0,001	0,97
5	0,97	0,002	0,96
10	0,97	0,004	0,96
15	0,98	0,010	0,96
30	0,98	—	—

Методика одержання розчинів для градування. Аліквоти стандартного $1,0 \cdot 10^{-3}$ М розчину Лд піддавали гідролізу і діазотували одержаний 2,6-диметиланілін згідно з методикою, яку описано вище. Далі додавали 4 мл УБС ($C_{\text{зар}}=0,42$ М) для досягнення рН 2,0, контролюючи на рН-метрі. За потреби додавали краплями розчин NaOH з концентрацією 2,5 М для досягнення заданого рН 2,0. Переносили розчини зі склянок у мірні колби об'ємом 25,0 мл, доводили до позначки бідистильованою водою, переносили до електролітичної комірки, видаляли розчинений кисень впродовж 10 хв і полярографували в межах потенціалів від 0 до -1,0 В.

Градувальний графік і метрологічні характеристики полярографічного визначення Лд за утворенням діазосоли 2,6-диметиланіліну зображено на рис. 4.9.



Лінійна залежність I від $C_{\text{Лд}}$ в межах від $2,0 \cdot 10^{-5}$ до $8,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л

Рівняння прямої градувального графіка

$$I = (-0,32 \pm 0,09) + (2,48 \pm 0,16) \cdot 10^4 \cdot C_{\text{Лд}}$$

Коефіцієнт кореляції $R = 0,99275$

$RSD = 7,2 \%$

Межа кількісного визначення

$$LOQ = 2,49 \cdot 10^{-5} \text{ моль/л}$$

a

б

Рис. 4.9. Градуваний графік (*a*) і його параметри (*б*) для визначення Лд у формі діазосоли 2,6-диметиланіліну. Умови: див. підпис до рис. 4.7.

Межі лінійної залежності I від $C_{\text{Лд}}$ не охоплюють навіть одного порядку, межа кількісного визначення доволі велика, а сама методика дериватизації Лд складна і тривала, тому полярографічне визначення з такою дериватизацією не матиме ніяких переваг перед іншими відомими методиками визначення цього АН.

4.3. Дослідження оптимальних умов реакції азосполучення діазосолей Нов та Бен і відновлення на р.к.е. азопохідних

Одержані діазосоли Бен та Нов легко взаємодіють з фенолами утворюючи забарвлені азосполуки, які відновлюються на р.к.е. (рис. 4.10).

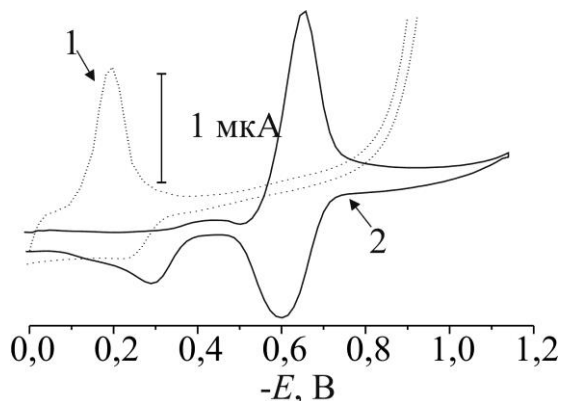
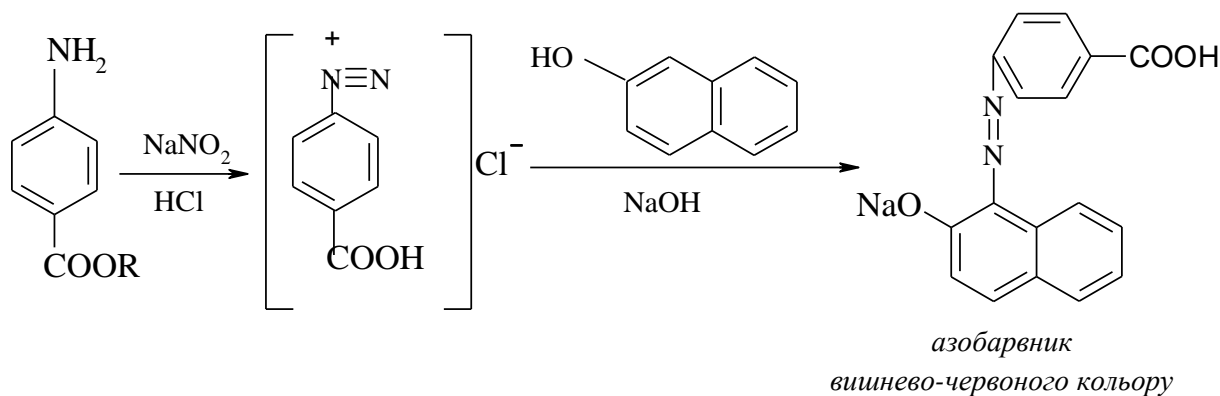


Рис. 4.10. Полярограми у розчинах діазосоли Бен (1), $\text{pH}=3$ і продукту її азосполучення з резорцином (2) $\text{pH}=8$, $C_{\text{Бен}} = 5,0 \cdot 10^{-5} \text{ М}$.

4.3.1. Вибір азоскладової для полярографічного визначення Бен та Нов у формі азосполук та оптимальних умов азосполучення

Згідно ДФУ [3] ідентифікують Нов та Бен за реакцією на первинну ароматичну аміногрупу діазотуванням з наступним азосполученням з β -нафтолом у лужному розчині:



За рН 7-11 з β -нафтолом діазосолі Бен та Нов утворюють осад червоного кольору у вигляді пластівців, на полярограмах у розчинах цього продукту простежували декілька піків (рис. 4.11), значення струмів для яких не повторювалися у паралельних вимірюваннях. За рН 4 – 6 реакція азосполучення не відбувається, нових піків (крім піків відновлення відповідних діазосолей) на полярограмах не простежували. Тому β -нафтол не придатний в якості азоскладової для полярографічного визначення Бен та Нов у формі азосполук.

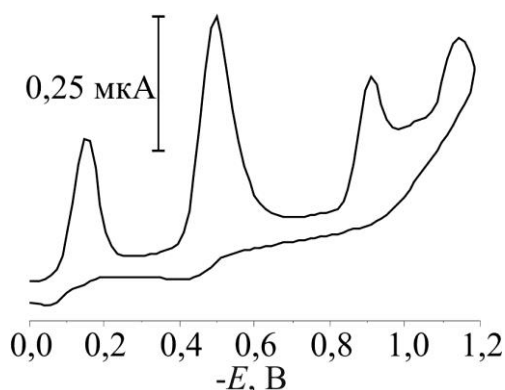


Рис. 4.11. Полярограма у розчині продукту азосполучення Нов з β -нафтолом. Умови діазотування: див. підпис до таблиці 4.4. Умови азосполучення: $C(\beta\text{-нафтолу})=2 \cdot 10^{-4}$ М, $C(\text{CO}(\text{NH}_2)_2)=0,1$ М, $t=10$ хв. Умови одержання полярограм: $C(\text{УБС})=0,2$ М, $\text{pH} \approx 8$, $V=0,5$ В/с.

Діазосолі Бен та Нов вступають у реакцію азосполучення з саліциловою кислотою з утворенням продукту оранжевого кольору, однак продукт, як і з β -нафтолом, малорозчинний, а результати погано повторювані.

Діазосолі Бен та Нов легко вступають в реакцію азосполучення з резорцином з утворенням сполук жовто-оранжевого кольору. Вигляд і характеристики полярограм для продукту азосполучення залежать від рН, за якого проводили азосполучення (рис. 4.12 – 4.13). У лужному середовищі простежується один пік відновлення азосполук Бен та Нов, потенціал якого зміщується у від'ємну область зі збільшенням рН. У кислому і нейтральному середовищі розчини мутніють, виникає два піки. Пік за потенціалів $-0,18 - -0,20$ В відповідає відновленню діазосолі, це додатково засвідчує, що за $\text{pH} < 7$ азосполучення відбувається не повністю.

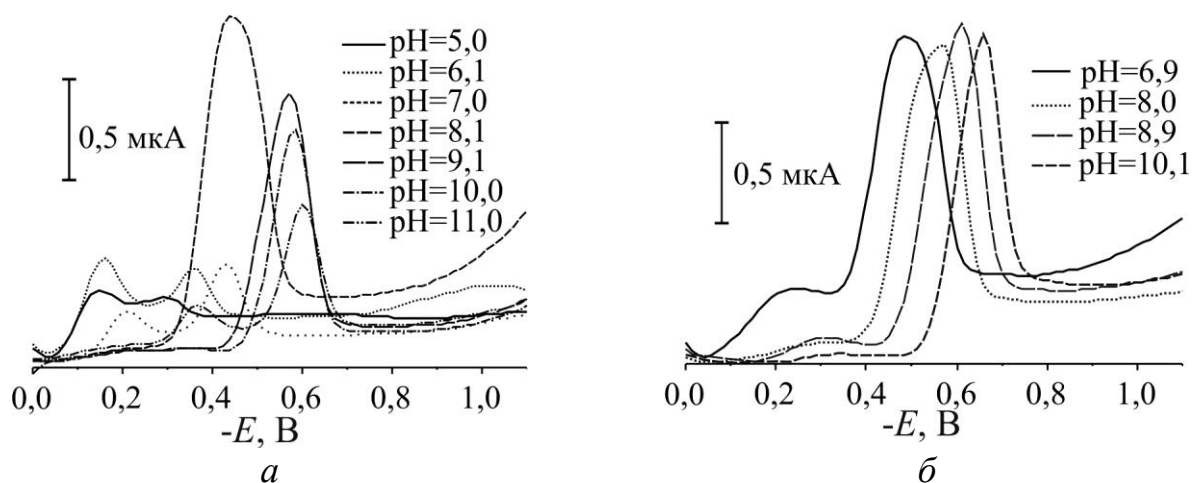


Рис. 4.12. Вигляд катодних полярограм для продуктів азосполучення з резорцином, одержаних за різних рН для Бен (а) та Нов (б). Умови діазотування: див. підпис табл. 4.4. Умови азосполучення: $C(\text{C}_6\text{H}_4(\text{OH})_2) = 2 \cdot 10^{-4}$ М, $C(\text{CO}(\text{NH}_2)_2) = 0,1$ М, $t = 10$ хв.

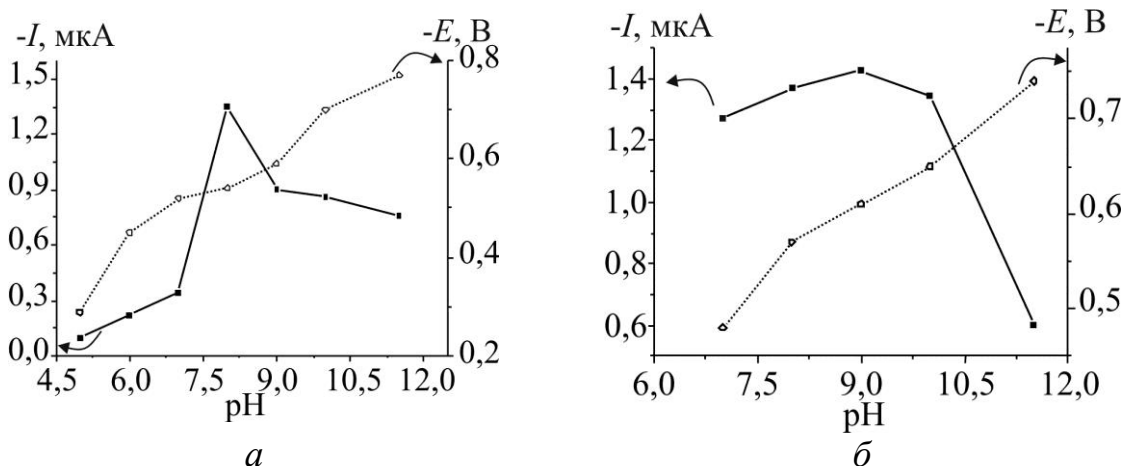


Рис. 4.13. Вплив рН на зміну потенціалу й струму відновлення азосполук Бен (а) та Нов (б). Умови: див. підпис до рис. 4.12.

Потенціал і струм відновлення азосполук Бен та Нов з резорцином мало залежать від тривалості реакції азосполучення (табл. 4.7). Реакція протікає швидко, достатнім часом азосполучення є 5 хв, далі значення струму залишається стабільним [12].

Таблиця 4.7

Значення струму відновлення азосполук Бен та Нов за різної тривалості азосполучення. Умови: див. підпис до рис. 4.12

Тривалість азосполучення t , хв	Струм піку відновлення азосполуки I , мкА	
	Бен рН 8,0	Нов рН 9,0
3	1,33	1,44
5	1,34	1,46
10	1,34	1,46
20	1,34	1,46
35	1,34	1,46

За малих концентрацій анестетиків (коли надлишок NaNO_2 є понад 40-кратний над концентрацією АН), крім піку відновлення азосполук Бен чи Нов, простежуємо ще один пік відновлення за потенціалів $-0,32$ – $-0,38$ В, найімовірніше – нітрит-іона (рис. 4.14). За великого надлишку NaNO_2 пік відновлення азосполуки може спотворюватися. Тому нітрит-іони, які є у надлишку, доцільно усувати з реакційної суміші за допомогою сечовини (рис. 4.15). Для подальших досліджень

використовували 0,1 М розчин сечовини. Такої концентрації достатньо для руйнування надлишку нітриту, який використовують для діазотування МА (рис. 4.15 а), а струм відновлення азосполук практично не змінюється (рис. 4.15 б).

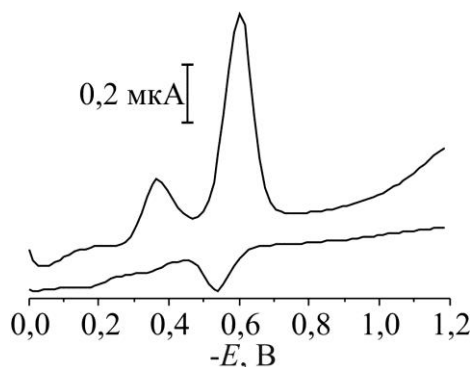
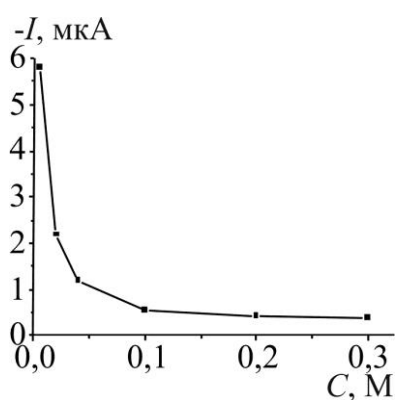
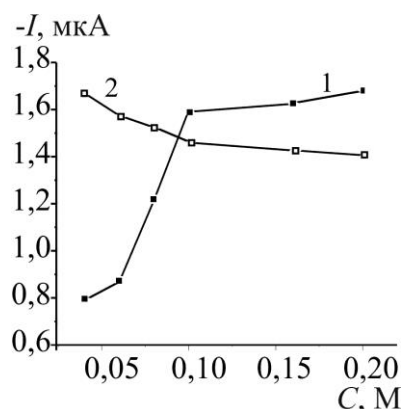


Рис. 4.14. Полярнограма у розчині продукту азосполучення Бен з резорцином за 50-кратного надлишку натрій нітриту, $C_{\text{Бен}}=2,0 \cdot 10^{-5}$ М, інші умови: див. підпис до рис. 4.12.



а



б

Рис. 4.15. Залежність струму відновлення нітрит-іонів (а) та струму відновлення азосполук (б) Бен (1) і Нов (2) від надлишку сечовини. Умови див. підпис до рис. 4.13.

На полярографічні характеристики відновлення азосполук Бен та Нов час витримування досліджуваного розчину з сечовиною впливає так: плавно спадає, виходячи на плато після 10 хв (табл. 4.8).

Таблиця 4.8

Значення струму відновлення азосполук Бен та Нов за різної тривалості t , хв витримування з сечовиною. Умови: див. підпис до рис. 4.12.

Час витримування розчинів з $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ t , хв	Струм піку відновлення азосполуки I , мкА	
	Бен	Нов
3	1,41	1,66
5	1,36	1,65
10	1,34	1,45
15	1,34	1,43
20	1,34	1,43
35	1,34	1,43

Важливим чинником також є концентрація резорцину. Зі збільшенням концентрації резорцину струм відновлення азосполук Бен та Нов незначно збільшується, виходячи на певне стабільне значення за 10-кратного понад концентрацію АН надлишку резорцину (рис. 4.16).

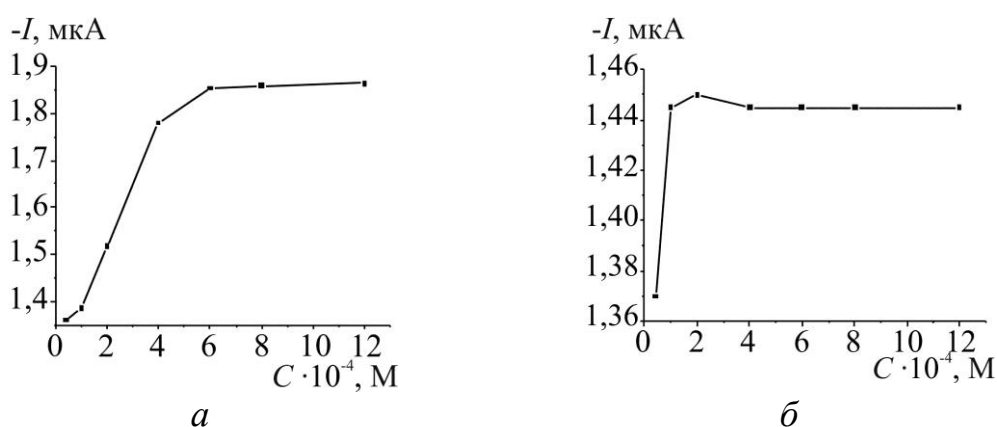


Рис. 4.16. Залежність струму піків відновлення азосполук Бен (а) та Нов (б) від надлишку $\text{C}_6\text{H}_4(\text{OH})_2$. Умови: див. підпис до рис. 4.12.

4.3.2. Метрологічні параметри полярографічного визначення Бен та Нов у формі азосполук з резорцином

На підставі виконаних досліджень визначили оптимальні умови полярографічного визначення Бен і Нов у формі їхніх азосполук з резорцином (табл. 4.9).

Таблиця 4.9.

Оптимальні умови азосполучення діазосолей Бен та Нов з резорцином і подальшого відновлення на р.к.е. одержаних азосполук

Умови	Бен	Нов
діазотування див. табл. 4.4		
азосполучення		
рН (забезпечували УБС)	8	9
Концентрація резорцину $C(C_6H_4(OH)_2)$, М	$4 \cdot 10^{-4}$ М	
Тривалість азосполучення t , хв	5	
Концентрація сечовини $C(CO(NH_2)_2)$, М	0,1	
Тривалість витримування з сечовиною, хв	10	
одержання полярограм		
рН, за якого доцільно одержувати полярограми (забезпечували УБС)	8	9
Діапазон розгортки потенціалу, В	0 – -1	
Швидкість розгортки потенціалу V , В/с	0,5 – 1	
Потенціал $-E$, В, за якого вимірювали струм I	0,55	0,62

Методика одержання розчинів для градуювання. У хімічні склянки місткістю 50 мл послідовно вносили аліквоти стандартного $1,0 \cdot 10^{-3}$ моль/л розчину АН, для одержання розчину заданої концентрації і діазотували АН (див. п. 4.1.1). Для цього у кожну склянку додавали по 1,0 мл 0,25 М хлоридної кислоти і 0,25 мл 0,1 М натрій нітриту, витримували 5 хв. Далі додавали 2,5 мл 1 М розчину сечовини, і витримували суміш 10 хв, щоб зруйнувати надлишок $NaNO_2$, після чого додавали 0,5 мл 0,01 М розчину резорцину і 5 мл УБС для досягнення рН 8 для Бен чи рН 9 для Нов, контролюючи на рН-метрі. Для всіх градуювальних розчинів рН повинно бути однаковим, за потреби можна додати краплями розчин $NaOH$ з концентрацією 2,5 М для досягнення заданого рН. Після цього отриманий розчин витримували ще 5 хв, далі переносили у мірну колбу об'ємом 25,0 мл, доводили об'єм бідистильованою водою до позначки. Переносили розчин до електролітичної комірки, видаляли розчинений кисень впродовж 10 хв та одержували полярограми в інтервалі потенціалів від 0 до -1,0 В.

Метрологічні характеристики полярографічного визначення Бен та Нов у формі їхніх азосполук з резорцином подано у табл. 4.10. Зауважимо, що зі зменшенням концентрації АН на порядок, потенціал піку відновлення азосполуки зсувається в бік негативніших потенціалів приблизно на 50 мВ.

Таблиця 4.10.

Метрологічні характеристики полярографічного визначення Бен та Нов у формі азосполук з резорцином. Умови: див табл. 4.9

Параметри		Бен	Нов
Межі лінійності, моль/л		$8 \cdot 10^{-7} - 2 \cdot 10^{-5}$	$2 \cdot 10^{-6} - 2 \cdot 10^{-5}$
a , мкА		$1,9 \cdot 10^{-2}$	$1,07 \cdot 10^{-2}$
Δa		$1,6 \cdot 10^{-2}$	$1,2 \cdot 10^{-2}$
b , мкА моль ⁻¹ л		$5,8 \cdot 10^4$	$5,8 \cdot 10^4$
Δb		$2,6 \cdot 10^3$	$1,8 \cdot 10^3$
RSD (%)		2,0	1,1
Межа визначення (LOQ)	моль/л	$8,5 \cdot 10^{-7}$	$2,8 \cdot 10^{-6}$
	ppm	0,139	0,651
Межа виявлення (LOD)	моль/л	$2,6 \cdot 10^{-7}$	$6,8 \cdot 10^{-7}$
	ppm	0,0424	0,161
Коефіцієнт кореляції, R		0,9970	0,9986

ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 4

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 діазосолі за потенціалу приблизно -0,2 В. Анодних піків нема, що свідчить про повністю необоротний процес [12].

Струм відновлення діазосолей Бен та Нов лінійно залежить від концентрації АН. Межа визначення АН становить $(5,3-5,5) \cdot 10^{-6}$ моль/л, що майже на два порядки менше від відомих титриметричних чи спектрофотометричних методик.

З літератури відомо, що лідокаїн 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 лідокаїну. 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, а сама методика дериватизації Лд складна і тривала. Тому полярографічне визначення Лд з такою дериватизацією не має ніяких переваг перед іншими відомими методиками визначення цього АН, використання такої методики недоцільне.

Одержані діазосолі Бен та Нов вступають у реакції азосполучення з β -нафтолом, саліциловою кислотою і резорцином, однак продукти азосполучення з β -нафтолом і саліциловою кислотою малорозчинні, 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. За малих концентрацій АН (коли надлишок NaNO₂ є понад 40-кратний над концентрацією АН) крім піку відновлення азосполук Бен чи Нов, простежується також пік

відновлення нітрит-іона, який може спотворювати пік відновлення азосполуки. Для руйнування надлишку нітриту треба використовувати 100-кратний надлишок сечовини при тривалості реакції 10 хв за температури 18-20 °С.

У лужному середовищі простежується один пік відновлення азосполук Бен та Нов, потенціал якого зміщується у від'ємну ділянку зі збільшенням рН. У кислому і нейтральному середовищі розчини мутніють, виникає два піки. Пік за потенціалів -0,18 – -0,20 В відповідає відновленню діазосоли, це додатково засвідчує, що за $\text{pH} < 7$ азосполучення відбувається не повністю. Струм відновлення азосполук Бен та Нов з резорцином лінійно залежить від концентрації АН з коефіцієнтом кореляції, який прямує до 1.

У табл. 4.11 на прикладі Бен наведено коротку порівняльну характеристику полярографічного визначення АН з використання дериватизації за діазотуванням, азосполученням і окисненням Оксоном (див. п. 3.3). 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 реагентів) процедури визначення Бен та Нов кращі з використанням реакції окиснення.

Таблиця 4.11.

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 НСl, 0,001 М NaNO ₂ , УБС	0,01 М НСl, 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	$1,6 \cdot 10^{-6}$	$2,6 \cdot 10^{-7}$	$5,6 \cdot 10^{-7}$

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Фармацевтична хімія.; Підручник для студ. вищ. фармац. навч. закл. І фармац. ф-тів вищ. мед. навч. закл. III-IV рівнів акредитації / [За заг. ред. П.О. Безуглого]. – Вінниця: НОВА КНИГА, 2008. – 560 с.
2. Беликов В.Г. Анализ лекарственных веществ фотометрическими методами. Опыт работы отечественных специалистов / В.Г. Беликов // Рос. хим. журн. – 2002. – Т. 66, № 4. – С. 52-56.
3. Державна Фармакопея України: в 3-х т. / Т. 2. – 2-е вид. – Х.: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. – 724 с.
4. European Pharmacopoeia (Ph. Eur.). Vol. 2 / European Directorate for the Quality of Medicines. – 8th Edition. – Strasbourg: Council of Europe, 2013.
5. Лучкевич Є.Р. Особливості механізму реакції діазотування ароматичних амінів (огляд) / Є.Р. Лучкевич, М.Г. Мокляк // Вісн. Прикарп. нац. ун-ту ім. В. Стефаника. Серія Хімія. – 2009. – Вип. VII. – С. 4-23.
6. Smolinska M. Development and validation of the simple and sensitive spectrophotometric method of sulphanilamides determination with. 4-(2-thiazolylazo)-resorcinol in veterinary preparations / M. Smolinska, O. Korkuna, T. Vrublevska, [et al.] // Open Chem. – 2015. – Vol. 13, No. 1. – P. 1254-1268.
7. Воробьев Д.В. Количественное определение новокаина, введенного в кожу человека способом денс-фореза / Д.В. Воробьев, В.В. Вишняков, П.П. Пурыгин, И.А. Потапова // Вестн. СамГУ. Естественнонауч. сер. – 2005. – Т. 5, № 39. – С. 163-167.
8. Мискиджьян С.П. Полярография лекарственных препаратов / С.П. Мискиджьян, Л.П. Кравченко. – К.: Вищ. шк., 1976. – 232 с.
9. Saby C. Electrochemical modification of glassy carbon electrode using aromatic diazonium salts. 1. Blocking effect of 4-nitrophenyl and 4-carboxyphenyl groups / C. Saby, B. Ortiz, G. Champagne, [et al.] // Langmuir. – 1997. – Vol. 13, No. 25. – P. 6805-6813.

10. Delamar M. Covalent modification of carbon surface by grafting of functionalized aryl radicals produced from electrochemical reduction of diazonium salts / M. Delamar, R. Hitmi, J. Pinson, [et al.] // J. Am. Chem. Soc. – 1992. – Vol. 114, No. 14. – P. 5883-5884.

11. Kariuki J.K. Formation of multilayers on glassy carbon electrodes via the reduction of diazonium salts / J.K. Kariuki // Langmuir. – 2001. – Vol. 17, No. 19. – P. 5947-5951.

12. Dubenska L. Diazotation and azo coupling as the derivatization reactions for polarographic determination of some local anesthetics / L. Dubenska, S. Plotycya, M. Pylypets, [et al.] // Voprosy khimii i khimicheskoi tehnologii. – 2018. – No 5. – P. 12-22.

РОЗДІЛ 5

ЗАСТОСУВАННЯ РОЗРОБЛЕНИХ МЕТОДИК ВИЗНАЧЕННЯ МА В АНАЛІЗІ ОБ'ЄКТІВ РІЗНОЇ ПРИРОДИ

5.1. Селективність полярографічного визначення МА групи амідів у лікарських засобах і біологічних рідинах з використанням Оксону

Складність аналізу лікарських засобів 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, $(\text{CH}_3)_2\text{SO}$, ПЕГ) або в біологічних зразках ($\text{CO}(\text{NH}_2)_2$, Cl^- , Ca^{2+} тощо), досліджували за допомогою розроблених процедур в оптимальних експериментальних умовах (п. 3.2.5). Максимально допустимою концентрацією потенційного впливального агента для біологічних рідин вважали таку, яка може спричинювати відносну похибку визначення АН до 10 %. Для ЛЗ треба користуватися межею допуску, зазначеною у відповідній нормативній документації на препарати.

Вплив сторонніх речовин на визначення АН групи амідів за реакцією окиснення з КПМС вивчали здебільшого на прикладі Лд (табл. 5.1.). Молярні співвідношення вибрані за умови, що форма піку відновлення N-оксиду Лд ніяк не спотворюється. Визначенню Лд не заважають більшість неорганічних іонів у концентраціях більших, ніж вони можуть бути наявні в ліках чи біологічних рідинах, $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$, сахароза. Однак, на аналітичний сигнал суттєво впливають поліетиленгліколі (ПЕГ), які є компонентами багатьох мазей і гелів. ПЕГ – поверхнево-активні речовини, які адсорбуються на поверхні р.к.е., тому перешкоджають відновленню.

За наявності співмірних з кількістю АН трилону Б, ментолу, хлоргексидину струм відновлення N-оксиду Лд зменшується, оскільки КПМС взаємодіє з цими сторонніми речовинами, тобто окисник вступає в конкуруючу реакцію. Негативний ефект можна зменшити, збільшуючи кількість окисника. Якщо кількість сторонніх речовин така, що потребує надто великих кількостей окисника, то доцільніше відокремити АН від матриці, наприклад, екстракцією.

Таблиця 5.1

Вплив сторонніх компонентів на визначення Лд у формі

N-оксиду; $C_{\text{Лд}}=5,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л

Сторонній компонент	Додано у формі	Введено стороннього компонента, моль/л	Знайдено Лд $C_3 \cdot 10^{-5}$ моль/л $n=3$; $P=0,95$	Відносна похибка*, $\frac{\Delta C}{C_{\text{ув}}}$, %	Молярні співвідношення
Ca^{2+}	$\text{Ca}(\text{CH}_3\text{COO})_2$	0,01	4,87	-2,6	1: 200
Mg^{2+}	$\text{Mg}(\text{CH}_3\text{COO})_2$	0,01	4,80	-4,0	1: 20
Fe^{3+}	$\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$	0,002	5,12	2,4	1: 40
$\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$	$\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$	0,01	4,93	-1,4	1: 200
NO_3^-	NaNO_3	0,1	5,01	0,2	1: 2000
SO_4^{2-}	$\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$	0,1	5,02	0,4	1: 2000
Cl^-	NaCl	0,1	5,22	4,4	1: 2000
$\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6^{2-}$	$\text{NaKC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0,01	5,03	0,6	1: 200
$(\text{CH}_3)_2\text{SO}$	$(\text{CH}_3)_2\text{SO}$	$1,0 \cdot 10^{-4}$	4,86	-2,8	1: 2
$\text{CO}(\text{NH}_2)_2$	$\text{CO}(\text{NH}_2)_2$	0,01	4,93	-1,4	1: 200
сахароза	$\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$	$2,0 \cdot 10^{-3}$	4,73	-5,4	1: 40
трилон Б	$\text{Na}_2\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_8$	$2,4 \cdot 10^{-5}$	4,99	-0,2	1: 0,5
$\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$	$\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$	0,25	4,85	-3,0	1:1800
ПЕГ 400	ПЕГ 400	2 мкг/мл	4,68	-6,4	1:0,14
ПЕГ 1500	ПЕГ 1500	2 мкг/мл	4,62	-7,6	1:0,14
хлоргексидин	хлоргексидин	$1,0 \cdot 10^{-5}$	4,76	-4,8	1: 0,2
анісова олія	анісова олія	$2,7 \cdot 10^{-5}$	4,72	-5,6	1: 0,54
ментол	ментол	$1,0 \cdot 10^{-5}$	4,68	-6,4	1: 0,2

* – знак “-” вказує на те, що за наявності сторонньої речовини струм відновлення N-оксиду Лд зменшується

5.2. Визначення лідокаїну в лікарських засобах

На підставі одержаних результатів нами розроблено методики полярографічного визначення Лд у формі його N-оксиду з використанням КПМС у розчинах для ін'єкцій лідокаїну гідрохлориду, вушних крапель “Отипакс” [1] та льодяниках від болю у горлі “Стрепсіс Плюс”. У додатку В наведено детальну характеристику об'єктів аналізу (виробники, склад, сертифікати якості тощо).

Методика визначення лідокаїну у розчині для ін'єкцій. Розчин досліджуваного зразка (РДЗ) готували так: вміст ампули переносили у склянку, мірною піпеткою відбирали 1,00 мл розчину, переносили в мірну колбу місткістю 50,0 мл, розводили водою до позначки і перемішували. Концентрація Лд такого РДЗ згідно з НД становить $1,48 \cdot 10^{-3}$ М. Уміст обчислювали методом градуювального графіка. Стандартні розчини Лд для побудови градуювального графіка одержували за методикою, описаною у п.3.2.5. Результати визначення Лд у розчинах для ін'єкцій лідокаїну гідрохлориду подано в табл. 5.2.

Таблиця 5.2

Результати визначення Лд у розчинах для ін'єкцій лідокаїну гідрохлориду

Об'єкт аналізу	Вимога НД, мг/мл	Зазначено в сертифікаті, мг/мл	Результати визначення, мг/мл
Лідокаїн Дарниця®	19-21	—	$19,5 \pm 0,5$
Лідокаїн гідрохлорид (Артеріум)	19-21	20,2	$19,71 \pm 0,20$

Результати аналізу розчинів для ін'єкцій двох виробників потрапляють у допустимий інтервал вмісту Лд. Ми також порівняли експериментально одержаний результат з результатом випробувальної лабораторії, який було зазначено у сертифікаті якості. Значення сертифікату використали як дійсне значення вмісту

$$\text{Лд: } Z = \frac{C_{\text{експ}}}{C_{\text{дійсн}}} \cdot 100 \% = 97,5 \% \text{ – свідчить про коректність запропонованої методики,}$$

результати аналізу не обтяжені матричними ефектами.

Вушні краплі “Отипакс”, крім лідокаїну, містять інші речовини (діючі й допоміжні), розчин в'язкий. Матриця крапель дещо зменшує струм відновлення

N-оксиду Лд, порівняно зі стандартним водним розчином Лд. Однак вигляд полярограми не спотворюється, залежність I , мкА від $C_{\text{Лд}}$, моль/л залишається лінійною (рис. 5.1). Тому для визначення вмісту Лд у краплях “Отіпакс” використали метод добавок [1].

Методика аналізу крапель “Отіпакс”. Точну наважку випробовуваного ЛЗ (в межах 0,5 г) розчиняли у дистильованій воді і доводили об’єм до 50,0 мл у мірній колбі – одержали РДЗ. Далі у мірну колбу на 25,0 мл вносили аліквоту 1,00 мл РДЗ, додавали 2 мл 1,25 М фосфатного буферного розчину з рН 9,0 і 2,5 мл 0,001 моль/л розчину КПМС. Суміш перемішували, витримували 5 хв, доводили рН до 3,0 додаючи 1,25 мл 2,5 М розчину H_3PO_4 (рН додатково контролювали на рН-метрі) та доводили об’єм дистильованою водою до позначки. Переносили розчин до комірки, видаляли розчинений кисень впродовж 10 хв та знімали полярограми в інтервалі потенціалів від 0 до -1,0 В.

Аналогічно виконували дослід з добавкою стандартного розчину лідокаїну (РСЗ): у мірну колбу на 25,0 мл вносили аліквоту 1,00 мл розчину РДЗ препарату “Отіпакс”, добавку від 0,10 мл до 0,60 мл розчину РСЗ, додавали 2 мл 1,25 М фосфатного буферного розчину з рН 9,0 і 2,5 мл 0,001 моль/л розчину КПМС, перемішували, витримували суміш 5 хв, додавали 1,25 мл 2,5 М розчину H_3PO_4 та доводили об’єм бідистильованою водою до позначки. Переносили цей розчин до комірки, видаляли розчинений кисень впродовж 10 хв та знімали полярограми в інтервалі потенціалів від 0 до -1,0 В. Вміст Лд в краплях “Отіпакс” визначали методом багатьох добавок (рис. 5.1). Результати визначення подано в табл. 5.3.

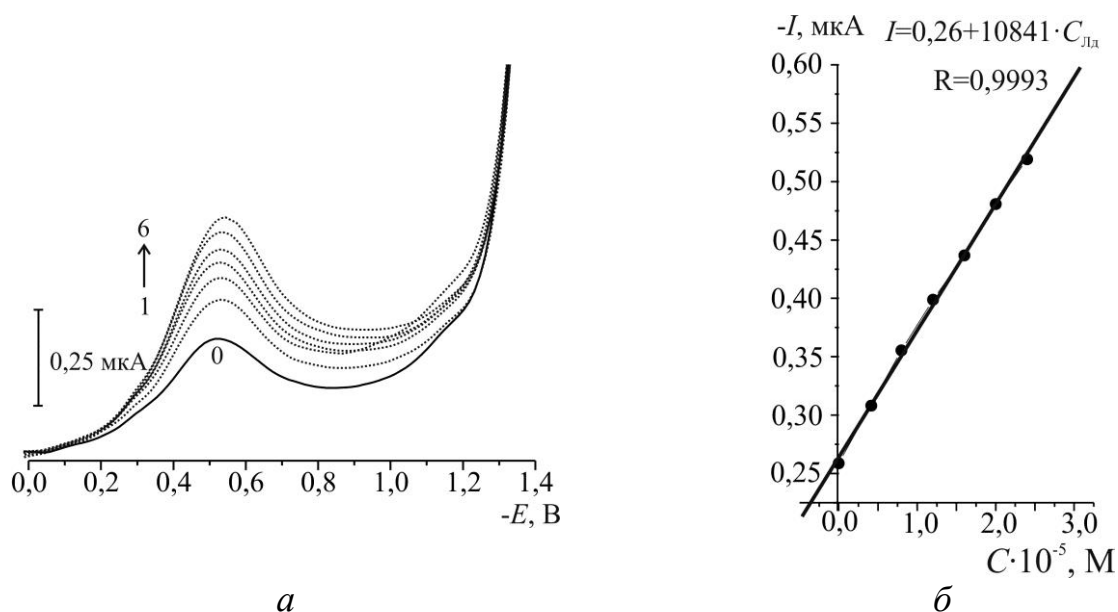


Рис. 5.1. Полярограми (а) і градувальний графік (б), одержані під час полярографічного аналізу крапель “Отіпакс”: 0 – проба “Отіпакс” без стандартної добавки Лд, 1-6 – проби “Отіпакс” з добавками РСЗ Лд.

Таблиця 5.3

Результати визначення лідокаїну в краплях “Отіпакс”

Вимога НД, г/100 г	Зазначено в сертифікаті, г/100 г	Результати визначення, г/100 г
0,95-1,05	0,99	1,00±0,06

Результат визначення Лд в краплях “Отіпакс” потрапляє у допустимий інтервал вмісту Лд. Також $Z = \frac{C_{\text{експ}}}{C_{\text{дійсн}}} \cdot 100 \% = 99,0 \%$.

Льодяники від болю в горлі “Стрепсілс Плюс” (додаток В) містять багато допоміжних речовин у великій кількості (левоментол, анісову олію, олію м’яти перцевої та ін.), які суттєво впливають на аналітичний сигнал Лд (табл. 5.1). Тому Лд доцільно вилучити з такої складної матриці.

Методика аналізу льодяників “Стрепсілс Плюс”. Для одержання розчину досліджуваного зразка (РДЗ) вісім льодяників розчиняли у приблизно 20 мл дистильованої води при нагріванні до 40-50 °С у хімічній склянці, після цього одержаний розчин охолоджували до 20 °С і кількісно переносили у мірну колбу на 50,0 мл. Аліквоту 1,00 мл РДЗ переносили в центрифужну пробірку, додавали 1 мл 1 М розчину калій карбонату, створюючи оснóвне середовище, далі додавали 3 мл

хлороформу, струшували протягом 10 хв і центрифугували при 3000 об/хв впродовж 10 хв. Екстрагували трьома порціями по 3 мл хлороформу. Органічну фазу переносили в склянку, випарювали насухо, нагріваючи на водяній бані за температури не вище 50 °С. До сухого залишку додавали 2 мл 1,25 М фосфатного буферного розчину з рН 9,0 і 2,5 мл 0,001 М розчину КПМС. Суміш перемішували, витримували 5 хв, доводили рН до 3,0, додаючи 1,25 мл 2,5 М розчину H_3PO_4 (значення рН доцільно контролювати за рН-метром), кількісно переносили в мірну колбу на 25 мл та доводили об'єм дистильованою водою до позначки. Переносили розчин до комірки, видаляли розчинений кисень впродовж 10 хв та знімали полярограми в інтервалі потенціалів від 0 до -1,0 В.

Аналогічно виконували дослід з добавками стандартного розчину лідокаїну (РСЗ): у центрифужну пробірку вносили 1,00 мл РДЗ “Стрепсілс Плюс”, добавку від 0,15 до 0,35 мл розчину РСЗ, створювали лужне середовище 1 М розчином калій карбонату (1 мл), додавали 3 мл хлороформу, струшували протягом 10 хв і центрифугували при 3000 об/хв. впродовж 10 хв. Екстрагували трьома порціями по 3 мл хлороформу. Органічну фазу переносили в склянку, випарювали насухо на електричній водяній бані. До сухого залишку додавали 2 мл 1,25 М фосфатного буферного розчину з рН 9,0 і 2,5 мл 0,001 М розчину КПМС, перемішували, витримували суміш 5 хв, доводили рН до 3,0 додаючи 1,25 мл 2,5 М розчину H_3PO_4 , кількісно переносили в мірну колбу на 25 мл та доводили об'єм дистильованою водою до позначки. Переносили розчин до електролізера, видаляли розчинений кисень впродовж 10 хв та знімали полярограми в інтервалі потенціалів від 0 до -1,0 В. Результати кількісного визначення лідокаїну в льодяниках “Стрепсілс Плюс” наведено в табл. 5.4.

Таблиця 5.4

Результати визначення Лд в ЛЗ “Стрепсілс Плюс”

Вимога НД, мг/льодяник	Зазначено в сертифікаті, мг/льодяник	Результати визначення, мг/льодяник
9,0-11,0	9,9	11,0±2,0

Для цього визначення $Z = \frac{C_{\text{експ}}}{C_{\text{дійсн}}} \cdot 100 \% = 90,0 \%$, що загалом є крайньою межею

допустимого інтервал вмісту ЛД в льодяниках.

5.3. Визначення лідокаїну в слині

Кров, плазма і сеча – традиційні об'єкти для хіміко-токсикологічного аналізу. Перевагою застосування аналізу слини є можливість швидкого і неінвазивного відбору проби. Кількість публікацій з аналізу слини постійно збільшується, оскільки слина є доброю альтернативою плазмі і крові для визначення багатьох наркотичних препаратів, а також їхніх метаболітів, які в слині можуть бути наявними у великих концентраціях [2-4].

Слина – багатокомпонентний розчин, який є продуктом секреції залоз ротової порожнини (табл. 5.5) [2].

Таблиця 5.5

Склад слини за [5]

Речовина	Вміст
Вода	994 г/л
Білки	1,4-6,4 г/л
Муцин	0,9-6,0 г/л
Холестерин	0,02-0,50 г/л
Глюкоза	0,1-0,3 г/л
Амоній	0,01-0,12 г/л
Сечова кислота	0,005-0,030 г/л
Солі натрію	6-23 ммоль/л
Солі калію	14-41 ммоль/л
Солі кальцію	1,2-2,7 ммоль/л
Солі магнію	0,1-0,5 ммоль/л
Хлориди	5-31 ммоль/л
Гідрокарбонати	2-13 ммоль/л
Сечовина	140-750 ммоль/л

В аналізі слини на вміст алкалоїдів та їхніх метаболітів для усунення впливу складної матриці слини використовують дегідратуючі солі, центрифугування, фільтрування, екстракцію [6].

Зразки слини людини, яка не використовувала ЛД, брали у двох здорових добровольців (чоловік, 26 років і жінка, 21 рік, не курять) в день експерименту. Зауважимо, що експерименти було проведено за поінформованою згодою,

отриманою від волонтерів. Під час експериментів і за кілька днів до цього волонтери не проходили жодного лікування лікарськими чи мультівітамінними препаратами.

Полярографічному визначенню Лд запропонованою методикою особливо заважають наявні у слині білки. Ми перевірили різні підходи для підготовки проби слини (табл. 5.6). Кращим виявилось осадження матриці сумішшю насиченого розчину амоній сульфату з 20 % сульфосаліциловою кислотою [7].

Таблиця 5.6

Перевірені способи усування впливу матриці слини для полярографічного визначення Лд з використанням КПМС.

Спосіб усування матриці слини	Результат експерименту
Центрифугування	Негативний
NaCl	
Na ₂ SO ₄	
(NH ₄) ₂ SO ₄	
NaOH	
CH ₃ COOH	
C ₂ H ₅ OH	
CH ₃ OH	
HClO ₄	
Ацетонітрил	
Сульфосаліцилова	
Ацетон	
Хлоформ	
Етанол + ацетон	
Ацетон+ (NH ₄)SO ₄	
Сульфосаліцилова кислота + (NH ₄) ₂ SO ₄	можливе визначення

Методика визначення лідокаїну у слині. Відбирали 1,0 мл слини у мірну пробірку, вносили аліквоту PC3 Лд, перемішували скляною паличкою. Далі додавали 1 мл 20 % сульфосаліцилової кислоти, 4 мл насиченого за 50 °С (NH₄)₂SO₄, перемішували. Розчин фільтрували через подвійний фільтр високої щільності (синя стрічка) під пониженим тиском у мірну колбу місткістю 25,0 мл. Фільтр промивали сумішшю, яка складалася з 1 мл 20 % сульфосаліцилової кислоти і 2 мл насиченого (NH₄)₂SO₄.

Далі послідовно вносили в колбу 2,2 мл 5 М NaOH і 2,5 мл 0,01 моль/л КПМС, перемішували. Суміш витримували 5 хв, потім доводили рН до 3,0, додаючи краплями розчин H_3PO_4 1:1 (орієнтовно 1,5 мл, рН додатково контролювали рН-метром), доводили об'єм дистильованою водою до позначки. Переносили розчин до комірки, видаляли розчинений кисень впродовж 10 хв та знімали полярограми в інтервалі потенціалів від 0 до -1,0 В.

На рис. 5.2. зображено циклічні полярограми у підготовлених розчинах слини за відсутності та за наявності Лд, а також градувальний графік, одержаний способом уведення аліквот РСЗ Лд у слину.

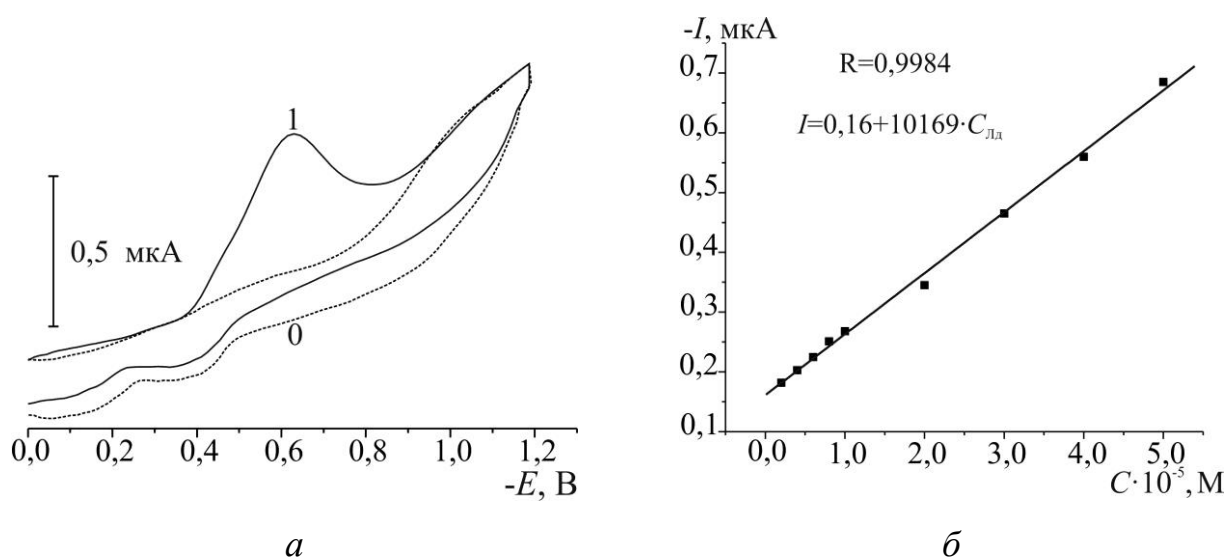


Рис. 5.2. Полярограми (а) у підготовлених розчинах слини без додавання Лд (крива 0) і з добавкою $5,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л Лд у кінцевому об'ємі (крива 1), а також градувальний графік (б) полярографічного визначення Лд, одержаний способом уведення аліквот РСЗ Лд у пробу слини.

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 водних РСЗ (Розділ 3, табл. 3.2).

5.4. Визначення тримекаїну в мазі “Левосин”

Багато ЛЗ зовнішнього застосування від гематом, забоїв, поверхневих неглибоких ран містять АН. Зокрема, мазь “Левосин” містить Тр. Детальну характеристику “Левосину” наведено у додатку В. Основою цієї мазі є поліетиленгліколь (ПЕГ 400, ПЕГ 1500), який суттєво заважає прямому визначенню Тр (див. п. 5.1). Тому для відокремлення АН від матриці ми використали екстракцію [8].

Методика аналізу мазі “Левосин”. У хімічну склянку місткістю 50 мл переносили точну наважку мазі (в межах 0,2 г), додавали 10 мл нагрітої до 40-50 °С дистильованої води і ретельно збовтували впродовж 10 хв. Після цього розчин охолоджували до 20 °С і переносили в ділильну лійку, створювали лужне середовище твердим Na_2CO_3 (приблизно 0,25 г Na_2CO_3 на 50 мл водного розчину мазі). Екстрагували Тр трьома порціями гексану по 10 мл. Екстракти об’єднували і висушували, сухий залишок розчиняли в дистильованій воді, підкислений хлоридною кислотою до $\text{pH}=3$. Розчин переносили у мірну колбу на 50,0 мл і доводили до позначки дистильованою водою, одержуючи таким чином РДЗ.

Далі у мірну колбу на 25,0 мл вносили аліквоту 1,00 мл РДЗ, додавали 2 мл 1,25 М фосфатного буферного розчину з pH 9,0 і 2,5 мл 0,001 М розчину КПМС, перемішували, витримували суміш 5 хв, доводили pH до 3,0 додаючи 1,25 мл 2,5 М розчину H_3PO_4 (значення pH доцільно контролювати за pH -метром), доводили об’єм дистильованою водою до позначки. Переносили розчин до електролітичної комірки, видаляли розчинений кисень впродовж 10 хв та знімали полярограми в інтервалі потенціалів від 0 до -1,0 В.

Добавки розчину РСЗ тримекаїну додавали мірною піпеткою до точної наважки мазі, перемішували скляною паличкою і через 10 хв виконували послідовно усі операції пробопідготовки: до наважки мазі з добавкою Тр у хімічній склянці місткістю 50 мл, додавали 10 мл нагрітої до 40-50 °С дистильованої води і ретельно збовтували впродовж 10 хв. Після цього розчин охолоджували до 20 °С, переносили в ділильну лійку і виконували усі операції, які описано вище.

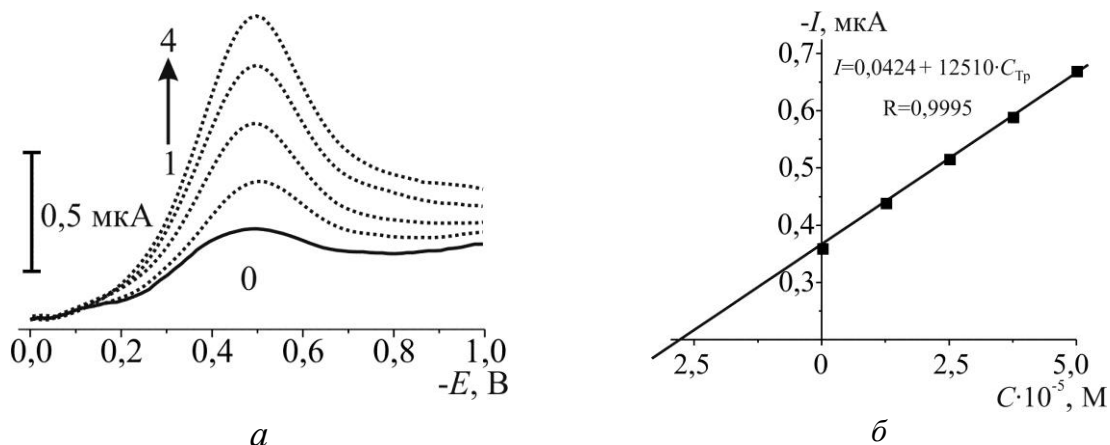


Рис. 5.3. Полярограми (а) і градувальний графік (б), одержані під час полярографічного аналізу мазі “Левосин”: 0 – проба “Левосин” без стандартної добавки Тр, 1-4 – проби “Левосин” з добавками РСЗ Тр.

Таблиця 5.7.

Результати полярографічного визначення Тр у вигляді
N-оксиду у мазі “Левосин” ($n=3$; $P=0,95$)

Вимога НД, г/100 г	Зазначено в сертифікаті, г/100 г	Результати визначення, г/100 г
2,7-3,3	2,9	2,76±0,12

Результат визначення Тр в мазі “Левосин” потрапляє у допустимий інтервал вмісту Тр, $Z = \frac{C_{\text{експ}}}{C_{\text{дійсн}}} \cdot 100 \% = 95,2 \%$.

5.5. Визначення мепівакаїну в розчині для ін'єкцій

Проаналізували розчин для ін'єкцій “Mepivastesin” – 3 % розчин мепівакаїн гідрохлориду в ампулах (Додаток В). Кожна ампула містить по 1,7 мл розчину.

Методика визначення мепівакаїну у розчині для ін'єкцій. Розчин досліджуваного зразка (РДЗ) готували так: вміст ампули переносили у склянку, мірною піпеткою відбирали 1,00 мл розчину, переносили в мірну колбу місткістю 50,0 мл, розводили водою до позначки і перемішували. Концентрація Меп для такого РДЗ, згідно з НД, становить $2,12 \cdot 10^{-3}$ моль/л. Вміст обчислювали методом градувального графіка. Стандартні розчини Меп для побудови градувального графіка одержували за методикою, описаною у п.3.2.5. Результати визначення Меп у розчині для ін'єкцій наведено в табл. 5.8.

Таблиця 5.8

Результати визначення Меп у розчині для ін'єкцій “Mepivastesin”

Вимога НД, мг/мл	Результати визначення, мг/мл
28,5-31,5	$29,5 \pm 0,5$

Результат визначення Меп у розчині для ін'єкцій потрапляє у допустимий інтервал вмісту Меп.

5.6. Поляррографічне визначення бензокаїну та новокаїну у лікарських формах з дериватизацією з використанням Оксону

На підставі одержаних результатів (див. п. 3.3) нами розроблена методика поляррографічного визначення Бен у таблетках “Фарисіл” і пастилках “Септолете Плюс” (комбіновані антисептичні препарати для розсмоктування при інфекційно-запальних захворюваннях горла і ротової порожнини) та Нов у розчині для ін'єкцій [9]. Крім Бен, таблетки “Фарисіл” і пастилки “Септолете плюс” містять інші речовини – діючі й допоміжні (додаток В). Допоміжні речовини цих лікарських засобів – малорозчинні, їх можна відокремити фільтруванням. Матриця ЛЗ зменшує струм відновлення деривату Бен, а вигляд поляррограм дещо спотворюється порівняно зі стандартним водним розчином Бен. Однак залежність I , мкА від $C_{\text{Бен}}$, моль/л залишається лінійною (рис. 5.4). Тому Бен у таблетках “Фарисіл” і пастилках “Септолете плюс” доцільно визначати методом добавок. Для аналізу обох ЛЗ пробу готували однаково.

Методика аналізу таблеток “Фарисіл” і пастилок “Септолете плюс”.

РДЗ готували так: чотири таблетки чи пастилки розчиняли у приблизно 50 мл 0,25 М хлоридної кислоти (так само, як субстанцію Бен), весь час перемішуючи електромагнітним перемішувачем. В отриманому розчині ЛЗ були наявні нерозчинні речовини у помітній кількості, тому розчин фільтрували через паперовий фільтр (синя стрічка). Осад промивали на фільтрі кількома порціями 0,25 М хлоридної кислоти та бідистильованої води. Фільтрат кількісно переносили в мірну колбу на 200,0 мл і доводили до позначки бідистильованою водою. Концентрація Бен у такому РДЗ згідно з НД становить $6,053 \cdot 10^{-4}$ моль/л. Вміст Бен

у таблетках “Фарисіл” та пастилках “Септолете Плюс” визначали методом багатьох добавок (рис. 5.4).

У мірну колбу на 25,0 мл вносили аліквоту 1,00 мл РДЗ, додавали 2 мл 1,25 М фосфатного буферного розчину з рН 9,0 та 4 мл $6,1 \cdot 10^{-2}$ М розчину КПМС. Суміш перемішували, витримували 10-12 хв в електричній водяній бані за температури 50 °С (див. табл. 3.22). Потім додавали краплями 2,5 М розчин H_3PO_4 до досягнення рН 4,0 (приблизно 1,1-1,2 мл, контролювали рН-метром) та доводили об’єм дистильованою водою до позначки. Переносили розчин до електролітичної комірки та одержували полярограми в інтервалі потенціалів від 0 до -1,0 В.

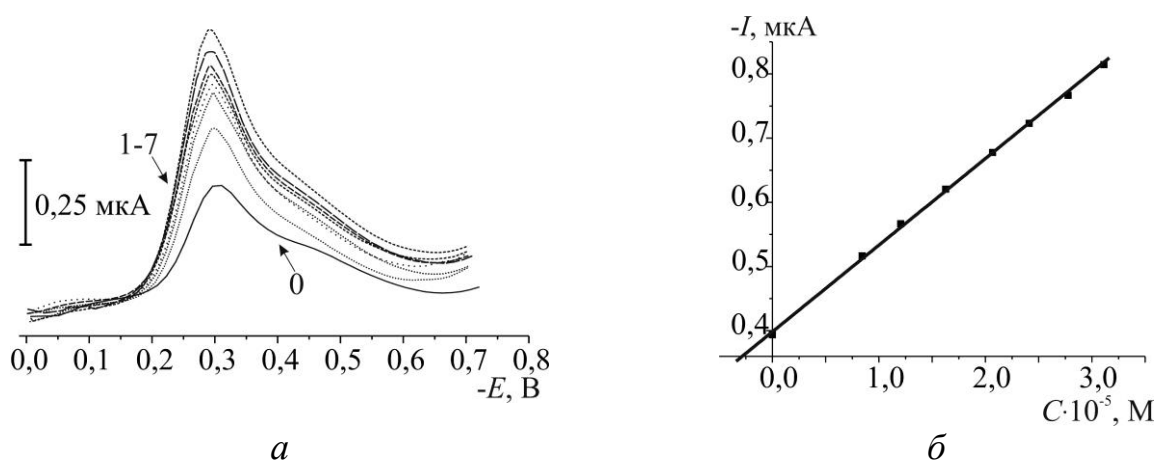


Рис. 5.4. Вигляд полярограм (а) та градувальний графік (б), одержані під час аналізу пастилок “Септолете Плюс ”: 0 – проба “Септолете Плюс” без стандартної добавки Бен, 1-7 – проби “Септолете Плюс” з добавками РСЗ Бен.

Аналогічно виконували дослід з добавкою стандартного розчину Бен (РСЗ): у мірну колбу на 25,0 мл вносили аліквоту 1,00 мл розчину РДЗ, добавку від 0,20 мл до 0,80 мл розчину РСЗ, додавали 2 мл фосфатного буферного розчину з рН 9,0 і далі – за методикою. Результати визначення Бен у таблетках “Фарисіл” та в пастилках “Септолете Плюс” наведено у табл. 5.9.

Таблиця 5.9

Результати визначення Бен у таблетках “Фарисіл” та пастилках “Септолете Плюс”.

ЛЗ	Вимога НД, мг/таблетку (мг/пастилку)	Зазначено в сертифікаті, мг/таблетку (мг/пастилку)	Результати визначення, мг/таблетку (мг/пастилку)
“Фарисіл”	4,75-5,25 (95-105)*	5,23	5,0±0,3
“Септолете Плюс”	4,50-5,50 (90-110)*	4,85	5,11±0,23

* – допустиме відхилення вмісту Бен, %

Результати визначення Бен у таблетках і пастилках потрапляють у допустимі інтервали вмісту Бен. Для “Фарисілу” $Z = \frac{C_{\text{експ}}}{C_{\text{дійсн}}} \cdot 100 \% = 95,2 \%$, а для “Септолете

Плюс” $Z = \frac{C_{\text{експ}}}{C_{\text{дійсн}}} \cdot 100 \% = 105,4 \%$ – свідчать про коректність запропонованої

методики.

Методика визначення Нов у розчині для ін’єкцій. Розчин досліджуваного зразка готували так: вміст ампули переносили у склянку, мірною піпеткою відбирали 1,00 мл розчину, переносили в мірну колбу місткістю 50,0 мл, розводили бідистильованою водою до позначки і перемішували. Концентрація такого РДЗ згідно з НД становить $1,466 \cdot 10^{-3}$ моль/л. Вміст Нов обчислювали методом градувального графіка. Стандартні розчини Нов для побудови градувального графіка одержували за методикою, описаною у п. 3.3.6. Результати визначення Нов у розчинах для ін’єкцій новокаїну гідрохлориду показано в табл. 5.10.

Таблиця 5.10.

Результати визначення Нов у розчині для ін’єкцій.

Вимога НД, мг/мл	Зазначено в сертифікаті, мг/мл	Результати визначення, мг/мл
4,75-5,25 (95-105)*	4,97	4,92 ± 0,39

* – допустиме відхилення вмісту Нов, %

Результат визначення Нов у розчині для ін'єкцій потрапляє у допустимий

$$\text{інтервал умісту Нов: } Z = \frac{C_{\text{експ}}}{C_{\text{дійсн}}} \cdot 100 \% = 99,0 \% .$$

5.7. Визначення бензокаїну в лікарських засобах і сечі з використанням алмазного, допованого бором, електрода

5.7.1. Селективність визначення Бен у лікарських засобах і біологічних рідинах з використанням АДБЕ

Вплив сторонніх речовин, які можуть бути наявні у ЛЗ або біологічних рідинах і потенційно заважати визначенню Бен, досліджували за допомогою розроблених процедур в оптимальних експериментальних умовах (див. п. 3.5.4) [10]. Максимально допустимою концентрацією впливного агента для біологічних рідин вважали таку, яка може спричинювати відносну похибку визначення анестетика до 10 %. Для ЛЗ використовували межу допуску, зазначену у відповідній нормативній документації на препарати.

Отримані результати показали, що 100-кратний надлишок ібупрофену (ІБП) та кофеїну (КОФ) суттєво не впливають на струм і потенціал окиснення Бен, оскільки ці речовини окиснюються на АДБЕ за значно позитивніших потенціалів (рис. 5.5). Не впливає також 100-кратний надлишок глюкози.

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 %. Отже, можливість прямого визначення Бен за струмом окиснення на АДБЕ є дещо обмеженою для аналізу реальних біологічних зразків, оскільки концентрації природних сторонніх сполук можуть бути значно більшими від концентрації анестетика.

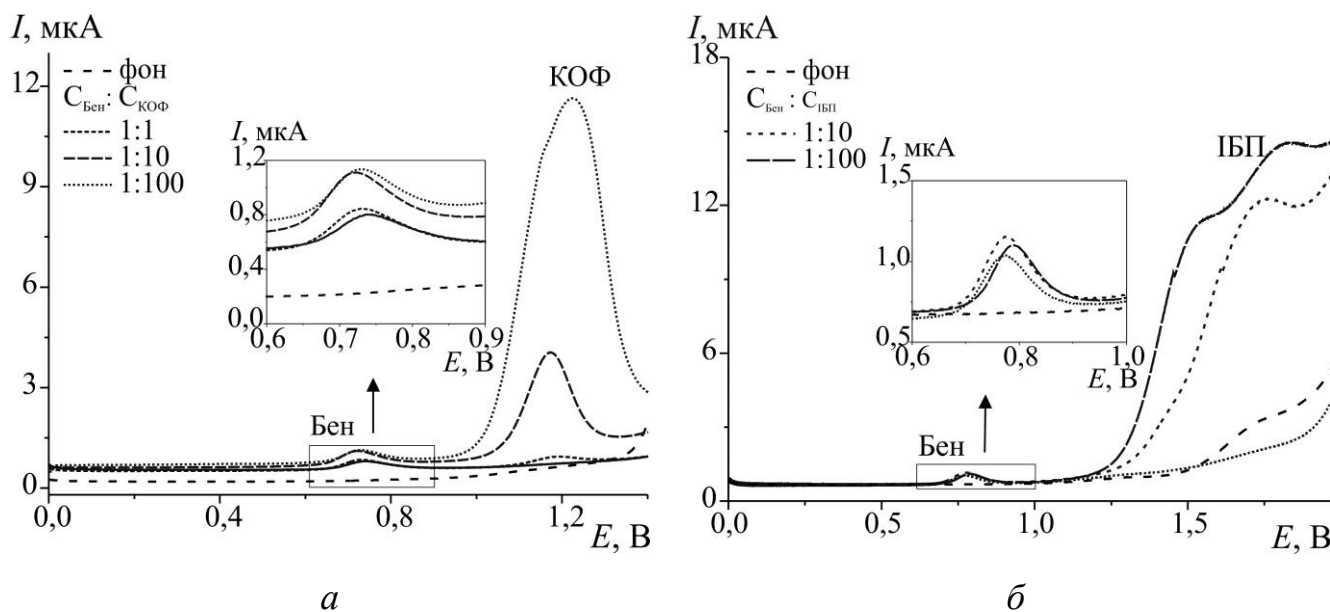


Рис. 5.5. Вигляд анодних вольтамперограм АДБЕ у розчині Бен (метод ДІВ) з $C_{\text{Бен}} = 8,0 \cdot 10^{-6} \text{ M}$ на фоні УБС з рН 4,0 за наявності КОФ (а) та ІБП (б). Умови – див. табл. 3.24.

5.7.2. Визначення бензокаїну за окисненням на АДБЕ у лікарських засобах

Для того, щоб перевірити точність визначення Бен з використанням АДБЕ, проаналізували комерційні ЛЗ від болю в горлі таблетки “Доритрицин” (Dorithricin®) і пастилки “Септолете Плюс” (Septolete plus menthol), а також розчин на основі екстрактів лікарських трав від запальних захворювань ротової порожнини Herbadent® (Додаток В). Допоміжні речовини цих ЛЗ – малорозчинні, їх можна відокремити фільтруванням. Складна матриця цих ЛЗ може впливати на аналітичний сигнал Бен порівняно зі стандартним водним розчином Бен. Тому вміст Бен доцільно визначати методом добавок [10].

Методика аналізу таблеток “Доритрицин” і пастилок “Септолете Плюс”. Для обох ЛЗ пробу готували однаково: десять таблеток чи пастилок подрібнювали у ступці. Далі наважку 9,8 г “Доритрицину” і 4,8 г “Септолете Плюс” розчиняли в 25 мл етанолу і фільтрували через фільтрувальний папір (розмір пор 20 μm). Осад промивали на фільтрі кількома порціями етанолу. Прозорі фільтрати кількісно переносили в мірну колбу місткістю 100,0 мл і доводили до позначки етанолом. Одержали РДЗ.

Далі в електролітичну комірку вливали 10,00 мл фонового електроліту (БР-буфера з рН 4,0), 5,00 мл РДЗ “Доритрицину” або 0,25 мл РДЗ “Септолете Плюс” і записували вольтамперограму. Потім у комірку послідовно тричі додавали по 200 мкл стандартного розчину Бен (РСЗ). Після введення кожної аліквоти записували вольтамперограми. Залежність I , мкА від $C_{\text{Бен}}$, моль/л є лінійною (рис. 5.6).

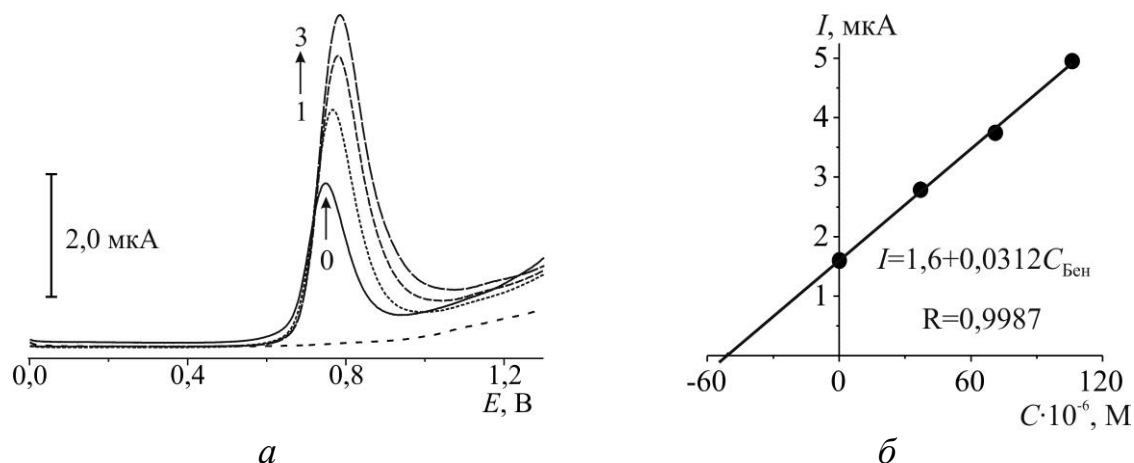


Рис. 5.6. Вигляд анодних вольтамперограм (метод ДІВ) (а) та градувальний графік (б), одержані під час аналізу льодяників “Септолете Плюс”: 0 – проба “Септолете Плюс” без стандартної добавки Бен, 1-3 – проби “Септолете Плюс” з добавками РСЗ Бен. Умови – див табл. 3.24.

Вимірювали струм окиснення Бен на АДБЕ під час аналізу таблеток “Доритрицин” та пастилок “Септолете Плюс” двома методами ДІВ і КХВ. Результати визначення Бен наведено в табл. 5.11.

Таблиця 5.11

Результати визначення Бен у таблетках “Доритрицин” та пастилках “Септолете Плюс”

ЛЗ	Вимога НД, мг/таблетку (мг/пастилку)	Результати визначення, мг/таблетку (мг/пастилку)		$Z = \frac{C_{\text{експ}}}{C_{\text{дійсн}}} \cdot 100 \%$	
		ДІВ	КХВ	ДІВ	КХВ
“Доритрицин”	1,5	1,51±0,09	1,54±0,15	101,0	102,7
“Септолете Плюс”	4,50-5,50	4,87±0,30	4,8±0,7	97,4	97,0

Методика аналізу розчину “Herbadent”. Аліквоту 2,50 мл розчину розбавили бідистильованою водою у мірній колбі місткістю 25,0 мл – одержали РДЗ. Далі в

електролітичну комірку влили 10,00 мл фонового електроліту (БР-буферу з рН 4,0), 0,40 мл РДЗ і записали вольтамперограму. Потім у комірку послідовно тричі додавали по 200 мкл стандартного розчину Бен (РСЗ). Після введення кожної аліквоти РСЗ записували вольтамперограми. Результати визначення Бен у ЛЗ “Herbadent” подано в табл. 5.12.

Таблиця 5.12

Результати визначення Бен у розчині “Herbadent”

Вимога НД, мг/25 мл розчину	Результати визначення, мг/25 мл розчину		$Z = \frac{C_{\text{експ}}}{C_{\text{дійсн}}} \cdot 100 \%$	
	ДІВ	КХВ	ДІВ	КХВ
62,5	$65,3 \pm 3,7$	$62,9 \pm 2,0$	104,5	100,6

5.7.3. Визначення бензокаїну за окисненням на АДБЕ у сечі

Зразки сечі людини, яка не використовувала Бен, брали у здорового добровольця (жінка, 32 роки, не курить) натще в день експерименту. Під час експерименту і за кілька днів до цього доброволець не вживала жодних лікарських чи мультивітамінних препаратів [10].

Як було зазначено в п. 5.7.1, дослідження селективності виявило збільшення струму за потенціалу окиснення Бен за наявності сечової кислоти навіть у разі їхніх еквімолярних концентрацій. Тому для надійного визначення Бен зразок сечі розбавляли, як це описано далі. 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. 5.7).

Методика визначення бензокаїну у сечі. В електролітичну комірку влили 10,00 мл фонового електроліту (БР-буфера з рН 4,0), 1,0 мл сечі і записали вольтамперограму (крива «0» на рис. 5.7). Далі підготували модельний розчин: у комірку ввели 220 мкл РСЗ, так що концентрація Бен у кінцевому розчині у комірці

становила $2,0 \cdot 10^{-6}$ моль/л. Потім послідовно тричі додавали у комірку по 200 мкл РСЗ Бен. Після введення кожної аліквоти РСЗ записували вольтамперограми. Визначення виконали для двох модельних зразків. У другому зразку концентрація Бен становила $4,0 \cdot 10^{-6}$ моль/л. Результати визначення Бен у сечі наведено в табл. 5.13.

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

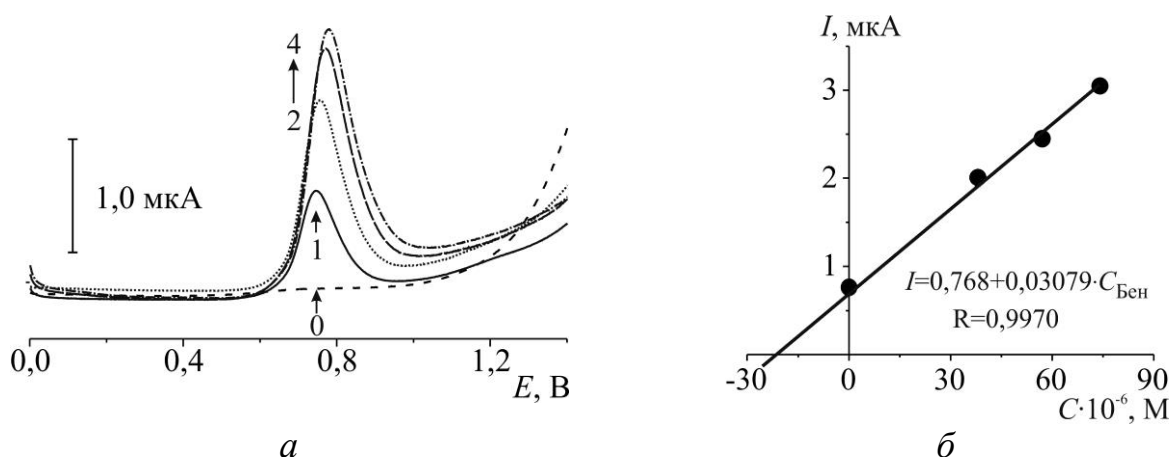


Рис. 5.7. Вигляд анодних вольтамперограм (метод ДІВ) (а) та градувальний графік (б), одержані під час аналізу модельного зразка сечі: 0 – проба сечі без добавки Бен, 1 – модельний розчин сечі, який містить $2,0 \cdot 10^{-6}$ моль/л Бен; 2-4 – модельні розчини сечі з добавками РСЗ Бен. Умови – див табл. 3.24.

Таблиця 5.13

Результати визначення Бен у модельних зразках сечі.

Уведено Бен, мкмоль/л	Результати визначення, мкмоль/л		$Z = \frac{C_{\text{експ}}}{C_{\text{дійсн}}} \cdot 100 \%$	
	ДІВ	КХВ	ДІВ	КХВ
2,0	$2,08 \pm 0,10$	$1,97 \pm 0,19$	104,0	98,5
4,0	$3,84 \pm 0,28$	$4,03 \pm 0,12$	96,0	100,8

Очевидно, що певні проблеми селективності можуть виникнути під час визначення Бен у реальних пробах сечі після прийому пацієнтом дози Бен у ліках. У такому разі для поліпшення продуктивності аналізу, корисним буде

відокремлення Бен екстракцією та/або використання ВЕРХ з електрохімічним детектуванням.

5.8. Визначення бензокаїну та новокаїну у лікарських формах за утворенням діазо- й азосполук

Методики полярографічного визначення Бен та Нов у формі їхніх діазосолей та азосполук порівняно тривалі, потребують затрати великого набору різних реактивів. Тому ми перевірили відтворюваність експериментальних даних, порівнюючи параметри градувальних графіків, одержаних з великим часовим інтервалом (табл. 5.14 – 5.15). Розчини для градування готували так, як описано п. 4.1.1. (діазосполуки) і п. 4.3.2. (азосполуки).

Таблиця 5.14

Параметри градувальних графіків визначення Бен та Нов у формі діазосолей.

Параметри графіка	Бен		Нов	
	лютий 2017	листопад 2015	лютий 2017	жовтень 2016
a	$-7,2 \cdot 10^{-2}$	$-9,4 \cdot 10^{-2}$	$-9,1 \cdot 10^{-2}$	$-9,0 \cdot 10^{-2}$
b	$2,5 \cdot 10^4$	$2,1 \cdot 10^4$	$2,05 \cdot 10^4$	$2,09 \cdot 10^4$
SD	$4,17 \cdot 10^{-2}$	$1,32 \cdot 10^{-2}$	$1,91 \cdot 10^{-2}$	$1,83 \cdot 10^{-2}$
LOQ, моль/л	$5,28 \cdot 10^{-6}$	$5,07 \cdot 10^{-6}$	$5,50 \cdot 10^{-6}$	$5,39 \cdot 10^{-6}$
R	0,99447	0,99916	0,99826	0,99836

Таблиця 5.15

Параметри градувальних графіків визначення Бен та Нов у формі азосполук з резорцином

Параметри графіка	Бен		Нов	
	лютий 2017	жовтень 2016	лютий 2017	грудень 2016
a	$1,9 \cdot 10^{-2}$	$1,2 \cdot 10^{-2}$	$1,07 \cdot 10^{-2}$	$2,2 \cdot 10^{-2}$
b	$5,8 \cdot 10^4$	$5,3 \cdot 10^4$	$5,8 \cdot 10^4$	$4,7 \cdot 10^4$
SD	$2,0 \cdot 10^{-2}$	$2,0 \cdot 10^{-2}$	$1,1 \cdot 10^{-2}$	$2,4 \cdot 10^{-2}$
LOQ, моль/л	$2,8 \cdot 10^{-6}$	$3,0 \cdot 10^{-6}$	$2,1 \cdot 10^{-6}$	$3,2 \cdot 10^{-6}$
R	0,99696	0,99621	0,99858	0,99834

Параметри градувальних графіків для діазосолей та азосполук з резоцином, одержаних з великим часовим інтервалом, добре узгоджуються між собою, особливо параметр b , який свідчить про однакову інструментальну чутливість визначення. Отже, Бен та Нов можна визначати полярографічно у формі діазо- чи азосполук способом твердого графіка.

5.8.1.Селективність визначення Бен та Нов у лікарських засобах з використанням реакцій діазотування й азосполучення

Вплив потенційно заважаючих речовин, які можуть бути наявні у ЛЗ, досліджували за допомогою розроблених процедур в оптимальних експериментальних умовах (п. 4.1.1 і п. 4.3.2). Визначенню Бен та Нов не заважають більшість неорганічних іонів, 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 лікарських засобів, які можуть сполучатися з діазосолями Бен та Нов, зокрема, саліцилова кислота, глюкоза.

Етанол є компонентом деяких лікарських засобів, до складу яких входять АН, зокрема, розчин “Меновазин” – це водно-спиртовий розчин Бен і Нов. Тому постало завдання вивчення впливу етанолу на аналітичний сигнал за запропонованою методикою. Внаслідок додавання етанолу пік відновлення діазосолі Бен зсувається в катодну ділянку потенціалів, струм при цьому зменшується (табл. 5.16). Однак за постійного вмісту етанолу залежність струму відновлення діазосолі від концентрації анестетика залишається лінійною (рис. 5.8) і описується рівнянням:

$$I = (0,054 \pm 0,012) + (1,25 \pm 0,03) \cdot 10^4 \cdot C_{\text{Бен}} \quad \text{з} \quad R = 0,9987; \quad \text{LOQ} = 2,04 \cdot 10^{-6} \text{ моль/л.}$$

Таблиця 5.16

Вплив умісту етанолу на струм та потенціал відновлення діазосолі Бен.

Умови діазотування див. табл. 4.4

ϕ (C ₂ H ₅ OH), %	0	4	20	30	40	60	70
$-I$, мкА	1,00	1,00	0,92	0,67	0,37	0,20	0,12
$-E$, В	0,16	0,16	0,16	0,18	0,19	0,20	0,21

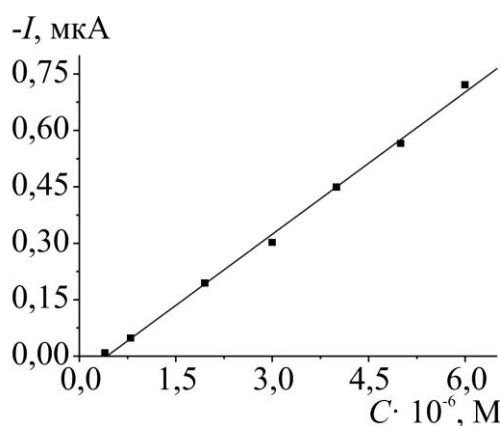


Рис. 5.8. Градувальний графік визначення Бен у водно-етанольному розчині, $\phi(C_2H_5OH) = 40 \%$. Умови див. табл. 4.4.

5.8.2. Визначення Бен та Нов у лікарських засобах з використанням реакцій діазотування й азосполучення

Методика визначення Нов у розчині для ін'єкцій. Використовували розчин для ін'єкцій корпорації “Артеріум” ПАТ “Галичфарм” (Додаток В) РДЗ готували так само, як описано в п. 5.6: вміст ампули переносили у склянку, мірною піпеткою відбирали 1,00 мл розчину, переносили в мірну колбу місткістю 50,0 мл, розводили водою до позначки і перемішували. Далі у мірну колбу місткістю 25,0 мл вносили 0,5 мл РДЗ і одержували розчин діазосолі Нов, за методикою, описаною в п. 4.1.1, а розчин азосполуки з резорцином – як у п. 4.3.2. Реєстрували відповідні полярограми, вміст Нов обчислювали з використанням параметрів градувальних графіків (табл. 5.14 – 5.15), а також методом добавок. Для методу добавок у мірну колбу місткістю 25,0 мл вливали 0,2-0,5 мл РДЗ, потім аліквоту 0,15 або 0,20 мл РСЗ Бен і далі всі необхідні реактиви за методикою. Результати визначення Нов у розчинах для ін'єкцій показано в табл. 5.16.

Таблиця 5.16

Результати визначення Нов у розчинах для ін'єкцій

Вимога НД, мг/мл (%)	Зазначено в сертифікаті, мг/мл	Результати визначення, мг/мл	
		методом град. графіка	методом добавок
19-21 (95-105)	19,8	за утворенням діазосполук	
		19,69± 0,19	19,7± 0,9
		за утворенням азосполук	
		19,6± 0,5	18,9± 0,7

Методика визначення Бен у таблетках “Фарисіл”

Таблетки “Фарисіл” – комбінований антисептичний препарат для місцевого застосування при інфекційно-запальних захворюваннях порожнини рота та горла (додаток В). Пробу “Фарисілу” (РДЗ) готували так само, як описано в п. 5.6. Далі у мірну колбу об'ємом 25,0 мл вносили аліквоту 0,5-0,8 мл РДЗ, одержували розчини діазосолі Бен, за методикою, описаною в п. 4.1.1, а розчини азосполук з резорцином – як у п. 4.3.2. Реєстрували відповідні полярограми, вміст Бен обчислювали з використанням параметрів градувальних графіків (табл. 5.14 - 5.15), а також методом добавок. Для методу добавок у мірну колбу місткістю 25,0 мл вливали 0,5 мл РДЗ, потім аліквоту 0,20 або 0,30 мл РСЗ Бен і далі всі необхідні реактиви за методикою. Результати визначення Бен у таблетках “Фарисіл” показано в табл. 5.17.

Таблиця 5.17

Результати визначення Бен у таблетках “Фарисіл”

Вимога НД, мг/таблетку (%)	Зазначено в інструкції з використання, мг/таблетку	Зазначено в сертифікаті якості, мг/таблетку	Результати визначення, мг/таблетку	
			метод граду- вального графіка	метод добавок
4,75-5,25 (95-105)	5,00	5,23	за утворенням діазосполук	
			4,96± 0,15	4,98± 0,23
			за утворенням азосполук	
			5,16± 0,29	4,9± 0,7

Як видно з результатів експерименту, при використанні реакції азосполучення погіршується повторюваність визначення Нов та Бен, надійний інтервал стає ширшим.

5.8.3. Поляррографічне визначення бензокаїну та новокаїну за їх сумісної наявності у розчинах

Поєднання двох чи більше МА в одному ЛЗ здебільшого не використовують. Однак розчин “Меновазин” містить одночасно Нов та Бен (Додаток В).

Роздільне поляррографічне визначення Бен та Нов у їхній суміші у формі діазо- чи азосполук не можливе, оскільки потенціали піків відновлення цих дериватів дуже близькі, та піки накладаються. Визначати можна сумарну кількість МА за сумуванням висот чи площ піків діазосолей чи азосполук Бен та Нов (рис. 5.9).

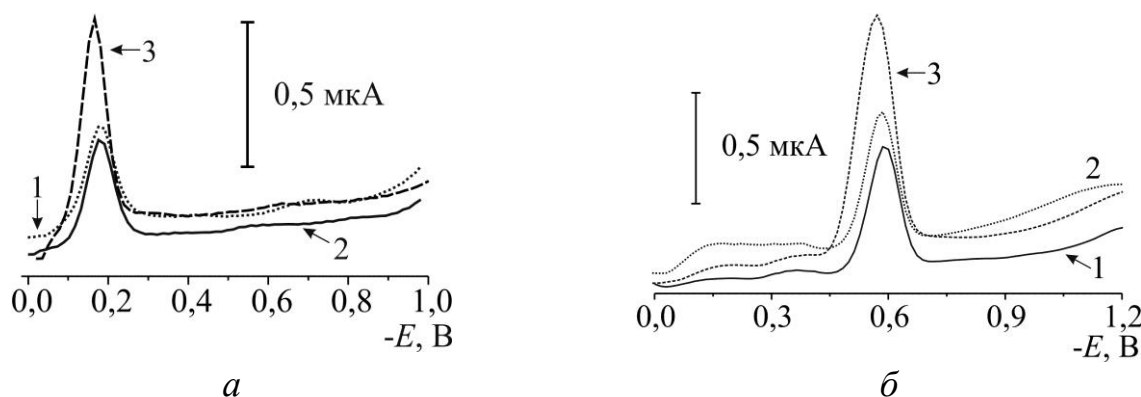


Рис. 5.9. Поляррограми у розчинах діазосолей (а) і азосполук (б) Бен (1) та Нов (2), а також у їхній суміші (3). $C_{\text{Бен}}=C_{\text{Нов}}=2,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л. Умови див. табл. 4.4 і табл. 4.9.

Для того, щоб перевірити чи можливо визначити сумарну кількість Бен та Нов, використали спосіб “уведено-знайдено”, причому використовували градуювальні графіки, одержані для чистих (індивідуальних) АН, а також метод добавок. Результати подано у таблицях 5.18 – 5.19.

Таблиця 5.18

Визначення сумарної концентрації Бен та Нов у модельних розчинах методом градуювального графіка (спосіб «уведено-знайдено»). Умови див. табл. 4.4 і 4.9.

Розчин	Уведено C , М	Знайдено C , М	Відносна похибка, $\frac{\Delta C}{C_{ув}}$, %
у формі діазосполук			
Бен	$2,63 \cdot 10^{-5}$	$2,71 \cdot 10^{-5}$	3,04
Нов	$2,40 \cdot 10^{-5}$	$2,43 \cdot 10^{-5}$	1,25
Суміш Бен + Нов	$2,0 \cdot 10^{-5} + 2,0 \cdot 10^{-5}$	$3,91 \cdot 10^{-5}$	2,25
		$4,07 \cdot 10^{-5}$	1,75
	$2,4 \cdot 10^{-5} + 1,6 \cdot 10^{-5}$	$3,96 \cdot 10^{-5}$	1,00
		$4,11 \cdot 10^{-5}$	2,75
у формі азосполук з резорцином			
Бен	$4,8 \cdot 10^{-6}$	$5,03 \cdot 10^{-6}$	4,8
Нов	$4,8 \cdot 10^{-6}$	$5,04 \cdot 10^{-6}$	5,0
Суміш Бен + Нов	$4,0 \cdot 10^{-6} + 4,0 \cdot 10^{-6}$	$7,22 \cdot 10^{-6}$	9,75
		$1,01 \cdot 10^{-5}$	6,13
	$3,2 \cdot 10^{-6} + 4,0 \cdot 10^{-6}$	$6,64 \cdot 10^{-6}$	7,76
		$6,93 \cdot 10^{-6}$	3,75

Таблиця 5.19

Визначення сумарної концентрації Бен та Нов у модельних розчинах методом добавок (спосіб «уведено-знайдено»). Умови див. табл. 4.4 і 4.9

Концентрація компонентів у суміші Бен + Нов C, M	Уведено добавки C, M	Знайдено C, M	Відносна похибка, %
у формі діазосполук			
$1,0 \cdot 10^{-5} + 1,0 \cdot 10^{-5}$	$1,0 \cdot 10^{-5}$ Нов	$1,94 \cdot 10^{-5}$	3,0
$1,2 \cdot 10^{-5} + 0,8 \cdot 10^{-5}$	$1,2 \cdot 10^{-5}$ Бен	$1,91 \cdot 10^{-5}$	4,5
$0,8 \cdot 10^{-5} + 1,2 \cdot 10^{-5}$	$8 \cdot 10^{-6} + 8 \cdot 10^{-6}$ Бен + Нов	$1,92 \cdot 10^{-6}$	4,0
у формі азосполук з резорцином			
$4 \cdot 10^{-6} + 4 \cdot 10^{-6}$	$2,4 \cdot 10^{-6}$ Нов	$7,1 \cdot 10^{-6}$	11,25
$2 \cdot 10^{-6} + 2 \cdot 10^{-6}$	$2,0 \cdot 10^{-6}$ Бен	$4,4 \cdot 10^{-6}$	10,0
$4 \cdot 10^{-6} + 4 \cdot 10^{-6}$	$4 \cdot 10^{-6} + 4 \cdot 10^{-6}$ Бен + Нов	$8,6 \cdot 10^{-6}$	7,5

Як видно з результатів експерименту, визначати сумарну концентрацію Бен та Нов можна двома способами: за допомогою градуювального графіка та методом добавок. Проте меншу відносну похибку визначення МА було отримано у разі використання реакцій діазотування. Переведення в азосполуки потребує більше затрат реактивів і є тривалішим у часі. Як наслідок, погіршується повторюваність визначення АН (збільшується стандартне відхилення) і розширюється надійний інтервал.

Використання полярографічної методики визначення МА спрощує аналіз комбінованих лікарських засобів та дає можливість визначати сумарні концентрації компонентів (рис. 5.10), що є перевагою поряд з відомими методами визначення анестетиків.

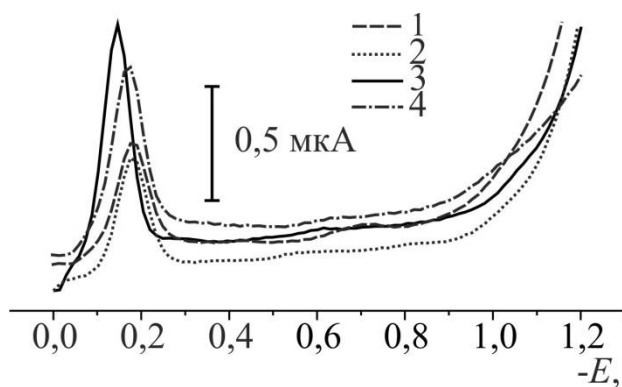


Рис. 5.10. Полярограми у розчинах діазосолі Бен (1), діазосолі Нов (2), суміші діазосолей Бен і Нов (3), а також у розчині “Меновазин” (4). Умови див. у табл. 4.1.

5.9. Валідація методик полярографічного визначення лідокаїну і мепівакаїну у розчинах для ін'єкцій з використанням Оксону

Розчин досліджуваного зразка лідокаїну (РДЗ Лд) готували так: вміст десяти ампул змішували у склянці, мірною піпеткою відбирали 2,0 мл розчину, переносили в мірну колбу місткістю 100,0 мл, розбавляли водою до позначки і перемішували. Під час перевіряння внутрішньолaborаторної прецизійності методики кількісного визначення вміст двох ампул змішували у склянці, мірною піпеткою відбирали 2,00 мл розчину, переносили в мірну колбу місткістю 100,0 мл і розбавляли водою до позначки. Концентрація такого РДЗ становить $1,50 \cdot 10^{-3}$ моль/л [11].

Розчин досліджуваного зразка мепівакаїну (РДЗ Меп) готували так: вміст двох ампул змішували у склянці, мірною піпеткою відбирали 2,00 мл розчину, переносили в мірну колбу місткістю 100,0 мл і розбавляли водою до позначки. Концентрація такого РДЗ становить $2,10 \cdot 10^{-3}$ моль/л.

Максимально допустима невизначеність результату аналізу Δ_{As} у розчині для ін'єкцій лідокаїну гідрохлориду і мепівакаїну гідрохлориду при допусках вмісту $B = 5\%$ обчислена за рівнянням (2.6) згідно з [12-14] становить:

$$\Delta_{As} \leq B \cdot 0,32 = 5 \cdot 0,32 = 1,6 \%$$

Невизначеність пробопідготовки Δ_{SP} обчислювали на підставі методики пробопідготовки стандартного зразка і досліджуваного розчину, а також виконання аналітичної реакції визначення, за рівнянням (2.7).

Таблиця 5.20

Результати обчислення невизначеності пробопідготовки для визначення Лд і Меп у розчинах для ін'єкцій

№ п/п	Операція пробопідготовки	Параметр розрахункової формули	Невизначеність за [15]	
			РСЗ	РДЗ
1	Відбір наважки стандартного зразка	m_0	0,14%	-
2	Відбір аліквоти піпеткою 2 мл	2	0,5%	
3	Доведення до об'єму в мірній колбі 100 мл	100	0,12%	
4	Відбір аліквоти піпеткою 1 мл	1	0,6%	
5	Доведення до об'єму в мірній колбі 25 мл	25	0,23%	

$$\Delta_{SP} = \sqrt{0,14^2 + 2 \cdot 0,12^2 + 2 \cdot 0,5^2 + 2 \cdot 0,6^2 + 2 \cdot 0,23^2} = \sqrt{1,3742} = 1,17 \% .$$

Невизначеність кінцевої аналітичної операції розраховували за формулою:

$$\Delta_{FAO} = 1,65 \cdot \sqrt{\frac{2 \cdot S_I^2}{3}},$$

де $S_I = 0,1 \%$ – невизначеність вимірювання струму (за паспортом приладу).

$$\Delta_{FAO} = 1,65 \cdot \sqrt{\frac{2 \cdot 0,1^2}{3}} = 0,08 \%$$

Невизначеність пробопідготовки та невизначеність кінцевої аналітичної операції становлять повну невизначеність результатів аналізу Δ_{As} :

$$\Delta_{As} = \sqrt{(\Delta_{SP})^2 + (\Delta_{FAO})^2} = \sqrt{1,17^2 + 0,08^2} = 1,17 \% \leq 1,6 \% .$$

Обчислене значення повної невизначеності результатів аналізу не перевищує максимально допустимої невизначеності результатів аналізу і свідчить про те, що пробопідготовка та вимірювання аналітичного сигналу не вносять вагомої похибки в результати аналізу.

Валідаційну характеристику робастності частково дослідили під час розроблення методик полярографічного визначення Лд і Меп у формі їх N-оксидів. Це – вплив рН на повноту окиснення, вплив температури і тривалості окиснення, надлишку окиснювача, рН розчину для полярографування, природи буферного

розчину. Результати дослідження робастності методики під час валідації полярографічного визначення наведено у табл. 5.21. Отримані результати засвідчують, що зміна значень струму відновлення N-оксидів Лд і Меп зі зміною досліджуваних чинників є незначущою порівняно з максимально допустимою невизначеністю результатів аналізу. Отже, методика є стійкою, а результати аналізу – надійними за незначних змін умов аналізу.

Таблиця 5.21

Результати дослідження робастності методики полярографічного визначення Лд і Меп. Для 1 – $C_{РДЗ\ Лд} = 4,5 \cdot 10^{-5}$ М, для 2-4 – $C_{РДЗ\ Лд} = 3,8 \cdot 10^{-5}$ М; $C_{РДЗ\ Меп} = 2,8 \cdot 10^{-5}$ М

№	Чинник	Межі зміни чинника	Струм I, мкА	Обчислене відхилення, %
Лд				
1.	рН полярографованого розчину	2,8	0,600	0,40
		2,9	0,599	
		3,0	0,601	
		3,1	0,600	
		3,2	0,602	
2.	Тривалість окиснення, хв	5	0,506	0,47
		7	0,506	
		9	0,508	
		11	0,505	
		15	0,507	
3.	Температура окиснення, °С	15	0,507	0,38
		18	0,506	
		20	0,508	
		25	0,506	
		28	0,506	
4.	Стабільність полярографованого розчину у часі, хв	5	0,504	0,48
		10	0,505	
		20	0,507	
		30	0,506	
		60	0,505	
Меп				
	рН полярографованого розчину	2,8	0,428	0,82
		2,9	0,427	
		3,0	0,428	
		3,1	0,431	
		3,2	0,430	

Для дослідження лінійності приготували розбавленням з РСЗ дев'ять модельних розчинів в межах діапазону застосування методики (від 80 % до 120 % відносно номінального вмісту Лд чи Меп у розчині для ін'єкцій) (табл. 5.22, рис. 5.11).

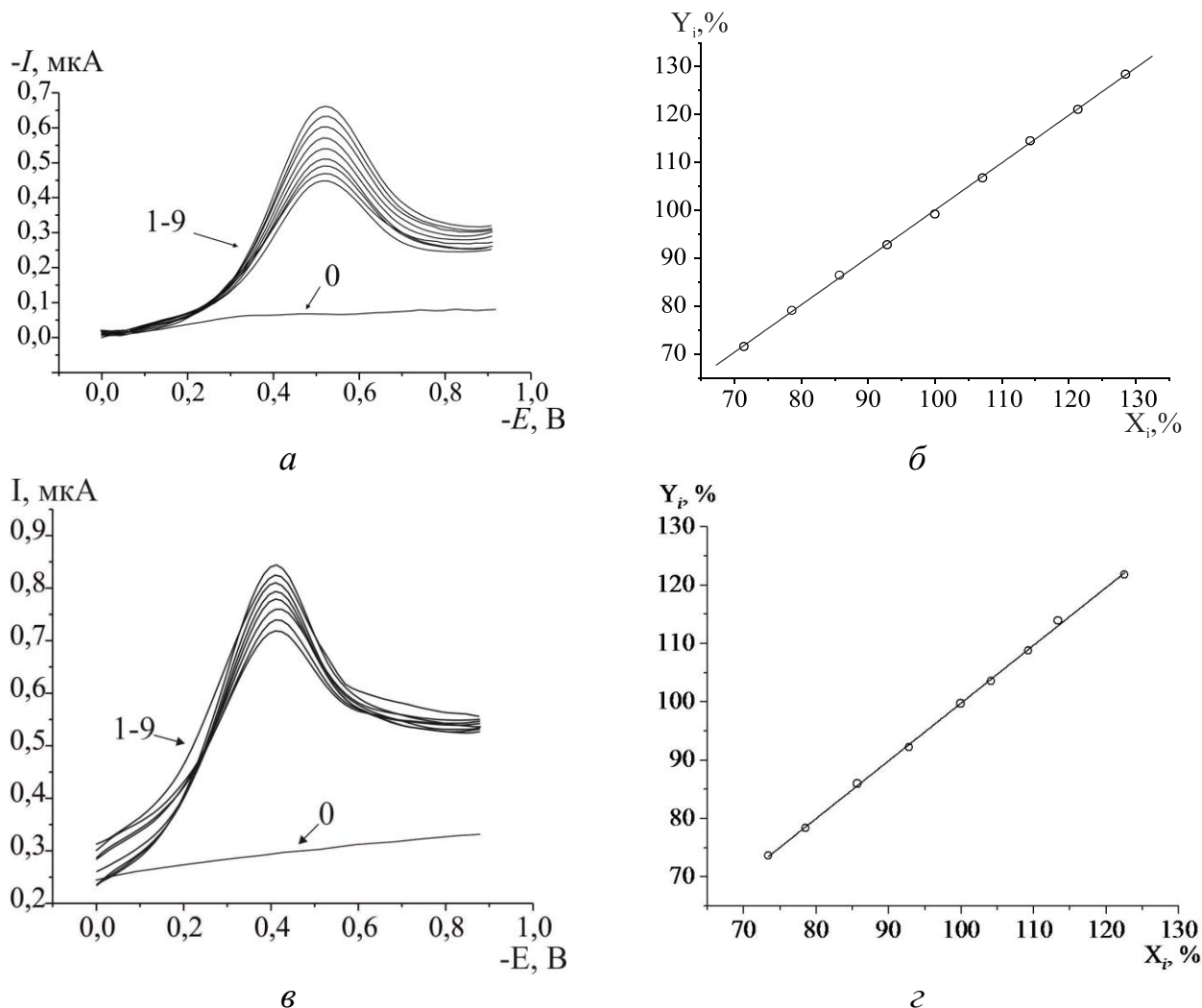


Рис. 5.11. Полярограми (*a*, *в*) і графіки залежностей струму від концентрації в нормованих координатах (*б*, *г*) для Лд (*a*, *б*) і Меп (*в*, *г*): 0 – фонові лінії за відсутності анестетика у розчині; 1-9 – полярограми у розчинах.

У табл. 5.23 наведено обчислені за [14-15] параметри лінійної залежності, правильності і прецизійності для визначення Лд і Меп в розчинах для ін'єкцій, а також критерії лінійності, правильності і прецизійності.

Таблиця 5.22.

Результати аналізу модельних розчинів Лд та Меп.

№ модельного розчину	Введено РСЗ V, мл	Концентрація модельного розчину, $C \cdot 10^{-5}$, М	Введено, $X_i = \frac{C_i}{C_{cm}} \cdot 100 \%$	Значення струму I, мкА	Знайдено, $Y_i = \frac{I_i}{I_{cm}} \cdot 100 \%$	Знайдено у % до уведеного $Z_i = \frac{Y_i}{X_i} \cdot 100$
Лд						
1	0,50	2,77	71,39	0,370	71,57	100,25
2	0,55	3,05	78,53	0,409	79,11	100,74
3	0,60	3,32	85,67	0,447	86,46	100,92
4	0,65	3,60	92,81	0,480	92,84	100,03
5	0,70	3,88	99,95	0,513	99,23	99,28
6	0,75	4,16	107,09	0,552	106,77	99,70
7	0,80	4,43	114,23	0,592	114,51	100,24
8	0,85	4,71	121,37	0,626	121,08	99,76
9	0,90	4,99	128,51	0,664	128,44	99,94
Меп						
1	0,50	2,77	73,39	0,336	73,63	100,32
2	0,55	3,04	78,53	0,358	78,40	99,83
3	0,60	3,32	85,67	0,392	85,96	100,34
4	0,65	3,60	92,81	0,421	92,23	99,37
5	0,70	3,88	99,95	0,455	99,73	99,78
6	0,75	4,16	104,09	0,472	103,54	99,47
7	0,80	4,43	109,23	0,496	108,78	99,59
8	0,85	4,71	113,37	0,520	113,94	100,50
9	0,90	4,99	122,51	0,555	121,80	99,42

Таблиця 5.23

Результати перевіряння лінійності, правильності і прецизійності визначення

Лд і Меп в розчинах для ін'єкцій

Параметр	Значення	Критичні значення	Висновок
Лд			
Лінійність			
Кутовий коефіцієнт лінійної залежності b	0,9884		
S_b	0,0079		
Вільний член лінійної залежності a	1,2129	2,6	
S_a	0,8056	—	
Залишкове стандартне відхилення S_0	0,4384	0,84	Витримано
Коефіцієнт кореляції методики r	0,99978	—	
Критерій лінійного коефіцієнту кореляції R_c	0,99974	0,99810	Витримано
Правильність і прецизійність			
Середнє значення Z , %	100,10		
Відносне стандартне відхилення S_z , %	0,51		
Відносний надійний інтервал	0,95	1,6	Витримано
$\Delta_{As}\% = t(95\%, 8) \cdot S_z$			
Систематична похибка δ	0,10	0,51	Витримано
Меп			
Лінійність			
Кутовий коефіцієнт лінійної залежності b	0,9899		
S_b	0,0096		
Вільний член лінійної залежності a	0,8135	2,6	
S_a	0,9486	—	
Залишкове стандартне відхилення S_0	0,4462	0,84	Витримано
Коефіцієнт кореляції методики r	0,9997	—	
Критерій лінійного коефіцієнту кореляції R_c	0,9996	0,99810	Витримано
Правильність і прецизійність			
Середнє значення Z , %	99,85		
Відносне стандартне відхилення S_z , %	0,4358		
Відносний надійний інтервал	0,81	1,6	Витримано
$\Delta_{As}\% = t(95\%, 8) \cdot S_z$			
Систематична похибка δ	0,15	0,51	Витримано

Використовуючи параметри лінійності S_a і b можна оцінити межу виявлення (C_{\min} , MB, LOD) і межу кількісного визначення (C_n , MBK, LOQ) за рівняннями (2.4) і (2.5).

Для лінійної залежності в нормованих координатах значення C_{\min} і C_n обчислені у відсотках до концентрації розчину порівняння, що дає змогу оцінити певний “запас надійності” методики. Отже,

$$\text{для Лд } C_{\min} = 3,3 \cdot \frac{0,8056}{0,9884} = 2,69 \% \text{ і } C_n = 10 \cdot \frac{0,8056}{0,9884} = 8,15 \% ,$$

$$\text{а для Меп } C_{\min} = 3,3 \cdot \frac{0,9486}{0,9899} = 3,16 \% \text{ і } C_n = 10 \cdot \frac{0,9486}{0,9899} = 9,58 \% ,$$

що істотно менше нижнього діапазону концентрацій (80 %), тому не впливає на точність аналізу.

Для дослідження внутрішньолaborаторної прецизійності аналізували по п'ять зразків для однієї серії препарату на двох різних вольтамперометричних установках (табл. 5.24, досліди 1 і 2) у різні дні в одній лабораторії, а також два різних аналітики (досліди 2 і 3), які використовували різний посуд. Для всіх результатів обчислювали єдине середнє значення вмісту АН (Z), відносне стандартне відхилення (SD_z) і відносний надійний інтервал (Δ_{intra}) згідно з [12-15].

Значення Δ_{intra} становить:

$$\text{для Лд } \Delta_{intra} \leq \max \delta = 1,16 \% \leq 1,6 \% ,$$

$$\text{а для Меп } \Delta_{intra} \leq \max \delta = 1,12 \% \leq 1,6 \% ,$$

що відповідає вимозі і підтверджує те, що розроблена методика відповідає вимогам валідаційних критеріїв, і придатна для кількісного визначення гідрохлоридів Лд чи Меп у розчинах для ін'єкцій.

Таблиця 5.24

Результати перевіряння внутрішньолaboratorної прецизійності методики
кількісного визначення Лд і Меп в розчинах для ін'єкцій

Номер розчину	Значення Z_i , %		
	Дослід 1	Дослід 2	Дослід 3
Лд			
1	100,54	99,06	100,52
2	99,90	99,70	99,28
3	100,15	100,55	98,87
4	99,38	99,36	100,25
5	98,90	98,91	99,76
Середнє	99,77	99,51	99,73
Об'єднане середнє Z_{intra}	99,67		
S_z , %	0,64	0,65	0,68
SD_z , %	0,68		
Δ_{intra}	1,16		
Меп			
1	100,45	99,56	100,52
2	99,80	99,60	99,48
3	100,25	100,55	98,87
4	99,58	99,33	100,35
5	98,90	98,81	99,76
Середнє	99,80	99,57	99,80
Об'єднане середнє Z_{intra}	99,72		
S_z , %	0,64	0,63	0,67
SD_z , %	0,64		
Δ_{intra}	1,12		

ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 5

Розроблено нові методики полярографічного визначення МА, для яких характерні широкі межі лінійності (1,5-2 порядки), низька межа визначення (на рівні 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 за економічною ефективністю (тривалість аналізу, кількість використаних реактивів) процедури визначення цих АН ліпші з використанням реакції окиснення [16].

Особливо високі метрологічні характеристики отримано для методики визначення Бен за струмом окиснення на АДБЕ [10].

У табл. 5.25 на прикладі Бен і Лд наведено коротку порівняльну характеристику розроблених методик визначення цих АН з відомими у літературі, у тім числі у ДФУ. Зауважимо, що в новій редакції ДФУ [14] немає статті на готову лікарську форму (розчин для ін'єкцій).

Отже, метрологічні характеристики нових методик не поступаються стандартним методикам, а за своїми межами визначення та селективністю переважають існуючі 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 для деяких хроматографічних методик.

Нові методики перевірено під час аналізу однокомпонентних розчинів для ін'єкцій, комбінованих лікарських засобів: спиртового розчину “Меновазин”, вушних крапель “Отипакс”, таблеток “Фарисіл” і “Доритрицин”, пастилок “Септолете Плюс” і “Стрепсілс Плюс”, мазі “Левосин”, розчину “Herbadent”, а також на модельних зразках слини і сечі людини. Результати аналізу ліків порівнювали з результатами випробувальних лабораторій Державної адміністрації України з лікарських засобів. Результати показують, що наші методики не обтяжені значними матричними перешкодами.

Таблиця 5.25.

Порівняння розроблених нами методик визначення Бен і Лд (відокремлено подвійною лінією) з деякими відомими з літератури

АН	Пробо- підготовка	Метод*	Об'єкт аналізу	Межа виявлення	Літ-ра
Лд	—	потенціометричне титрування	субстанція	—	14
Лд	—	абсорбційна спектрофотоме- трія, $\lambda_{\max}=263\text{nm}$	ін'єкційні розчини	—	17
Лд	—	непряма йодометрія	субстанція, ін'єкційні розчини	100 ppm	18
Лд	екстракція	ВЕРХ-МС	людська сироватка	0,012 ppb	19
Бен	—	нітритометричне титрування	субстанція	—	14
Лд Бен	екстракція	ВЕРХ-МС	косметичні креми, аерозоль	0,05 ppm 0,01 ppm	20
Бен	—	ВЕРХ-АД (ВПЕ)	ЛЗ	0,33 ppm	21
Лд	—	ЦВА (МІП/СВЕ)	Сироватка крові щура	0,016 ppb	22
Лд	окиснення Оксоном	ЦВА (р.к.е)	ЛЗ	0,32 ppm	1
	осадження білків	ЦВА (р.к.е)	слина	1,14 ppm	7
Бен	—	ДІВ (АДБЕ) КХВ(АДБЕ)	ЛЗ, сеча	0,013 ppm 0,017 ppm	10
	окиснення Оксоном	ЦВА (р.к.е)	ЛЗ	0,09 ppm	9

Методики визначення Лд і Меп у розчинах для ін'єкцій валідовано [11] згідно з ДФУ. Результати валідаційної оцінки підтвердили коректність напрацьованих методик. Методики вольтамперометричного визначення Лд, Нов та Бен у розчинах для ін'єкцій апробовано та впроваджено у практику в Національній референс-лабораторії з контролю залишкових кількостей діючих речовин ветеринарних препаратів та кормових добавок у Державному науково-дослідному контрольному інституті ветеринарних препаратів та кормових добавок (Додаток Г).

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

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Plotycya S. Determination of local anesthetics of amide group in pharmaceutical preparations by cyclic voltammetry / S. Plotycya, L. Dubenska, M. Blazheyevskiy, [et al.] // *Electroanalysis*. – 2016. – V. 28, No. 10. – P. 2575-2581.
2. Stachniuk J. A versatile method for analysis of saliva, plasma and urine for total thiols using HPLC with UV detection / J. Stachniuk, P. Kubalczyk, P. Furmaniak, [et al.] // *Talanta*. – 2016. – Vol. 155. – P. 70-77.
3. Djordjević S. Toxicokinetics and correlation of carbamazepine salivary and serum concentrations in acute poisonings / S. Djordjević, V. Kilibarda, S. Vucinić, [et al.] // *Vojnosanit. Pregl.* – 2012. – Vol. 69. – P. 389-393.
4. Kuśmierek K. Ultraviolet derivatization of low-molecular-mass thiols for high performance liquid chromatography and capillary electrophoresis analysis / K. Kuśmierek, G. Chwatko, R. Głowacki, [et al.] // *J. Chromatogr. B.* – 2011. – Vol. 879, No. 17-18. – P. 1290-1307.
5. Физиология человека. Учебник / Т. 2 [Под ред. В.М. Покровського, Г.Ф. Коротько]. – М.: Медицина, 1997. – с. 39.
6. Евстигнеева В.П. Химико-токсикологический анализ на группу веществ, изолируемых экстракцией и сорбцией. Наркотические и другие одурманивающие средства / В.П. Евстигнеева, И.В.Шкутина, Брежнева Т.А., [и др.] – Воронеж: Воронежский государственный университет, 2004. – 47 с.
7. Dubenska L.O. Determination of lidocaine and its metabolite in saliva / L.O. Dubenska, S.I. Plotycya, M.Ye. Blazheyevskiy, [et al.] // XV Ukrainian-Polish symposium “Theoretical and experimental studies of interfacial phenomena and their technological application”, Lviv, 12-15 September 2016. – Lviv, 2016. – P.30.
8. Плотиця С. Використання пероксомоносульфату для полярографічного визначення тримекайну / 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.

9. Plotycya S. A new approach for the determination of benzocaine and procaine in pharmaceuticals by single-sweep polarography / S. Plotycya, O. Strontsitska, S. Pysarevska, M. Blazheyevskiy, L. Dubenska // *International Journal of Electrochemistry*, Hindawi Publishing Corporation. – 2018. – Vol. 2018. – Article ID 1376231 – 10 p.
10. 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. Plotycya, [et al.] // *Sensors Actuators B: Chem.* – 2018. – Vol. 270. – P. 9-17.
11. Плотиця С. Валідація методики полярографічного визначення лідокаїну в розчинах для ін'єкцій / С. Плотиця, Л. Дубенська, М. Блажеєвський, [та ін.] // *Вісн. Львів. ун-ту. Серія хім.* – 2016. – Вип. 57, Ч. 1. – С. 203-211.
12. *European Pharmacopoeia (Ph. Eur.)* / European Directorate for the Quality of Medicines. – 7th Edition. – Strasbourg: Council of Europe, 2010.
13. *The United States Pharmacopeia: USP 30; The National formulary: NF 25* / United States Pharmacopeial Convention. – Rockville MD, 2007.
14. Державна фармакопея України: в 3 т. / Держ. п-во «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2-е вид. – Харків: Держ. п-во «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014-2015.
15. Аналитическая химия в создании, стандартизации и контроле качества лекарственных средств. Т. 3. / [Под ред. В.П. Георгиевского]. – Х.: НТМТ, 2011. – 1440 с.
16. Плотиця С.І. Порівняння способів дериватизації новокаїну для його полярографічного визначення / С.І. Плотиця, М.Я. Пилипець, О.А. Стронціцька, [та ін.] // *Тези доповідей Київської конференції з аналітичної хімії. Сучасні тенденції.* Київ, 18-22 жовтня 2016 р. – Київ, 2016. – С. 128.
17. Державна фармакопея України / Держ. п-во «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 1-е вид. – Доповнення 4. –

Харків: Держ. п-во «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2011. – 540 с.

18. Блажеєвський М.Є. Кількісне визначення лідокаїну та тримекаїну за реакцією N-оксидування пероксомonosульфатною кислотою / М.Є. Блажеєвський, Я.Ю. Анацька // Фармацевтичний часопис. – 2009. – № 2. – С. 46-52.

19. Tonooka K. Sensitive liquid chromatography/tandem mass spectrometry method for the simultaneous determination of nine local anesthetic drugs / K. Tonooka, N. Naruki, K. Honma, [et al.] // Forensic Sci. Int. – 2016. – Vol. 265. – P. 182-185.

20. Jadach M. Determination of local anesthetics in illegal products using HPLC method with amperometric detection / M. Jadach, A. Blazewicz, Z. Fijalek // Acta Pol. Pharm. – 2012. – Vol. 69, No. 3. – P. 397-403.

21. Dejmekova H. Determination of benzocaine using HPLC and FIA with amperometric detection on a carbon electrode / H. Dejmekova, V. Vokalova, J. Zima, [et al.] // Electroanalysis. – 2011. – Vol. 23, No. 3. – P. 662-666.

22. Zhang J. Voltammetric lidocaine sensor by using a glassy carbon electrode modified with porous carbon prepared from a MOF, and with a molecularly imprinted polymer / J. Zhang, J. Liu, Y. Zhang, [et al.] // Microchim. Acta. – 2018. – Vol. 185. – Article 78.

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 метахлоропероксибензеновою 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 діазосоли, 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 діазосоли 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.

ДОДАТОК А

Список публікацій здобувача

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. Plotyca**, 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.** Поляррографічне визначення лідокаїну з використанням перокси-моносульфату / **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 (стендова доповідь).*

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 (усна доповідь).*

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 (усна доповідь).*

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 (усна доповідь).*

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 (усна доповідь).*

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 (усна доповідь).*

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 (стендова доповідь).*

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 (стендова доповідь).*

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 (стендова доповідь).*

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 (очна участь).

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 (стендова доповідь).*

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 (очна участь).*

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 (усна доповідь).*

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 (усна доповідь).*

ДОДАТОК Б

ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧНІ МЕТОДИ ВИЗНАЧЕННЯ МІСЦЕВИХ АНЕСТЕТИКІВ

Таблиця Б.1.

Коротка характеристика методик вольтамперометричного визначення місцевих анестетиків

МА	Метод	Робочий електрод // електрод порівняння	Об'єкти аналізу	LOD, М	Е _p , В	Літ-ра *
1	2	3	4	5	6	7
Новокаїн	ДІВ	ПМ ВПЕ // НКЕ	Ін'єкційні зразки, сеча	$5 \cdot 10^{-8}$	+0,98	74
	ЛВА	БВНТ-СВЕ // НКЕ	ЛЗ	$2 \cdot 10^{-7}$	+0,75	84
	FIA АД	ДВЕ // Ag/AgCl	ЛЗ	$6 \cdot 10^{-6}$	+0,8	101
	ДІВ	НМСВЕ // НКЕ	Ін'єкційні розчини, сироватка крові кроля	$7 \cdot 10^{-9}$	+0,94	90
	ДІВ	ГПЕ // НКЕ	Ін'єкційні зразки, плазма крові кроля і щура	$5 \cdot 10^{-8}$	+0,95	75
	ЦВА	ад-АДБЕ // НКЕ ао-АДБЕ // НКЕ	—	$5 \cdot 10^{-7}$ —	+1,037 +1,024	78
	ДІВ	ПАСК/БСКНТс/СВЕ // НКЕ	Ін'єкційні зразки	$2,5 \cdot 10^{-8}$	+0,84	87
	ДІВ	МІП-СВЕ // НКЕ	Сироватка крові людини	$1,02 \cdot 10^{-8}$	+0,87	94
Лідокаїн	ЦВА	МІП/ПВ/ СВЕ // НКЕ	Сироватка крові щура	$6,7 \cdot 10^{-14}$		93
	КХВ	АДБЕ // Ag/AgCl	ЛЗ	10 ppb	+1,68	80
	ДІВ, ЦВА	Au/МКК/Нб // НКЕ	—	$2,9 \cdot 10^{-7}$	+1,53	95
	КХВ	CuO-ВПЕ // Ag/AgCl	ЛЗ	$3,9 \cdot 10^{-4}$	+0,8	83
	ЦВА	МІП сенсор (I) // НКЕ	Сеча і сироватка крові людини	$1,0 \cdot 10^{-10}$	+0,78 +0,94	92
	ДІВ	ВПЕ/КТ-вГО // Ag/AgCl ВПЕ/КТ-ГО // Ag/AgCl	—	$9,2 \cdot 10^{-8}$ $1,1 \cdot 10^{-6}$	+1,0	99

* – відповідає списку літератури після Розділу 1

Продовження табл. Б.1

1	2	3	4	5	6	7
Лідокаїн	ЦВА	$\text{Cu}_2\text{V}_2\text{O}_7$ / СВЕ // НКЕ	—	-	-0,01	98
	КХВ	<i>n</i> -ХМВПЕ // НКЕ	—	$7,2 \cdot 10^{-6}$	—	85
	ЦВА	Au // Ag/AgCl	Збагачена сеча і плазма крові	0,12 ppb	—	101
	КХВ	СМВПЕ // Ag/AgCl	ЛЗ	$2,19 \cdot 10^{-6}$	+0,85	77
	КХВ	АО-АДБЕ // Ag/AgCl	ЛЗ	$3 \cdot 10^{-8}$	+1,67	81
Бензокаїн	КХВ	Капсацин-модифікований 6-БСКНТ-БППГЕ // НКЕ	—	$2,45 \cdot 10^{-6}$	—	85
		<i>n</i> -ХМВПЕ // НКЕ	—	$4,3 \cdot 10^{-6}$	—	
	ДІВ	НМСВЕ // Ag/AgCl СВЕ // Ag/AgCl	Збагачена сеча людини	$2,4 \cdot 10^{-9}$ $1,2 \cdot 10^{-8}$	+1,03 +1,18	91
	ДІВ КХВ	АДБЕ // Ag	ЛЗ, збагачена сеча	$8 \cdot 10^{-8}$ $1 \cdot 10^{-7}$	+1,0	
	FIA-АД	ДВЕ // Ag	Збагачене філе риби	$3,02 \cdot 10^{-8}$	+0,897	102
	FIA-АД ВЕРХ-АД	ВПЕ // Ag/AgCl	ЛЗ	$1,9 \cdot 10^{-7}$ $2 \cdot 10^{-7}$	-	106
	Бутакаїн	НМСВЕ // Ag/AgCl СВЕ // Ag/AgCl	Сеча	$3,6 \cdot 10^{-9}$ $1,8 \cdot 10^{-8}$	+1,17 +1,28	91
Ропівакаїн	ДІАВ ДІВ	СВЕ // Ag/AgCl	Ін'єкційні розчини	$7,79 \cdot 10^{-7}$ $1,28 \cdot 10^{-6}$	-1,0	103
Тетракаїн	ЦВА	БВНТ-СВЕ // НКЕ	Комерційні таблетки	$3,6 \cdot 10^{-8}$	+0,76	89
Трикаїн	FIA-АД	ДВЕ // Ag	Збагачене філе риби	$3,19 \cdot 10^{-8}$	+0,757	102
Пропара- каїн	КХІВ	БВНТ ВПЕ // Ag/AgCl	ЛЗ, водопровідна води	0,11 ppb	+0,9	88
Артикаїн	ЦВА	ВПЕ // Ag/AgCl	ЛЗ, сеча	$2,88 \cdot 10^{-7}$	+1,095	104

Скорочення у табл. Б.1: АД – амперметричний детектор; ад-АДБЕ – адсорбційно-депонований АДБЕ; ао-АДБЕ – анодно оброблений АДБЕ; Au/МКК/Нб – золотий електрод, модифікований 3-меркаптопропіоновою кислотою з іммобілізованим гемоглобіном; БВНТ – багатостінні ВНТ; б-БСКНТ-БПВНТ – базальний плоский піролітичний графітовий електрод, модифікований бамбукоподібною багатостінною вуглецевою нанотрубкою; БВНТ-СВЕ – багатостінні ВНТ - скловуглецевий електрод; ГО – графен оксид; вГО – відновлений графен оксид; ДВЕ – друкований вуглецевий електрод; ДІАВ – диференційна імпульсна адсорбційна вольтамперометрія; КТ – квантові точки; НМСВЕ – Нафіон-модифікований СВЕ; ПАСК/БВНТ/СВЕ – полі(амідосульфенова кислота) / багатостінні вуглецеві нанотрубки / скловуглецевий електрод; ПМ ВПЕ – модифікований пемзою вуглецевий пастовий електрод; МП-СВЕ – полімер з молекулярним відбитком - скловуглецевий електрод; МП/ПВ/СВЕ – полімер з молекулярним відбитком / пористий вуглець / скловуглецевий електрод; СМВПЕ – модифікований С18 і силікагелем вуглецевий пастовий електрод; *n*-ХМВПЕ –модифікований *n*-хлоранілом вуглецевий пастовий електрод.

ДОДАТОК В

Таблиця В.1.

Коротка характеристика використаних у роботі об'єктів аналізу ЛЗ

Наявний АН	Лікарська форма (характеристика)	Виробник	Заявлений уміст АН у цій лікарській формі (згідно з НД)	Інші речовини (згідно з НД)
1	2	3	4	5
Лд	Розчин для ін'єкцій лідокаїну гідрохлориду 20 мг/мл, по 2 мл в ампулі, по 10 ампул у контурній чарунковій упаковці	Корпорація "Артеріум", АТ "Галичфарм", Україна	20±1	
	розчин для ін'єкцій лідокаїну гідрохлориду Лідокаїн Дарниця®	Дарниця®, Україна	20 мг/мл	
	Льодяники "Стрепсілс Плюс"	Реккітт Бенкізер Хелекер Інтертейшин Лімітед, Велика Британія	1 льодяник містить 10 мг лідокаїну гідрохлориду	0,6 мг амілметакразолу, 1,2 мг 2,4 дихлорбензилового спирту; допоміжні речовини: левоментол, олія м'яти перцевої, олія анісу зірчастого, кислота винна, сахарин натрію, сахарози розчин, глюкози розчин, хіноліновий жовтий (Е 104), індигокармін (Е 132)

Продовження табл. В.1

1	2	3	4	5
Лд	Вушні краплі “Отипакс”	“BIOCODEX”, Франція	У 16 г препарату містить 0,16 г лідокаїну гідрохлориду	У 16 г препарату – 0,64 г фе-;назону, допоміжні речовини натрій тіосульфат, етанол, гліцерин, вода очищена.
Тр	Мазь “Левосин”	Червона зірка, Харків	100 г містить тримекаїну 3.0 г	100 г містить левоміцетин (1,0 г), сульфадиметоксин (4,0 г), метилурацил (4,0 г), поліетиленоксид до 100 г.
Меп	Розчин для ін'єкцій Мепівастезин, по 1,7 мл в картриджі, по 50 картриджів у жерстяній банці з пластиковою кришкою	ЗМ ЕСПЕ АГ, Німеччина	30 мг/мл	
Нов	Розчин для ін'єкцій по 2 мл в ампулі, по десять ампул у контурній чарунковій упаковці	ПАТ “Галичфарм” (корпорація “Артеріум” м. Львів, Україна)	5 мг/мл	
	Розчин для ін'єкцій по 2 мл в ампулі	ПАТ «Дарниця», м. Київ, Україна	20 мг/мл	

Продовження табл. В.1

1	2	3	4	5
Бен	Пастилки «Септолете Плюс ментол» (Septotele plus® menthol) – препарат для розсмоктування при інфекційних захворюваннях горла і ротової порожнини, запаленні ясен і слизової оболонки ротової порожнини, профілактиці інфекційних уражень горла і слизових оболонок рота під час грипу або застуди.	Krka КРКА д.д., Ново место, Словенія	5,0 мг на пастилку	Цетилпіридину хлориду 1 мг, а також допоміжні речовини левоментол, олія м'яти перцевої, мальтит рідкий, мальтит (E965), маніт (E421), гліцерин, олія рицинова, кремнію діоксид колоїдний безводний, магнію стеарат, барвник патентований синій V (E131), титану діоксид (E171), капол 600 Фарма, повідон
	Таблетки «Фарисіл» – комбінований анти-септичний препарат для місцевого застосування при інфекційно-запальних захворюваннях порожнини рота та горла	Алкала Фарма, С.Л., Мадрид, Іспанія	1 таблетка містить бензокаїну 5 мг	1 таблетка містить хлоргексидину дигідрохлориду 5 мг і допоміжні речовини: маніт (E 421), целюлоза мікрокристалічна, повідон, магнію стеарат, натрію цикламат, сахарин натрію, ароматизатор апельсина або лимона, ароматизатор ментолу

Закінчення табл. В.1

1	2	3	4	5
Бен	Herbadent®	Herbadent sro, Чеська Республіка	заявлена кількість відповідно до лікарської брошури становили 62,5 мг	
	Dorithricin® Доритрицин	Medice Pharma GmbH & Co. KG, Німеччина	1,5 мг на таблетку	1 таблетка містить тиротрицину 0,5мг, бензалконію хлориду 1 мг, сорбіт (Е420), тальк, сахарози стеарат, сахарин натрію, олія м'яти перцевої, повідон, натрію карбоксиметилцелюлоза
Бен+Нов	"Меновазин" спиртовий розчин для зовнішнього застосування, по 40 мл у флаконах	виробник – ПрАТ ФФ «Віола», Запоріжжя	1 мл розчину містить: новокаїну 0,01 г, бензокаїну 0,01 г	1 мл розчину містить: ментолу 0,025 г, 70 % етанол

Таблиця В.2.

Зовнішній вигляд використаних у роботі об'єктів аналізу ЛЗ



ДОДАТОК Г



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА УКРАЇНИ З ПИТАНЬ БЕЗПЕЧНОСТІ
ХАРЧОВИХ ПРОДУКТІВ ТА ЗАХИСТУ СПОЖИВАЧІВ
ДЕРЖАВНИЙ НАУКОВО-ДОСЛІДНИЙ КОНТРОЛЬНИЙ
ІНСТИТУТ ВЕТЕРИНАРНИХ ПРЕПАРАТІВ
ТА КОРМОВИХ ДОБАВОК

Р/р 26006000027909 у АТ "Укресімбанк"
МФО 322313, ЄДРПОУ 00485670
Україна, 79019, м. Львів, вул. Донецька, 11

Тел. (0322) 52-33-72
Факс (0322) 52-27-78
secretar@scivp.lviv.ua

29.12.2018 № 5036-9/02

На № _____ від _____

Акт впровадження

Методики вольтамперометричного визначення
лідокаїну, новокаїну та бензокаїну в розчинах для ін'єкцій

Підтверджуємо, що Національною референс-лабораторією з контролю залишкових кількостей діючих речовин ветеринарних препаратів ДНДКІ ветеринарних препаратів та кормових добавок апробовано та впроваджено в роботу методику вольтамперометричного визначення місцевих анестетиків лідокаїну, новокаїну та бензокаїну, які розроблені Плотицею С.І. в межах дисертаційної роботи, виконаної у Львівському національному університеті імені Івана Франка під керівництвом к.х.н. Дубенської Л.О.

Методики ґрунтуються на окисненні анестетиків за допомогою калій пероксимоносульфату з подальшим полярографічним відновленням одержаних дериватів. Розроблені авторами методики кількісного вольтамперометричного визначення вмісту лідокаїну, новокаїну, бензокаїну вирізняються валідністю, простотою виконання, низькою межею визначення, доступністю, невеликою вартістю реагентів і обладнання, універсальністю, експресністю, що дає змогу використовувати їх під час серійних аналізів. У перспективі напрацьовані авторами підходи можна використати як альтернативні для детектування залишкових кількостей анестетиків, а також їхніх метаболітів у біологічних рідинах після хроматографічного розділення.

Акт не є основою для фінансових розрахунків.

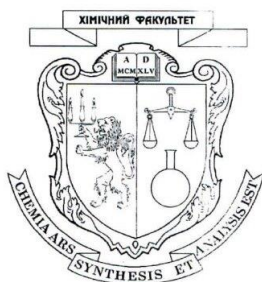
Завідувач Національної референс-лабораторії
з контролю залишкових кількостей діючих
речовин ветеринарних препаратів, к.б.н.

Заступник директора з питань наукового
забезпечення системи якості випробувань, д.с.-г.н.



Засадна. З.С.

Янович. Д.В.



МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ ІВАНА ФРАНКА

ХІМІЧНИЙ ФАКУЛЬТЕТ

79005, м. Львів, вул. Кирила і Мефодія, 6

Тел. (032) 260-03-91, 239-45-10

e-mail: chemistry.faculty@lnu.edu.ua

chemdek@lnu.edu.ua

22.06. 2020 року

Акт впровадження **методики полярографічного визначення бензокаїну**

Підтверджуємо, що методику полярографічного визначення бензокаїну 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 розроблено Плотицею С.І. в межах дисертаційної роботи, виконаної на кафедрі аналітичної хімії Львівського національного університету імені Івана Франка під керівництвом к.х.н., доц. Дубенської Л.О.

Методика полярографічного визначення бензокаїну ґрунтується на попередньому окисненні бензокаїну калій пероксимонсульфатом. Одержаний дериват відновлюється в умовах полярографії, струм відновлення прямопропорційно залежить від концентрації бензокаїну у пробі. Для методики характерні проста пробондготовка, експресність, достатня селективність аналізу.

Відповідальна за дисципліну
 “Аналіз лікарських засобів”, доц.

О.Я. Коркуна

Декан хімічного факультету, доц.



Г.С. Дмитрів