

На правах рукописи



ЧИБИСОВА Татьяна Викторовна

**ЭКСТРАКЦИЯ МЕСТНЫХ АНЕСТЕТИКОВ:
ЗАКОНОМЕРНОСТИ И ПРИМЕНЕНИЕ В АНАЛИЗЕ**

02.00.02 – Аналитическая химия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Воронеж – 2015

Работа выполнена в ФГБОУ ВПО «Воронежский государственный университет инженерных технологий»

Научный руководитель: Суханов Павел Тихонович
доктор химических наук, доцент,
ФГБОУ ВПО «Воронежский государственный университет инженерных технологий»

Официальные оппоненты:

Доронин Сергей Юрьевич
доктор химических наук, Институт химии ФГБОУ ВПО «Саратовский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского», профессор кафедры аналитической химии и химической экологии

Рудакова Людмила Васильевна
доктор химических наук, ГОУ ВПО «Воронежская государственная медицинская академия имени Н.Н. Бурденко», заведующая кафедрой фармацевтической химии и фармацевтической технологии, доцент

Ведущая организация: ФГБОУ ВПО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»

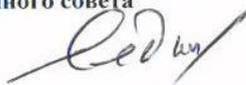
Защита диссертации состоится «01» июля 2015 г. в 15 часов 00 мин на заседании диссертационного совета Д 212.035.05 при ФГБОУ ВПО «Воронежский государственный университет инженерных технологий» по адресу: 394036, Воронеж, пр. Революции, 19, конференц-зал

Отзывы на автореферат (в двух экземплярах), заверенные гербовой печатью учреждения, просим присылать ученому секретарю совета Д 212.035.05.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФГБОУ ВПО «ВГУИТ» и в сети Интернет на сайте ФГБОУ ВПО «ВГУИТ» <http://www.vsuet.ru>. Автореферат размещен в сети Интернет на сайте Министерства образования и науки РФ: yak2.ed.gov.ru и ФГБОУ ВПО «ВГУИТ» <http://www.vsuet.ru> «29» апреля 2015 г.

Автореферат разослан «14» мая 2015 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
канд. техн. наук, доц.



Седых В.А.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы

Широкое применение местных анестетиков в фармацевтической промышленности, медицине и ветеринарии, а также возможное негативное воздействие на организм человека, обуславливает необходимость разработки экспрессных и надежных способов их извлечения и определения, в том числе селективного, в водах, лекарственных средствах, биологических объектах и пищевых продуктах.

Многокомпонентность объектов анализа обуславливает необходимость отделения местных анестетиков от мешающих и основных компонентов, составляющих матрицу анализируемого образца.

Решение задачи возможно с применением различных способов извлечения, концентрирования и разделения, в частности жидкостной экстракции. Экстракция применяется также для концентрирования исследуемых веществ из сильно разбавленных растворов. В современном химико-токсикологическом анализе экстракция рекомендуется для изолирования веществ из биологических объектов, для очистки вытяжек от примесей.

Основными преимуществами методов экстракционного концентрирования по сравнению с соответствующими безэкстракционными является высокая избирательность, возможность многократного уменьшения объема анализируемого раствора и отсутствие деструкции аналитов.

Сведения о количественных экстракционных характеристиках местных анестетиков органическими растворителями весьма ограничены. Для решения практических задач с применением жидкостной экстракции необходима разработка экстракционных систем, характеризующихся высокими количественными характеристиками (коэффициент распределения D , степень извлечения R , %), а также способов детектирования веществ непосредственно в концентрате.

Работа выполнена в соответствии с планами НИР физической и аналитической химии ВГУИТ по теме «Теоретическое обоснование, разработка инновационных решений для совершенствования технологических процессов, средств их контроля и оценки экологической безопасности (№ ГР01201253870, код ГРНТИ: 31.15.19)».

Результаты исследований включены в аннотационные отчеты научного Совета РАН по аналитической химии за 2011-2014 гг.

Цель исследования – изучение экстракции местных анестетиков из водных сред для извлечения, концентрирования и определения в объектах различной природы.

Для достижения поставленной цели решались следующие **задачи**:

- ✓ установление некоторых закономерностей экстракции анестетиков индивидуальными растворителями разных классов, их бинарными смесями, а также растворителями с добавлением сольватропных реагентов;
- ✓ обоснование новых экстракционных систем, обеспечивающих практически полное извлечение анестетиков из водных сред, полученных в результате подготовки объектов анализа;
- ✓ разработка способов определения анестетиков в концентратах при анализе водных сред и объектов со сложной многокомпонентной матрицей [фармацевтические препараты, биологические жидкости (урина, плазма крови) и материал (печень), пищевые продукты (молоко)].

Научная новизна

Впервые систематически изучена экстракция новокаина, лидокаина и анестезина растворителями разных классов. Установлены взаимосвязи экстракционных характеристик анестетиков со свойствами гомологического ряда алифатических спиртов. Предложены схемы межмолекулярного взаимодействия анестетиков с органическими растворителями на основе анализа ИК-спектров экстрактов и квантово-химических расчетов. Установлен состав комплексов анестетик – сольватропный реагент.

Методом симплекс-решетчатого планирования эксперимента оптимизированы составы подвижной фазы, позволяющие селективно разделять анестетики методом хроматографии в тонком слое.

Оптимизированы условия изолирования анестетиков из биожидкостей. Обоснованы условия экстракционного концентрирования и последующего определения анестетиков в концентратах.

Практическая значимость

Разработан комплекс спектрофотометрических, потенциометрических, хроматографических и хромато-масс-спектрометрических способов определения анестетиков в водных средах, фармацевтических препаратах, пищевых продуктах (молоко) и биообъектах (плазма крови, урина, печень) после экстракционного извлечения и концентрирования.

Новизна практических разработок подтверждена материалами патентов РФ (№№ 2517127, 2537179, 2546294), публикациями в информационных бюллетенях Воронежского ЦНТИ, получено положительное решение о выдаче патента по заявке № 2014117440 от 29.04.2014 года. Разработки апробированы в испытательной лаборатории ФГБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии № 97 Федерального медико-биологического агентства» (г. Воронеж).

Основные положения, представляемые к защите:

- ✓ эффективные экстракционные системы для практически полного извлечения анестетиков из водно-солевых растворов; схемы межмолекулярного взаимодействия анестетиков с растворителями и сольво-тропными реагентами;
- ✓ новые подвижные фазы для разделения анестетиков методом хроматографии в тонком слое;
- ✓ комплекс способов определения анестетиков в водных средах, фармпрепаратах и биологических и пищевых объектах.

Апробация работы

Основные результаты работы доложены на конференциях различного уровня: на Втором Съезде аналитиков России (Москва, 2013), International Congress Industrial-Akademic Networks in Cooperation Activities for Pharmaceutical, Chemical and Food Fields (L'aquila, Italy, 2014), XIV Международной научно-технической конференции «Наукоемкие химические технологии-2012» (Тула, 2012), XII Международной конференции «Пищевые технологии и биотехнологии» (Казань, 2012), III Международной конференции «Современные методы аналитического контроля качества и безопасности продовольственного сырья и продуктов питания» (Москва, 2012), 78-80 Международных конференциях «Наукові здобутки молоді – вирішенню проблем харчування людства в XXI столітті» (Киев, Украина, 2012-2014), VI и VII Всероссийских конференциях молодых ученых, аспирантов и студентов с международным участием «Менделеев-2012, 2013» (Санкт-Петербург, 2012, 2013), Всероссийской конференции с международным участием «Современные проблемы химической науки и образования» (Чебоксары, 2012), V Всероссийской конференции с международным участием «Технологии и оборудование химической, биотехнологической и пищевой промышленности» (Бийск, 2013), IX Всеукраинской конференции по аналитической химии (Донецк, 2013), VI Всероссийской конференции по химической технологии (Москва, 2012), IX Всероссийской конференции по анализу объектов окружающей среды «Экоаналитика-2014» (Калининград, 2014), XXII-XXIV Российской молодежной конференции «Проблемы теоретической и экспериментальной химии (Екатеринбург, 2012-2014), Конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Инженерные технологии XXI века» (Воронеж, 2013), отчетных научных конференциях и семинарах ВГУИТ (2011-2015).

Публикации

Основное содержание диссертации опубликовано в 34 работах: 11 статьях, в том числе – 5 в журналах, входящих в перечень ВАК; 3 патентах РФ; тезисах 20 докладов конференций. Кроме того, получено 1 положительное решение о выдаче патента.

Объем и структура работы

Диссертационная работа состоит из введения, четырех глав, выводов, списка цитируемой литературы (240 источников, в том числе 69 на иностранных языках) и приложения (представлено на 45 страницах, включает 2 таблицы и 14 рисунков). Работа изложена на 142 страницах машинописного текста, включает 31 рисунок и 35 таблиц.

Личный вклад соискателя состоит в постановке и выполнении эксперимента, активном участии в интерпретации результатов, написании статей, заявок на изобретения, подготовке докладов и выступлении на конференциях, апробации разработанных способов определения на реальных объектах.

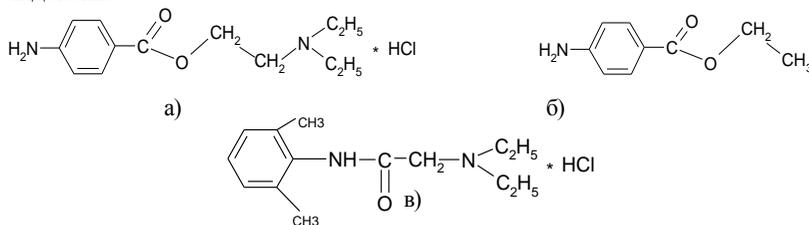
Содержание работы

Во **введении** обоснована актуальность темы диссертационной работы и перспективность применения экстракции и физико-химических методов анализа для определения анестетиков в водных средах, фарм-препаратах, биологических объектах и пищевых продуктах.

В обзоре литературы (ГЛАВА 1) приводится описание методов извлечения, разделения, концентрирования и определения местных анестетиков (**МА**) в различных объектах.

Проведенные библиографические исследования позволили сделать вывод об отсутствии систематических исследований в области извлечения, концентрирования и разделения МА. Не разработаны способы определения анестетиков непосредственно в концентратах.

ГЛАВА 2. Методика эксперимента. Представлены физико-химические свойства объектов исследования: а) новокаин, б) анестезин, в) лидокаин:



Препараты новокаина (**Н**), анестезина (**А**) и лидокаина (**Л**) соответствовали фармакопейной чистоте. Экстрагенты – спирты (этиловый C_2 , н-пропиловый C_3 , н-бутиловый C_4 , н-пентиловый C_5 , н-гексиловый C_6 , н-гептиловый C_7 , н-октиловый C_8 , н-нониловый C_9 , изопропиловый **i-C** $_3$, изобутиловый **i-C** $_4$), диметилкетон (**ДМК**), ацетонитрил (**АЦ**), эфиры (этилацетат (**ЭА**), бутилацетат (**БА**), пентилацетат (**ПА**), 1,4-диоксан (**1,4-ДО**)), гексан (**Г**),

изооктан (ИО), хлороформ (ХЛ), 1,2-дихлорэтан (1,2-ДХЭ) – дважды дистиллированные и идентифицированные по показателям преломления. Для экстракции применяли также смеси растворителей. Сольвотропные реагенты (СР) – камфора (КФ) (квалификация фарм.), диметилфталат (ДМФ), диэтилфталат (ДЭФ), дибутилфталат (ДБФ), диоктилфталат (ДОФ), бензофенон (БФ), фенетол (Ф) и дифенил (ДФ) (квалификация ч.). Высаливатели – K_2CO_3 , $(NH_4)_2SO_4$, NaCl, KCl, Na_2SO_4 , K_2SO_4 применяли перекристаллизованные из препаратов квалификации ч.д.а. Экстракты анализировали спектрофотометрически в диапазоне длин волн 190 – 320 нм (спектрофотометр Shimadzu UV Mini-1240, кварцевая кювета, $l = 1$ см). Для анализа концентратов применяли метод неводного потенциометрического титрования (потенциометр pH-150 М, хлоридсеребряный и платиновый электроды); хроматографию в тонком слое (пластины «Sorbfil», Россия), высокоэффективную жидкостную хроматографию («Милюхром-5», УФ-детектор, колонка «Nucleosil C₁₈»); газо-жидкостную хроматографию (газовый хроматограф Agilent Technologies, США; модель 6850 Network GC System с квадрупольным масс-селективным детектором, модель 5973 Network). ИК-Фурье спектры водных растворов, экстрактов и кристаллических препаратов анестетиков получали на спектрометре «ИнфраЛЮМ ФТ-08» (Люмекс, частота 400 – 5000 см⁻¹).

Экстракцию изучали при 22 ± 1 °С и соотношении объемов водной и органических фаз (f) 5:1. Коэффициенты распределения устанавливали в области линейности изотерм экстракции (мг/см³): 0,005 – 0,5 для новокаина, 0,03 – 3,0 для анестезина и 0,001 – 0,1 для лидокаина.

Обработку экспериментальных данных и оценку достоверности результатов анализа проводили методами математической статистики при $n = 3-5$, $P = 0,95$, программное обеспечение MS Excel).

ГЛАВА 3. Закономерности экстракции местных анестетиков

Исследована зависимость коэффициентов распределения анестетиков от pH среды, обоснован выбор высаливателя. Максимальные количественные характеристики достигнуты при экстракции соединений в щелочной среде и применении практически насыщенных растворов сульфата аммония и карбоната калия, обеспечивающих наибольшее высаливающее действие.

В системах с наиболее эффективным высаливателем (карбонат калия) изучена *экстракция анестетиков индивидуальными растворителями* (табл. 1).

Таблица 1. Коэффициенты распределения (D) и степень извлечения (R , %) анестетиков в системе экстрагент – водный раствор карбоната калия ($n = 3$, $P = 0,95$).

Экстрагент	Новокаин		Анестезин		Лидокан	
	D	R	D	R	D	R
ЭА	$75,0 \pm 6,4$	94	900 ± 85	99	$57,7 \pm 5,3$	92
БА	$34,4 \pm 2,8$	87	450 ± 45	99	$38,8 \pm 3,0$	89
ПА	$20,1 \pm 1,7$	80	360 ± 35	99	$29,1 \pm 2,2$	85
ДМК	$60,3 \pm 4,8$	92	285 ± 23	98	$55,0 \pm 5,0$	92
АЦ	$23,3 \pm 1,9$	82	$36,6 \pm 3,0$	88	$77,8 \pm 7,1$	94
1,4-ДО	$6,6 \pm 0,30$	57	$20,2 \pm 1,7$	80	$2,30 \pm 0,15$	32
ХЛ	$96,0 \pm 8,8$	95	1250 ± 105	99	120 ± 10	96
1,2-ДХЭ	$80,3 \pm 7,5$	94	$90,9 \pm 8,8$	95	$38,8 \pm 3,2$	89
Г	$0,90 \pm 0,03$	15	$4,00 \pm 0,30$	44	$18,5 \pm 1,5$	79

На основании анализа ИК-спектров экстрактов и результатов кванто-химических расчетов предложены схемы взаимодействия растворителей с анестетиками. Экстракция обусловлена образованием водородных связей анестетиков с молекулами растворителя (кетоны, спирты), рис. 1 а) и 1 б).

Образованием водородных связей с участием «мостика воды» Электрофильно-нуклеофильное взаимодействие

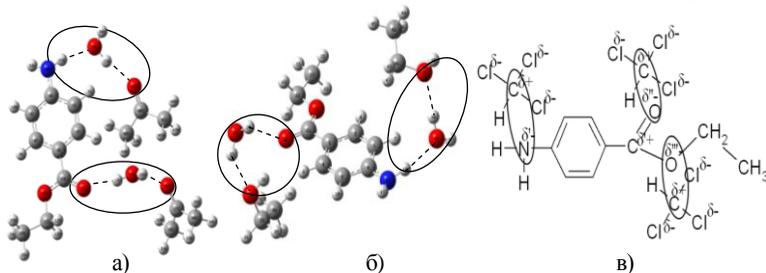


Рисунок 1 – Схемы взаимодействия анестезина с экстрагентом: а) диметилкетонном, б) этиловым спиртом в) хлороформом (красным цветом обозначены атомы кислорода, синим – азота, серым – углерода, белым – водорода).

Распределение в системах с неполярными растворителями (гексан, изооктан) обусловлено неспецифической сольватацией. Также возможно образование комплексов по механизму электрофильно-нуклеофильного взаимодействия (экстракция хлороформом, 1,2-дихлорэтаном), рис. 1 в).

Установлены корреляции между $\lg D$ анестетиков в системе алифатический спирт – водный раствор высаливателя и числом С-атомов в

молекуле спиртов (N), а также физико-химическими параметрами экстрагентов (табл. 2), позволяющие проводить прогнозирование коэффициентов распределения анестетиков с надежностью 95 %.

Таблица 2. Корреляции между $\lg D$ и числом С-атомов в молекуле спиртов (N), показателем преломления растворителей (n), параметром растворимости Гильдебранда (δ) и диэлектрической проницаемостью (ϵ).

МА	Корреляции	Кэф. корреляции (R ²)	Корреляции	Кэф. корреляции (R ²)
Высаливатель – карбонат калия			Высаливатель – сульфат аммония	
А	$\lg D = -0,082 \cdot N + 2,433$	0,9900	$\lg D = -0,095 \cdot N + 2,695$	0,9891
	$\lg D = -9,470 \cdot n + 15,31$	0,9640	$\lg D = -10,66 \cdot n + 17,19$	0,9900
	$\lg D = 0,332 \cdot \delta - 1,010$	0,9690	$\lg D = 0,373 \cdot \delta - 1,283$	0,9872
	$\lg D = 0,043 \cdot \epsilon + 1,350$	0,9870	$\lg D = 0,048 \cdot \epsilon + 1,480$	0,9749
Н	$\lg D = -0,114 \cdot N + 2,209$	0,9939	$\lg D = -0,097 \cdot N + 1,980$	0,9878
	$\lg D = -13,38 \cdot n + 20,42$	0,9900	$\lg D = -11,37 \cdot n + 17,46$	0,9990
	$\lg D = 0,466 \cdot \delta - 2,748$	0,9800	$\lg D = 0,396 \cdot \delta - 2,229$	0,9901
	$\lg D = 0,059 \cdot \epsilon + 0,716$	0,9443 0,9808	$\lg D = 0,051 \cdot \epsilon + 0,712$	0,9651
	$\lg D = -0,0034 \cdot \epsilon^2 + 0,1573 \cdot \epsilon + 0,0619$			
Л	$\lg D = -0,073 \cdot N + 1,650$	0,9890	$\lg D = -0,089 \cdot N + 1,580$	0,9860
	$\lg D = -8,461 \cdot n + 13,16$	0,9680	$\lg D = -10,33 \cdot n + 15,63$	0,9580
	$\lg D = 0,294 \cdot \delta - 1,487$	0,9580	$\lg D = 0,361 \cdot \delta - 2,264$	0,9541
	$\lg D = 0,038 \cdot \epsilon + 0,701$	0,9302 0,9820	$\lg D = 0,046 \cdot \epsilon + 0,411$	0,9860
	$\lg D = -0,0026 \cdot \epsilon^2 + 0,1122 \cdot \epsilon + 0,2034$			

Полученные зависимости позволяют прогнозировать коэффициенты распределения анестетиков с погрешностью не более 10 % по сравнению с экспериментально установленными. Например, в системе н. дециловый спирт– водный раствор карбоната калия, они равны для лидокаина 9,99; 10,2 и 8,32 [рассчитаны соответственно по зависимостям $\lg D = f(n)$, $\lg D = f(\epsilon)$ и $\lg D = f(N)$]. Экспериментально установлен коэффициент распределения лидокаина при экстракции н. дециловым спиртом $9,4 \pm 0,9$, что согласуется с прогнозом по установленным закономерностям.

Индивидуальные растворители не позволили достичь практически полного извлечения новокаина и лидокаина из водных сред. Для повышения экстракционных характеристик, а также коэффициентов концентрирования (в том числе и в случае анестезина) изучали возможность применения бинарных смесей экстрагентов.

При экстракции анестетиков смесями алкилацетатов и спиртов установлен синергетический эффект (рис. 2).

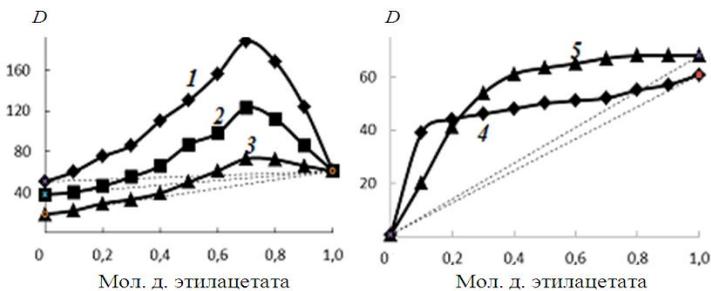


Рисунок 2 – Синергетический эффект при экстракции новокаина изомольными смесями этилацетата с пропиловым(1), бутиловым (2), гептиловым (3) спиртами, гексаном (4), изооктаном (5); пунктир – линии аддитивности.

Синергетический эффект уменьшается в смесях на основе высших спиртов по сравнению со смесями состава *n*-пропиловый спирт – этилацетат. Так, при экстракции новокаина из водных сред смесью *n*-нониловый спирт – этилацетат коэффициенты распределения аддитивны.

Синергетический эффект уменьшается при переходе от новокаина к анестезину. Полярная NH_2 -группа обуславливает специфическую сольватацию анестетиков органическими растворителями. Аминогруппа проявляет по отношению к бензольному кольцу ^+C -эффект сопряжения, который больше индукционного эффекта, направленного в противоположную сторону.

Присутствие другого заместителя в *para*-положении ослабляет ^+C -эффект аминогруппы, в результате чего связи $\text{N}-\text{N}$ ослабляются (сильнее у новокаина, чем анестезина), что способствует образованию N -связи с молекулами электродонорных растворителей. Дополнительный активный центр в молекуле новокаина обуславливает больший синергетический эффект.

Антагонистический эффект (рис. 3) обусловлен вытеснением анестетиков менее активным растворителем [этилацетат и гексан (или 1,4-диоксан) соответственно] из сольватов с более эффективным экстрагентом. Природа всаливания обусловлена различной растворимостью распределяемых соединений в воде (гидрофобностью). Экстракционные системы, характеризующиеся антагонистическим эффектом при экстракции анестетиков, могут быть применены как элюенты в обращенно-фазовом варианте жидкостной хроматографии. Смеси экстрагентов с синергетическим эффектом можно применять для суммарного извлечения анестетиков из различных объектов.

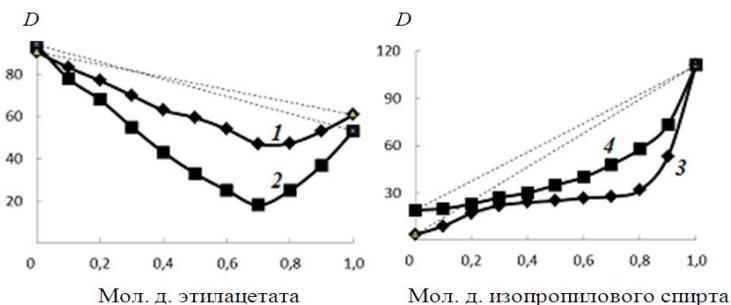


Рисунок 3 – Антагонистический эффект при экстракции: новокаина (1) и лидокаина (2) смесями этилацетата и хлороформа и анестезина смесями изопропилового спирта с гексаном (3) и 1,4-диоксаном (4); пунктир – линии аддитивности.

Экстракция растворами сольвотропных реагентов. Повышение эффективности экстракционного извлечения при применении сольвотропных реагентов основано на образовании молекулярных комплексов с распределяемым веществом, которые легко переходят в органическую фазу.

Более устойчивые комплексы анестетиков образуются при применении камфоры (константы образования молекулярных комплексов новокаина $K = 0,11$ при экстракции *n*-пропиловым спиртом). При применении активных (кислородсодержащих) сольвотропных реагентов (камфора, диэтилфталат, бензофенон, фенетол) комплексы образуются за счет водородных связей, с сольвотропными реагентами, не содержащими атом кислорода, например, дифенилом, образуются менее прочные π - или σ - комплексы ($K = 0,04$). В системах с сольвотропными реагентами образуются молекулярные комплексы состава 1:1.

Таблица 3. Зависимость $\lg D$ лидокаина от числа С-атомов в молекулах диалкилфталатов при экстракции смесями с алкилацетатами (объемное соотношение 1:10).

ЭКС	Корреляции	Коэф. корреляции (R^2)
ЭА	$\lg D = -0,019 \cdot N + 2,318$	0,9790
БА	$\lg D = -0,028 \cdot N + 2,282$	0,9700
ПА	$\lg D = -0,026 \cdot N + 2,192$	0,9850

вания молекулярных комплексов (табл. 3 и 4).

На ИК-спектрах экстрактов анестетиков установлены сдвиги характеристических полос поглощения по сравнению со стандартными

Установлены зависимости $\lg D$ анестетиков от числа С-атомов в молекулах диалкилфталатов, а также между $\lg K$ и $\lg D$ анестетиков, позволяющие прогнозировать коэффициенты распределения и константы образо-

значениями, обусловленные образованием водородных связей между анестетиком и экстрагентом, а также образованием π -комплексов.

Таблица 4. Зависимость между $\lg K$ и $\lg D$ при экстракции новокаина спиртами с добавлением сольвотропных реагентов.

СР	Корреляции	Коэф. корреляции (R^2)
КФ	$\lg K = -1,111 \cdot \lg D + 0,905$	0,9790
БФ	$\lg K = -1,175 \cdot \lg D + 0,907$	0,9670
ДЭФ	$\lg K = -0,906 \cdot \lg D + 0,407$	0,9830
Ф	$\lg K = -0,919 \cdot \lg D + 0,279$	0,9910
ДФ	$\lg K = -1,086 \cdot \lg D + 0,406$	0,9420

Проведены квантово-химические расчеты структур некоторых комплексов «экстрагент – анестетик», а также «сольвотропный реагент – анестетик» методом Хартри-Фока в базисе 6-31 G(d,p) при помощи компьютерных программ Gaussian 09W и GaussView 5.0, рассчитана энергия взаимодействия молекул (рис. 4).

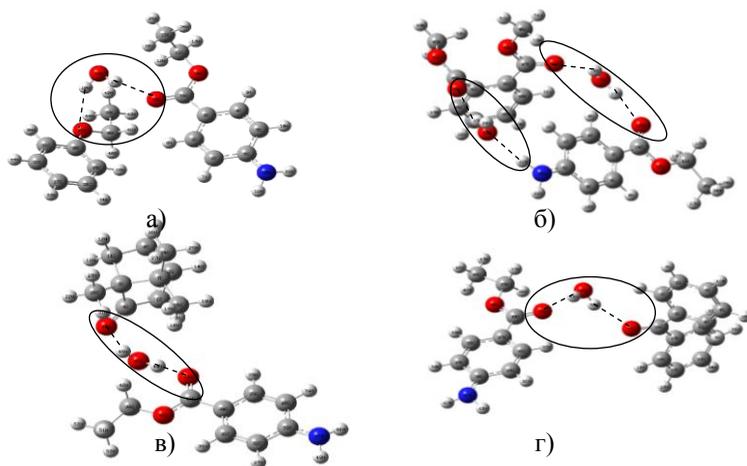


Рисунок 4 – Возможные структуры оптимизированных комплексов анестезина с: а) фенолом, б) диметилфталатом, в) камфорой, г) бензофеноном (красным цветом обозначены атомы кислорода, синим – азота, серым – углерода, белым – водорода).

Удлинение связи в комплексе по сравнению с исходной структурой молекул обусловлено ее участием в межмолекулярном взаимодействии, увеличение зарядов подтверждает увеличение поляризации связей (табл. 5). Длины водородных связей в комплексах с анестезином составляют 0,19556-0,22923 нм. Установлено, что наиболее устойчивые молекулярные комплексы образуются при взаимодействии анестезина с камфорой.

Таблица 5. Удлинение связей и увеличение зарядов Малликена атомов при образовании молекулярных комплексов анестезина.

Связь, атом	Удлинение связи, нм·10 ⁻⁴	Увеличение заряда Малликена, ед·10 ⁻²
C=O связь в сложнэфирной группе анестезина, кислород	3,7-8,4	2,5-5,3
N-H связь анестезина, азот	4,4-5,3	2,9-4,4
ОН связь воды, кислород, водород	3,4-7,8	5,4-7,8 2,6-6,3
C=O связь камфоры, кислород	5,6	3,7
C=O связь бензофенона, кислород	2,1	0,6
C=O связь в сложнэфирной группе диметилфталата, кислород	1,3	0,7
C-O группа фенола, кислород	7,1	1,3
ОН связь этилового спирта, водород	7,6	6,3
C=O связь диметилкетона, кислород	5,7	2,8

Устойчивость комплексов понижается в ряду: камфора > бензофенон > диметилфталат > фенол, что согласуется с экспериментально полученными данными (соответствующие константы образования молекулярных комплексов анестезина с сольвотропными реагентами 0,63 > 0,36 > 0,35 > 0,22). Экстракционная эффективность по отношению к анестезину также уменьшается в этом ряду. Например, при применении растворов сольвотропных реагентов в этилацетате (5 мас. %) получены следующие коэффициенты распределения: 3100 ± 280, 2480 ± 190, 2230 ± 180, 1760 ± 150. Установлены зависимости $\lg D$ и констант образования молекулярных комплексов анестезина с сольвотропными реагентами от величины энергии образования водородной связи в комплексах: $\lg D = -0,025 \cdot E_{\text{связи}} + 2,8630$ ($R^2 = 0,9618$) и $K = -0,0425 \cdot E_{\text{связи}} - 0,4731$ ($R^2 = 0,9851$). Полученные зависимости позволяют прогнозировать коэффициенты распределения анестезина при применении других сольвотропных реагентов с погрешностью не более 10 %.

На основании полученных результатов выбраны наиболее эффективные системы для извлечения местных анестетиков из водных сред (бинарные смеси, характеризующиеся синергическим эффектом и растворы сольвотропных реагентов в органических растворителях), которые применяли при разработке способов определения аналитов в многокомпонентных объектах анализа.

В ГЛАВЕ 4 приводятся способы концентрирования и результаты спектрофотометрического, хроматографического (ТСХ и ВЭЖХ), потенциометрического и хромато-масс-спектрометрического (ГХ-МС) определения анестетиков в концентратах. Способы апробированы на примере анализа водных сред, фармацевтических препаратов, биологических жидкостей и материалов, молока).

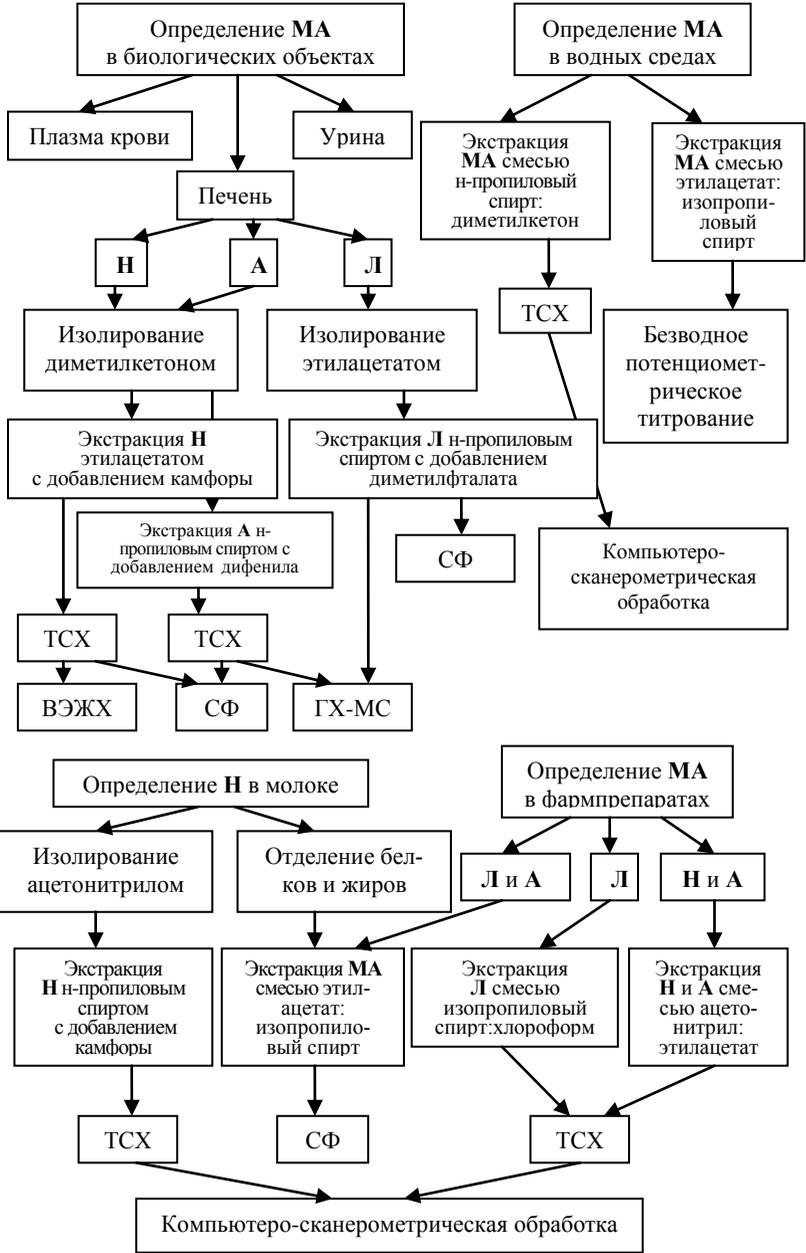


Рисунок 5 – Комплексная схема определения местных анестетиков.

Схема проведения анализа представлена на рис. 5. При определении местных анестетиков в биологических объектах в качестве экстрагентов применяли растворы сольватропных реагентов. Концентрирование анестетиков из водных сред и вытяжек из фармпрепаратов проводили эффективными бинарными смесями. Извлечение новокаина из молока и его концентрирование проводили после осаждения белков и жиров.

Раздельное определение анестетиков в концентратах в водных средах проводили хроматографически и потенциометрически.

Для разделения анестетиков методом ТСХ подвижные фазы выбирали исходя из природы аналитов.

Для оптимизации состава подвижной фазы применяли симплекс-решетчатое планирование эксперимента. Установлено, что для наиболее эффективного разделения анестезина, новокаина и лидокаина целесообразно применение подвижных фаз, содержащих 0,05 – 0,5 об. дол. диметилкетона, 0,1 – 0,45 об. дол. ацетонитрила и 0,4 – 0,8 об. дол. гексана. Введение в подвижную фазу трихлоруксусной кислоты (ТХУК) позволяет получить пятна анестетиков правильной формы.

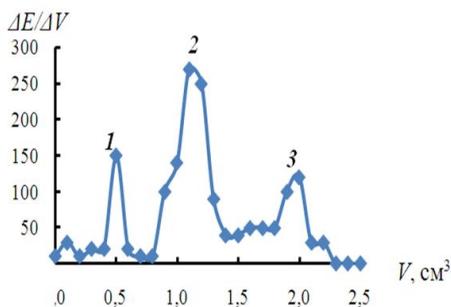


Рисунок 6 – Дифференциальная кривая титрования лидокаина (1), анестезина (2) и новокаина (3).

Расшифровку хроматограмм проводили с применением сканер-технологий. Хроматограммы сканировали на планшетном сканере, изображение обрабатывали в программе «Денситометр «Сорбфил».

При потенциометрическом определении анестетиков в экстракте в качестве дифференцирующего растворителя применяли *n*-пропиловый спирт в смеси с гексаном и ледяной уксусной кислотой, титрант – рас-

твор HCl в *n*-пропиловом спирте (рис. 6).

Хроматографический и потенциометрический способы определения с предварительным экстракционным концентрированием (табл. 6) воспроизводимы, характеризуются одинаковой точностью ($F_{\text{рас.}} < F_{\text{табл.}}$, $F_{\text{табл.}}(0,95;2:3) = 9,55$). Расхождения между результатами определения незначимы ($t_{\text{рас.}} < t_{\text{табл.}}$, $t_{\text{табл.}}(0,95;4) = 2,78$). Погрешность определения не превышает 10 %.

Таблица 6. Определение МА в водных средах методом «введено – найдено»; n = 3, P = 0,95.

МА	Введено, мкг/с м ³	Потенциометрическое определение			Хроматографическое определение			F _{рас.}	t _{рас.}
		Найдено, мкг/см ³	S _r , %	Δ, %	Найдено, мкг/см ³	S _r , %	Δ, %		
Н	50,00	47,50 ± 10,1	7,8	5,0	47,40 ± 6,45	5,0	5,2	2,57	0,03
	25,00	22,9 ± 4,8	7,7	8,4	23,20 ± 4,60	7,3	7,2	1,27	0,18
	10,00	9,46 ± 2,40	9,8	10,0	9,50 ± 1,75	6,9	7,0	1,91	0,43
Л	50,00	46,2 ± 10,4	8,3	7,6	47,90 ± 6,30	4,8	4,2	2,38	0,80
	25,00	23,1 ± 5,4	8,6	7,6	23,50 ± 4,40	6,9	6,0	1,60	0,22
	10,00	9,40 ± 2,60	10,2	6,0	9,60 ± 2,20	8,4	4,0	1,50	0,18
А	50,00	46,60 ± 10,6	8,4	6,8	48,10 ± 6,31	4,8	3,8	2,40	0,69
	25,00	22,8 ± 5,9	9,5	8,8	23,80 ± 5,30	8,2	4,8	1,43	0,52
	10,00	9,10 ± 2,30	9,3	9,0	9,70 ± 2,00	7,8	6,0	1,19	0,28

МА в концентратах из фармпрепаратов определяли спектрофотометрическим и хроматографическим способами (табл. 7).

Таблица 7. Определение местных анестетиков в фармацевтических препаратах; n = 3, P = 0,95.

МА	Фармпрепарат	Завявлено, мг/г	СФ анализ концентрата			ТСХ анализ концентрата			F _{рас.}	t _{рас.}
			Найдено, мг/г	S _r , %	Δ, %	Найдено, мг/г	S _r , %	Δ, %		
Л	1	20	19,13 ± 2,80	6,3	5,3	18,90 ± 3,30	6,4	3,5	2,20	0,29
	2	25	23,80 ± 3,50	4,3	4,3	23,10 ± 4,40	7,0	4,8	1,85	0,60
А	3	40	37,90 ± 4,80	4,7	4,4	37,70 ± 5,10	5,0	5,3	1,01	0,13
	4		38,30 ± 4,50	4,3	4,8	38,00 ± 4,70	4,6	4,3	1,54	0,21

1 – мазь «Ауробин» (ОАО «Геден Рихтер»), 2 – крем «ЭМЛА» (ООО «Астра-ЗенекаФармасьютикалз»), 3 – «Гепариновая мазь» (ОАО «Нижфарм»), 4 – «Гепариновая мазь» (ЗАО «Алтайвитамины»), в скобках указан производитель.

При спектрофотометрическом определении получены завышенные значения, что обусловлено влиянием соэкстрактивных веществ. Способы экспрессны – продолжительность анализа не превышает 20 и 40 мин для спектрофотометрического и хроматографического, результаты анализа сопоставимы с данными фармакопейных методик, основанными на потенциометрическом титровании извлечений, полученными после длительной, многостадийной пробоподготовки (F_{рас.} < 1,84, t_{рас.} < 0,77).

При анализе объектов со сложной многокомпонентной матрицей местные анестетики предварительно изолировали различными растворителями. Установлено, что при однократном настаивании обеспечивается наибольшее изолирование новокаина и анестезина из биообъектов диметилкетонем, лидокаина – этилацетатом (табл. 8).

Таблица 8. Степень однократного изолирования (R' , %) МА из плазмы крови; $f^* = 1:1$, $\tau = 5$ мин.

ЭКС	Н	А	Л
ДМК	62	67	68
ЭА	42	65	74
АЦ	60	58	65
С ₃	45	56	36
i-С ₃	55	52	47
Г	48	46	40
(NH ₄) ₂ SO ₄	35	60	51

* f – соотношение водно-солевого раствора или органического растворителя и плазмы крови

трехкратном настаивании по 45 минут при соотношении объемов растворителя и биоматериала 2:1.

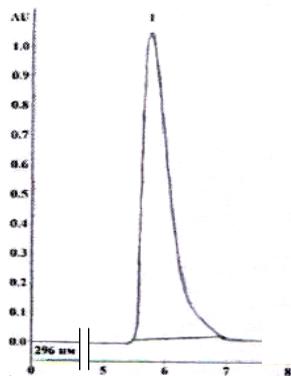


Рисунок 7 – ВЭЖХ-хроматограмма очищенного экстракта плазмы крови, содержащей новокаин.

фика $A = 2959,9 \cdot C + 0,1992$ ($R^2 = 0,9990$).

При определении анестетиков методом ТСХ применяли пластины «Сорбфил», разделение проводили в потоке смеси дихлорме-

Для выбора объемного соотношения биожидкости с растворителями и продолжительности их контакта применяли методы планирования эксперимента (композиционные униформ-ротатабельные планы второго порядка 2^2). Для практически полного (≥ 98 %) изолирования анестетиков из плазмы крови достаточно соотношение объемов растворителя и биологической жидкости 2-3, продолжительность настаивания 11-13 мин.

Полное изолирование анестетиков из ткани печени установлено при минут при соотношении объемов растворителя и биоматериала 2:1.

Для концентрирования анестетиков из извлечений применена жидкостная экстракция. Анализ концентратов проводили хроматографически или спектрофотометрически.

При определении новокаина в плазме крови методом ВЭЖХ применяли подвижную фазу ацетонитрил : метиловый спирт : 0,025 моль/дм³ раствор КН₂РО₄ (рН 3,0) в соотношении 10:10:90. Время удерживания новокаина 5,73 мин (рис. 7). Количественное содержание устанавливали при 298 нм по градуировочному гра-

тан:этиловый спирт (1:1), коэффициенты подвижности новокаина и камфоры составили $R_{f\text{ нов}} = 0,48 \pm 0,03$; $R_{f\text{ камф}} = 0,85 \pm 0,02$.

Способ позволяет определить в плазме крови до 91 % новокаина. Минимально определяемая концентрация на уровне $0,25 \text{ мкг/см}^3$. Погрешность определения не превышает 15 % (табл. 9).

Лидокаин в моче определяли спектрофотометрически и методом газо-жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием.

При спектрофотометрическом определении лидокаина в концентрации оптические плотности измеряли при 289 нм. Градуировочный график линеен в интервале $5 - 50 \text{ мкг/см}^3$ ($A = 6,625 \cdot C$; $R^2 = 0,9990$).

Таблица 9. Результаты определения новокаина в плазме крови; (n = 3; P = 0,95)

Введено, мг/см ³	Анализ концентрата методом ТСХ			Анализ концентрата методом ВЭЖХ			F _{рас.}	t _{рас.}
	Найдено, мг	S _r , %	Δ, %	Найдено, мг	S _r , %	Δ, %		
0,020	0,017 ± 0,003	6,5	15,0	0,018 ± 0,002	4,1	10,0	2,73	1,25
0,100	0,087 ± 0,012	5,1	13,0	0,089 ± 0,010	4,1	11,0	1,49	0,62
0,250	0,224 ± 0,038	6,3	10,4	0,225 ± 0,032	5,2	10,0	1,43	0,10
0,500	0,456 ± 0,057	4,6	8,8	0,453 ± 0,044	3,6	9,4	1,58	0,18

При определении методом ГХ-МС (по полному ионному току) пик на хроматограмме с временем удерживания 7,79 мин соответствует лидокаину.

Количественно лидокаин определяли по уравнению градуировочного графика: $S = (1,93 \cdot C + 0,03) \cdot 10^5$, где S – площадь хроматографического пика; C – содержание лидокаина в хроматографируемой пробе, нг. График линеен в интервале концентраций $4,0 \cdot 10^{-9} - 4,0 \cdot 10^{-7}$ г.

Результаты определения лидокаина в моче человека представлены в табл. 10.

Таблица 10. Определение лидокаина в моче; n = 3; P = 0,95.

Введено, мг/см ³	Спектрофотометрическое определение			Определение методом ГХ-МС			F _{рас.}	t _{рас.}
	Найдено, мг	S _r , %	Δ, %	Найдено, мг	S _r , %	Δ, %		
0,100	0,090 ± 0,020	8,2	10,0	0,092 ± 0,013	5,2	8,0	2,45	0,41
0,500	0,460 ± 0,061	4,9	8,0	0,470 ± 0,055	4,3	6,0	1,50	0,58
1,250	1,180 ± 0,160	5,0	5,6	1,190 ± 0,110	3,4	4,8	2,73	0,25
2,500	2,300 ± 0,242	3,9	8,0	2,320 ± 0,210	3,3	7,2	1,75	0,30

По предложенной методике двукратной экстракцией максимально возможно определить в моче 95 % лидокаина. Минимально определяе-

мая концентрация на уровне $0,3 \text{ мкг/см}^3$. Погрешность определения не превышает 10 %.

Определение анестезина проводили в очищенном тонкослойной хроматографией экстракте говяжьей печени, которая наиболее близка по составу к человеческой, методом газо-жидкостной хроматографии с МС-детектированием. Пик на хроматограмме с временем удерживания 6,025 мин соответствует анестезину (рис. 8). Градуировочный график описывается уравнением: $S = (3,27 \cdot C + 0,99) \cdot 10^4$, где S – площадь хроматографического пика; C – содержание анестезина в хроматографируемой пробе, нг.

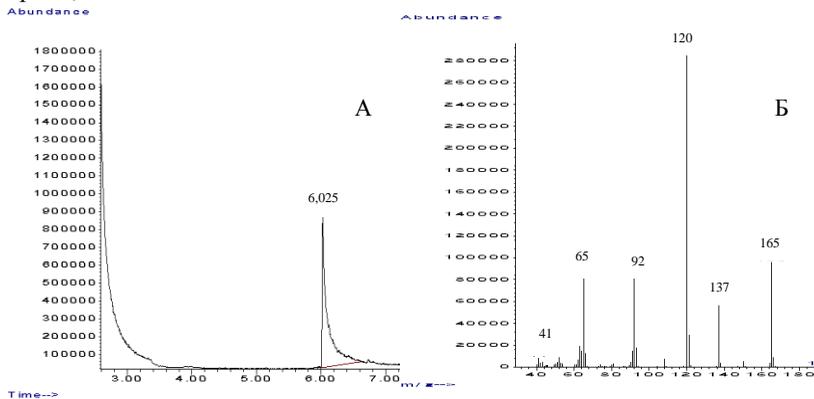


Рисунок 8 – ГХ-МС хроматограмма (А) и масс-спектр (Б) очищенного экстракта из печени, содержащего анестезин.

При хроматографическом определении анестезина со спектрофотометрическим детектированием концентрат фотометрировали при 289 нм в смеси изопропиловый спирт:этилацетат (0,3:0,7 мол. д.). Уравнение градуировочного графика $A = 943 \cdot c$, (c – концентрация анестезина, мг/см^3). Результаты представлены в табл. 11.

Таблица 11. Результаты определения анестезина в ткани печени ($n=3$; $P=0,95$)

Введено, мг/г	Анализ концентрата методом ТСХ			Определение ГХ-МС			$F_{\text{рас.}}$	$t_{\text{рас.}}$
	Найдено, мг	S_r , %	Δ , %	Найдено, мг	S_r , %	Δ , %		
0,010	$0,008 \pm 0,003$	13,8	20,0	$0,008 \pm 0,002$	9,2	20,0	2,42	0,00
0,050	$0,042 \pm 0,019$	16,7	16,0	$0,043 \pm 0,010$	8,6	14,0	3,40	0,21
0,100	$0,090 \pm 0,032$	13,1	10,0	$0,091 \pm 0,016$	6,5	9,0	4,59	0,13
0,150	$0,130 \pm 0,055$	15,6	13,3	$0,135 \pm 0,018$	4,9	10,0	9,50	0,40
0,250	$0,220 \pm 0,090$	15,1	12,0	$0,228 \pm 0,034$	5,5	8,8	8,38	0,40

Способ позволяет определить до 91 % анестезина в препарате пеницилина. Чувствительность определения составляет 0,5 мкг/г. Погрешность определения не превышает 20 %. Способы определения анестетиков воспроизводимы, легко выполнимы и могут быть рекомендованы при проведении судебно-медицинской экспертизы.

Молоко содержит жиры и белки, с которыми могут связываться анестетики. Прямая экстракция изучаемых соединений из молока растворителями невозможна вследствие образования стойких эмульсий. Изоляты получали выделением белков и жиров в молоко при добавлении сульфата аммония и 0,1 моль/дм³ раствора HCl (1 способ) или введением ацетонитрила (2 способ). Анализ экстрактов из изолятов молока проводили спектрофотометрическим и хроматографическим способами (табл. 12).

Таблица 12. Определение новокаина в молоке (введено 0,2 мг/см³ новокаина); n = 3, P = 0,95.

Мо- локо	1 способ			2 способ			F _{рас.}	t _{рас.}
	Найдено, мг/см ³	S _r , %	Δ, %	Найдено, мг/см ³	S _r , %	Δ, %		
1	0,170 ± 0,040	8,7	15,0	0,183 ± 0,050	10,1	8,5	1,43	0,94
2	0,193 ± 0,035	6,7	3,4	0,195 ± 0,064	12,1	2,5	3,00	0,13
3	0,181 ± 0,038	7,7	9,5	0,190 ± 0,059	11,4	5,0	2,08	0,61
4	0,185 ± 0,041	8,2	7,5	0,192 ± 0,053	10,2	4,0	1,68	0,50
5	0,173 ± 0,043	9,2	13,5	0,187 ± 0,055	10,8	6,5	1,75	0,94

1 – цельное (3,5 %), 2 – пастеризованное (2,5 %), 3 – пастеризованное (3,2 %), 4 – ультрапастеризованное (2,5 %), 5 – ультрапастеризованное (3,2 %). В скобках указана массовая доля жира.

При анализе молока по второму способу изоляты содержат большее количества новокаина, что обусловлено большим эффектом разрушения комплексов анестетика с белками и с жирами в присутствии ацетонитрила. Погрешность определения не превышает 15 % по первому способу и 9 % по второму.

ВЫВОДЫ

1. Систематически изучена экстракция новокаина, лидокаина и анестезина растворителями разных классов (простые и сложные эфиры, кетоны, нитрилы, алканы, хлорсодержащие соединения), их бинарными смесями, а также растворами сольватропных реагентов из практически насыщенных растворов сульфата аммония и карбоната калия.

2. Установлены зависимости логарифмов коэффициентов распределения анестетиков от числа C-атомов в молекулах диалкилфталатов и алифатических спиртов; диэлектрической проницаемости, параметра растворимости Гильдебранда и показателя преломления экстрагентов. Проведены квантово-химические расчеты и предложены схемы межмолекулярного взаимодействия анестетиков с экстрагентами.

3. С применением методов математического планирования эксперимента оптимизированы составы трехкомпонентной подвижной фазы для разделения анестетиков методом хроматографии в тонком слое, рассчитаны условия эффективного изолирования местных анестетиков из биообъектов растворителями.

4. Предложены эффективные экстракционные системы для практически полного извлечения анестетиков из водных сред и их концентрирования (смеси, характеризующиеся синергетическим эффектом; растворы камфоры и бензофенона в органических растворителях).

5. Разработан комплекс экстракционно-спектрофотометрических, экстракционно-хроматографических (ТСХ, ВЭЖХ), экстракционно-хромато-масс-спектрометрических и экстракционно-потенциометрических способов определения анестетиков в водных средах, фармацевтических препаратах, биологических объектах (урина, плазма крови, печень), а также пищевых продуктах (молоко). Способы характеризуются высокой чувствительностью (минимально определяемые концентрации не превышают 1 мкг/см^3), погрешность определения – 3-20 %.

Основные публикации по теме диссертации

Статьи в изданиях, рекомендованных ВАК РФ:

1. **Коренман, Я.И.** Экстракция новокаина из водных сред алифатическими спиртами с применением высаливателей [Текст] / Я.И. Коренман, Т.В. Чибисова // Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий. – 2012. – №4. – С. 92 – 95.

2. **Коренман, Я.И.** Коэффициенты распределения новокаина в системах алифатический спирт ($C_3 - C_9$) – сольватропный реагент – высаливатель – вода [Текст] / Я.И. Коренман, Т.В. Чибисова, О.А. Пахомова // Журнал физ. химии. – 2013. – Т.87, №7. – С. 1239 – 1242.

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

4. **Коренман, Я.И.** Определение новокаина в биологических жидкостях [Текст] / Я.И. Коренман, Т.В. Чибисова, В.К. Шорманов, С.Г. Галушкин // Фармация. – 2014. – №4. – С. 8 – 13.

5. **Суханов, П.Т.** Синергизм и антагонизм при экстракции местных анестетиков из водных сред смесями растворителей [Текст] / П.Т. Суханов, Т.В. Чибисова, Я.И. Коренман // Журнал физ. химии. – 2014. – Т.88, №12. – С. 2012 – 2016.

Другие статьи

6. Anaesthesine and lidocaine distribution in the aliphatic alcohol – carbonate potassium – water chain [Text] / P.T. Sukhanov, T.V. Chibisova, M.V. Ivleva, E.A. Chiegbu, E.A. Chigirin // Сборник материалов International Congress Industrial-Akademic Networks in Cooperation Activities for Pharmaceutical, Chemical and Food Fields – L'aquila, Montelucio di Roio (Italy), 17 – 18 September, 2014. - L'aquila.– 2014. – P. 36-40.

7. **Коренман, Я.И.** Извлечение новокаина из водных растворов алифатическими спиртами в присутствии сольватропного реагента [Текст] / Я.И. Коренман, О.А. Пахомова, Т.В. Чибисова // Матер. Всерос. конф. с междунар. участием «Современные проблемы химической науки и образования», Т. II., Чебоксары. – 2012. – С.143 – 145.

8. **Коренман, Я.И.** Экстракционно-спектрофотометрическое определение новокаина в молоке [Текст] / Я.И. Коренман, Т.В. Чибисова // Матер. III Междунар. межвуз. конф. «Современные методы аналитического контроля качества и безопасности продовольственного сырья и продуктов питания», Москва. – 2012. – С. 107 – 109.

9. **Чибисова, Т.В.** Экстракционно-хроматографическое определение новокаина в плазме крови [Текст] / Т.В. Чибисова, С.Г. Галушкин, В.К. Шорманов, Я.И. Коренман // Матер. V Всерос. научно-практ. конф. студ., аспирантов и молодых ученых с междунар. участием «Технологии и оборудование химической, биотехнологической и пищевой промышленности», Бийск. – 2013. – С. 220 – 222.

10. **Чибисова, Т.В.** Экстракционное извлечение и хроматографическое определение анестезина и новокаина в мази «Меновазан» [Текст] / Т.В. Чибисова, П.Т. Суханов, Я.И. Коренман // Матер. V Всерос. научно-практ. конф. студ., аспирантов и молодых ученых с междунар. участием «Технологии и оборудование химической, биотехнологической и пищевой промышленности», Бийск. – 2013. – С. 216 – 219.

11. **Чибисова, Т.В.** Определение местных анестетиков в водных средах с применением предварительного экстракционного извлечения [Текст] / Т.В. Чибисова // Матер. конф. студ., аспирантов и молодых ученых «Инженерные технологии XXI века», Воронеж. – 2013. – С. 99 – 103.

Патенты

1. **Пат. 2517127, Россия, МПК⁷ G01N 33/15, B01D11/04.** Способ экстракции новокаина из водных сред смесью фенолола и этилацетата / Коренман Я.И., Чибисова Т.В. - 2012153942/15/; Заявл.14.12.2012; Опубл. 27.05.2014.

2. **Пат. 2537179, Россия, МПК G01N 33/15, G01N 33/50, G01N 30/06.** Способ определения прокаина в плазме крови / Шорманов В.К., Коренман Я.И., Чибисова Т.В., Галушкин С.Г., Ярош К.Н. - 2013135819/15; Заявл. 30.07.2013; Опубл. 27.12.2014.

3. Пат. 2546294, Россия, МПК А61К 31/245, G01N 33/50, G01N 30/02. Способ определения новокаина в биологическом материале / Шорманов В.К., Коренман Я.И., Чибисова Т.В., Галушкин С.Г., Ярош К.Н. - 2013156726/15; Заявл. 19.12.2013; Опубл. 10.04.2015.

Некоторые тезисы докладов

1. Экстракционно-хроматографическое определение анестезина и красителя в таблетках «Беллалгин» [Текст] / П.Т. Суханов, Я.И. Коренман, В.К. Шорманов, Н.Ю. Санникова, Т.В. Чибисова, С.Г. Галушкин // Тез. докл. Второго Съезда аналитиков России, Москва. – 2013. – С.77.

2. **Чибисова, Т.В.** Извлечение новокаина из водных растворов алифатическими спиртами [Текст] / Т.В. Чибисова, О.А. Пахомова, Я.И. Коренман // Тез. докл. VI Всерос. конф. молодых ученых, аспирантов и студентов с международным участием «Менделеев-2012», Санкт-Петербург. – 2012. – С. 594 – 595.

3. **Чибисова, Т.В.** Экстракционное извлечение и спектрофотометрическое определение новокаина в водных средах [Текст] / Т.В. Чибисова, М.В. Зыбенко, Я.И. Коренман // Тез. докл. VII Всерос. конф. с международным участием «Менделеев-2013», Санкт-Петербург. – 2013. – С. 170 – 172.

4. **Суханов, П.Т.** Экстракционно-потенциометрическое определение местных анестетиков в сточных водах стоматологических учреждений [Текст] / П.Т. Суханов, Я.И. Коренман, Т.В. Чибисова // Тез. докл. IX Всерос. конф. по анализу объектов окружающей среды «Экоаналитика-2014» - Калининград, 22 - 28 июня 2014. - Калининград. – 2014.– С. 228.

Материалы диссертации также представлены в 16 тезисах докладов.

Соискатель благодарит д.х.н. Коренмана Я.И., д.фарм.н. Шорманова В.К., д.х.н. Бутырскую Е.В. за научные консультации и помощь на разных этапах выполнения работы

Подписано в печать « » 2015 г. Формат 60x84 1/16
Бумага офсетная. Гарнитура Таймс. Ризография.
Усл. печ. л. 1,0. Тираж 120 экз. Заказ №
ФГБОУ ВПО «Воронежский государственный университет инженерных технологий»
(ФГБОУ ВПО «ВГУИТ»)
Отдел оперативной полиграфии ФГБОУ ВПО «ВГУИТ»
Адрес университета и отдела оперативной полиграфии:
394036 Воронеж, пр. Революции, 19