

ВОРОНЕЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИНЖЕНЕРНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

На правах рукописи

ЧИБИСОВА Татьяна Викторовна

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

02.00.02 – Аналитическая химия

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Научный руководитель
доктор химических наук, доцент
СУХАНОВ Павел Тихонович

Воронеж 2015

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ.....	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	9
1.1. Способы определения местных анестетиков.....	9
1.1.1. Титриметрические методы.....	9
1.1.2. Спектральные методы анализа.....	10
1.1.3. Электрохимические методы.....	13
1.1.4. Электрофорез.....	15
1.1.5. Хроматографические методы.....	16
1.1.6. Тест-методы определения местных анестетиков.....	21
1.2. Методы для извлечения и концентрирования местных анестетиков при анализе различных объектов.....	22
ГЛАВА 2. МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА.....	32
2.1. Объекты исследования.....	32
2.2. Реактивы.....	32
2.3. Спектрофотометрический анализ водной и органической фаз.....	38
2.4. Потенциометрическое титрование экстрактов.....	40
2.5. ИК-спектроскопия анестетиков и их растворов.....	41
2.6. Определение анестетиков методом хроматографии в тонком слое...	43
2.7. Анализ концентратов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.....	43
2.8. Газо-жидкостная хроматография с масс-спектрометрическим де- тектированием.....	44
2.9. Методика экстракции местных анестетиков.....	45
2.10. Статистическая обработка результатов анализа.....	48
ГЛАВА 3. ЗАКОНОМЕРНОСТИ ЭКСТРАКЦИИ МЕСТНЫХ АНЕСТЕТИКОВ.....	50
3.1. Экстракция индивидуальными органическими растворителями.....	50
3.2. Экстракция смесями органических растворителей.....	59
3.3. Экстракция с применением сольватропных реагентов.....	67

3.4. ИК-спектрометрический анализ экстрактов	74
3.5. Квантово-химическое моделирование комплексов анестезина с растворителями и сольватропными реагентами.....	78
ГЛАВА 4. ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕСТНЫХ АНЕСТЕТИКОВ В ЭКСТРАКТАХ.....	87
4.1. Экстракционно-спектрофотометрическое определение в фармацевтических препаратах.....	88
4.2. Экстракционно-хроматографическое определение анестетиков.....	91
4.2.1. Выбор подвижной фазы при определении методом хроматографии в тонком слое.....	91
4.2.2. Способ определения анестетиков в водных средах.....	96
4.2.3. Способ определения анестетиков в мазях и кремах.....	97
4.3. Экстракционно-потенциометрическое определение анестетиков в водных средах.....	100
4.4. Определение анестетиков в биожидкостях и материале.....	102
4.4.1. Разработка способов определения анестетиков в биологических жидкостях и материале.....	102
4.4.2. Способ определения новокаина в плазме крови.....	106
4.4.3. Определение лидокаина в моче.....	108
4.4.4. Определение анестезина в ткани печени.....	110
4.5. Определение новокаина в молоке.....	112
ВЫВОДЫ.....	114
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	115
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	143

ВВЕДЕНИЕ. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность

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 [1-6, 7].

Многокомпонентность объектов анализа обуславливает необходимость отделения местных анестетиков от мешающих и основных компонентов, составляющих матрицу анализируемого образца [8].

Решение задачи возможно с применением различных способов извлечения, концентрирования и разделения, в частности жидкостной экстракции [9-12]. 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 [8].

Основными преимуществами методов экстракционного концентрирования по сравнению с соответствующими безэкстракционными является высокая избирательность, возможность многократного уменьшения объема анализируемого раствора) и отсутствие деструкции аналитов [9].

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 инноваци-

онных 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 сольвотропных 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 – сольвотропный 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 сольватропными реагентами;
- ✓ новые подвижные фазы для разделения анестетиков методом хроматографии в тонком слое;
- ✓ комплекс способов определения анестетиков в водных средах, фармацевтических 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-Academic Networks in Cooperation Activities for Pharmaceutical, Chemical and Food Fields (L'aquila, Italy, 2014), XIV Международной научно-технической конференции «Научно-технические 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.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Способы определения местных анестетиков

Для определения анестетиков применяются различные современные физико-химические методы анализа (рисунок 1.1).



Рисунок 1.1 – Диаграмма распределения публикаций с 1995 по 2012 гг. по: а) методам определения местных анестетиков (общее количество источников – 125); б) хроматографическим методам определения (общее количество источников – 46)

Наибольшее распространение получили хроматографические (36,8 %), спектральные (24,8 %) и электрохимические методы (19,2 %). Среди хроматографических методов определения наибольшее количество работ посвящено высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) (47,8 %) и тонкослойной хроматографии (ТСХ) (26,1 %) [13-19].

1.1.1. Титриметрические методы

Титриметрические методы определения анестетиков характеризуются относительно низкими пределами обнаружения, однако не решают задачу их определения на уровне микроконцентраций и не являются селективными [20].

Нитритометрический метод определения новокаина и анестезина является фармакопейным. Субстанцию новокаина в хлороводородной кислоте титруют раствором натрия нитрита. Точку эквивалентности фиксируют по изменению окраски смеси индикаторов нейтрального красного или тропеолина-00 с метиле-

новым синим. При этом 1 см^3 $0,1 \text{ моль/дм}^3$ раствора натрия нитрита соответствует $0,02728 \text{ г}$ новокаина и $0,01652 \text{ г}$ анестезина. Анестезин растворяют в хлороводородной кислоте при нагревании, охлаждают, разбавляют водой, прибавляют бромид калия и титруют раствором NaNO_2 в присутствии индикатора нейтрального красного [21]. Лидокаин после кислотного гидролиза определяют нитритометрически с индикатором тропеолин-00 в смеси с метиленовым синим. Реакция гидролиза протекает медленно вследствие стерических препятствий (наличие ди-*о*-заместителей в бензольном кольце), способ применяется редко [22, 23].

В фармацевтических препаратах с погрешностью не более 2 % новокаин титруют водным раствором тетра(4-фторфенил)бората натрия в присутствии тетрабромфенолфталеина [24].

Известна экспрессная и экологически безопасная методика титриметрического определения гидрохлорида новокаина в водно-мицеллярном растворе хлорида додецилпиридиния [25].

Установлен характер комплексообразования новокаина с тетраиодовисмутатом калия в сернокислой среде, что может быть применено при косвенном комплексонометрическом титровании [26].

Предложено броматометрическое определение новокаина и анестезина с применением в качестве индикаторов диметилового желтого, метилового красного, метанилового желтого, метилового оранжевого и тропеолина-00 [13].

Известна методика титрования лидокаина в безводной смеси муравьиной кислоты и уксусного ангидрида (1:20) $0,1 \text{ моль/дм}^3$ раствором хлорной кислоты в присутствии кристаллического фиолетового или судана (III) [20].

1.1.2. Спектральные методы анализа

Спектральные методы определения анестетиков основаны на получении спектров различной природы в оптической, микроволновой и радиоволновой частях электромагнитного излучения [27].

Известно фотоколориметрическое определение новокаина и анестезина, основанное на поглощении продуктов реакции их взаимодействия с гидрохлоридом гидроксиламина в щелочной среде и хлоридом железа (III) [28, 29].

Методика селективного определения лидокаина основана на образовании окрашенного в среде ацетатного буферного раствора (рН 5) ионного ассоциата с эозин-метиленовым синим [30]. Предел обнаружения лидокаина составляет $5,92 \cdot 10^{-7}$ моль/дм³. Аналогичные способы определения основаны на образовании ионной пары лидокаин – хромофорный органический реагент (эриохромовый черный Т, метиловый оранжевый, тропеолин 0, тропеолин 00 и бромфеноловый синий) [17, 31].

Разработана легковыполнимая, чувствительная экстракционно-спектрофотометрическая методика определения лидокаина при проточно-инжекционном анализе, основанная на экстракции ионного ассоциата с бромкрезоловым зеленым. Относительно стандартное отклонение в пределах $4,3 \cdot 10^{-3} - 5 \cdot 10^{-3}$. Градуировочный график линеен в диапазоне концентраций 1,4 – 16,2 мкг/см³ [32].

Способ экстракционно-цветометрического определения лидокаина основан на образовании ионной пары протонированной молекулы лидокаина с диссоциированной по сульфогруппе молекулой бромтимолового синего с дальнейшим переводением ионного ассоциата в фазу органического растворителя [33].

Известен цветометрический способ количественного определения лекарственных веществ в растворе с использованием цифровых технологий [34]. Для количественного определения лидокаина гидрохлорида в различных объектах разработана экстракционно-фотометрическая методика на основе его взаимодействия с салицилатным комплексом Cu^{2+} . Относительная погрешность определения не превышает $\pm 1,2\%$ [35-40].

Анестезин и новокаин в видимой области спектра определяют по реакции с 4-хлор-5,7-динитробензофуразаном или его N-оксидом. Новокаин образует окрашенные продукты также в реакциях азосочетания с 2-нафтолом, 8-оксихинолином, тимолом, анестезин – с резорцином, тимолом и фенолом [41, 42].

Разработаны спектрофотометрические способы определения анестетиков в лекарствах. Новокаин определяют в магнитных ректальных суппозиториях [43]. Лидокаина гидрохлорид детектируют в лекарственной форме «Диклизоль» при 230 нм и 280 нм с относительной погрешностью не более $\pm 1,5 \%$ [16, 44]. Спектрофотометрическое определение (погрешность $\pm 0,8 \%$) лидокаина в лекарственных таблетках «Септалена» основано на регистрации второй производной спектра поглощения раствора пробы в $0,1 \text{ моль/дм}^3 \text{ HCl}$ в интервале 200 – 300 нм. [45]. Спектрофотометрия второй производной применена для одновременного детектирования лидокаина и гидрокортизона ацетата [46].

Предложен способ определения (относительная погрешность $\pm 1,0 \%$) анестезина в присутствии каротиноидов облепихового масла в препарате «Олазоль» на основе применения модифицированного метода Фирордта. Оптимальные аналитические длины волн установлены по коэффициентам Каца-Розкина [47].

Разработан спектрофлуориметрический способ определения новокаина в фармацевтических препаратах с использованием специального реагента для первичной аминогруппы. Новокаин селективно определяют при концентрации $7,7 \text{ нг/см}^3$ при прямом измерении флуоресценции [48]. Известно, что в присутствии концентрированной серной кислоты, продукты конденсации анестезина и новокаина флуоресцируют слабо-фиолетовой окраской [49]. Изучены спектры флуоресценции новокаина в водно-этанольных растворах [50].

Методика хемилюминесцентного определения лидокаина на фоне буферного раствора Бриттона-Робинсона лидокаина апробирована при анализе мочи. Предел обнаружения $0,1 \text{ мкмоль/дм}^3$, погрешность не более 10% [51].

Известен способ детектирования анестезина и новокаина в виде 4,6-динитробензофураксановых производных методом проточно-инжекционного анализа со спектрофотометрическим детектированием (510 нм) [52].

Другие спектроскопические методы определения анестетиков применяют ограниченно. В фармацевтических препаратах методом атомно-абсорбционной спектроскопии определяют лидокаин, тетракаин и новокаин на уровне 1 мкг/см^3 после их осаждения солями кобальта [53].

Спектроскопия комбинационного рассеяния применена для селективного определения следовых количеств изоксуприна, норэфедрина, лидокаина и анестезина на бумажных долларах США [54].

Для идентификации лидокаина, бупивакаина, тримекаина и пиромекаина получены их спектры ядерно-магнитного резонанса в дейтерированной воде. Подтверждено отнесение сигналов в спектрах ядерно-магнитного резонанса местноанестеризирующих средств [55].

1.1.3. Электрохимические методы

Для определения местных анестетиков в различных объектах применяют потенциометрию, вольтамперометрию. Находят также применение кулоно- и кондуктометрические методы анализа.

Потенциометрический метод является фармакопейным при определении лидокаина. Точную навеску субстанции растворяют в спирте, прибавляют раствор хлороводородной кислоты и титруют потенциометрически раствором гидроксида натрия. При этом $1 \text{ см}^3 0,1 \text{ моль/дм}^3$ раствора гидроксида натрия соответствует 27,08 мг лидокаина [21].

При потенциометрическом титровании новокаина применяют полупроводниковые сенсоры из арсенида и антимонида индия. Скачки потенциала, полученные при титровании $0,1 \text{ моль/дм}^3$ раствором NaOH с полупроводниковыми и стеклянным электродами, практически одинаковы. Показана возможность проточно-инжекционного ионометрического определения аминов в таблетках и комбинированных препаратах. Погрешность составляет 4,3 % [56 – 58].

Известны ионоселективные электроды с мембраной из поливинилхлорида для определения новокаина и лидокаина. Для отклика на новокаин в присутствии антибиотиков мембраны пластифицируют диоктилфталатом с добавлением циклогексанона и ассоциатов новокаина с гетерополикислотами (кремневольфрамвая, кремнемолибденовая, фосфорновольфрамвая и фосфорномолибденовая кислоты), с пикратом и тетрафенилборатом натрия, а также с солью Рейнеке, тетраиодомеркуратом или тетраиодовисмутатом калия. Пластифицированные элект-

троды применимы при потенциометрическом титровании субстанций фармацевтических препаратов, содержащих 10^{-3} моль/дм³ новокаина и такое же количество цефазолина или цефтриаксона [59-65].

Для селективного определения лидокаина в фармацевтических препаратах получен ионоселективный электрод с мембраной из поливинилхлорида, содержащей ионную пару лидокаин – сульфатриазол. Электрод работает в широком интервале рН 5 – 9,5 [66, 67].

Электроды с мембранами, пластифицированными *o*-нитрофенилоктиловым эфиром с ионообменником из трис(нонилокси)бензолсульфокислоты или тетракис(4-хлорфенил)бората, используют для детектирования новокаина [68].

Потенциометрическая мультисенсорная система применима для определения новокаина и лидокаина гидрохлоридов в водных растворах, содержащих хлориды калия и натрия. Массив сенсоров включает перекрестно чувствительный ПД-сенсор, аналитический сигнал – потенциал Доннана на границе ионообменный полимер – исследуемый раствор, набор ионоселективных электродов и хлоридсеребряный электрод сравнения. Относительная погрешность определения новокаина и лидокаина гидрохлоридов не превышала 10 % [69-73].

Метод инверсионной вольтамперометрии применяют для определения малых концентраций лидокаина гидрохлорида, при этом зависимость силы тока аналитического сигнала от концентрации определяемого соединения линейна [74].

Известно концентрирование лидокаина гидрохлорида на поверхности ртутно-пленочного электрода в течение 32 с при потенциале электролиза -1,3 В на фоне 0,01 моль/дм³ раствора КОН. Анодные вольтамперные кривые регистрируют при постоянноточковой скорости развертки потенциала 55 мВ/с. Лидокаин гидрохлорид определяют по высоте пика при потенциале -0,6 В относительно хлоридсеребряного электрода. При этом снижается продолжительность анализа и предел обнаружения до 10^{-5} - 10^{-9} мг/см³ [75].

Кондуктометрическим методом анализируют водные растворы новокаина и лидокаина. Рассчитанные на основании удельной электропроводности подвижно-

сти катионов новокаина и лидокаина составляют соответственно $(37,5 \pm 0,7)$ и $(36,7 \pm 0,8)$ $\text{См} \cdot \text{м}^2/\text{моль}$ [76].

Разработан гальваностатический кулонометрический способ определения новокаина и анестезина в субстанции и лекарственных формах. Электрогенерацию галогенов осуществляли из водных $0,05$ моль/ дм^3 растворов хлорида, бромида и иодида калия в $0,1$ моль/ дм^3 HCl при постоянной силе тока $5,0$ мА. Рабочий электрод – гладкая платиновая пластинка площадью 1 см^2 , вспомогательный электрод – платиновая спираль. Предел обнаружения составляет $0,01 - 0,05$ [77, 78].

1.1.4. Электрофорез

Электрофорез позволяет разделять и идентифицировать компоненты различных смесей, в частности, содержащих местные анестетики. Методом капиллярного электрофореза с хемилюминесцентным детектированием определяется лидокаин и офлоксацин. Для сокращения времени анализа и повышения его эффективности применяют капилляр длиной 10 см [79].

Изучено разделение гидрохлоридов эпинастина и лидокаина зонным электрофорезом в капилляре длиной $64,5$ см и диаметром 50 мкм, заполненного немодифицированным кремнеземом. Анестетики детектировали при 200 нм в следующих условиях: $16,0$ ммоль/ дм^3 раствор фосфата натрия; рН $8,50$; напряжение ввода $20,0$ кВ; продолжительность ввода 30 с; напряжение разделения $26,7$ кВ. Линейный диапазон определяемых концентраций анестетиков $2,0 - 12$ нг/ см^3 [80].

Электрофоретическую идентификацию лидокаина и бупивакаина в моче и крови человека в присутствии соэкстрактивных веществ проводят при помощи капиллярного электрофореза Капель-105 с УФ-детектором (200 нм) [81].

Известно комбинирование возможностей электрофореза и масс-спектрофотометрии с технологией электроспреевой ионизации. При этом обеспечивается более высокая селективность и чувствительность определения местных анестетиков [82, 83].

1.1.5. Хроматографические методы

Детектирование первичных и вторичных аминов возможно хроматографическими методами, которые являются экспрессными, чувствительными, специфичными [19, 84-88].

Для разделения и определения анестетиков в различных объектах часто применяют хроматографию в тонком слое (ТСХ), характеризующуюся известными преимуществами, анализ в основном проводят на пластинах «Silufol UV-254» и «Сорбфил УФ» [89-93].

В фармакопейном анализе растворов лидокаина для инъекций хроматографирование в тонком слое («Silufol UV-254») проводят смесью *n*-бутиловый спирт :кислота уксусная ледяная:вода в соотношении 5:4:1 [90].

Для отделения лидокаина от тримекаина, бупивакаина, артикаина, анилокаина и пиромекаина, новокаина и анестезина от их метаболитов и совместного обнаружения новокаина и *n*-аминобензойной кислоты в трупном материале применяют смеси, содержащие хлороформ, этилацетат, этиловый спирт, *n*-бутиловый спирт, диметилкетон, толуол, диоксан, диэтиламин, диэтиловый эфир, уксусную кислоту, аммиак [13, 90, 92, 93].

При определении аминов, в частности при экспрессном установлении острых интоксикаций, применяется универсальная смесь растворителей: толуол:этиловый спирт:диметилкетон:25 % аммиак в объемном соотношении 45:45:7,5:2,5 [90].

Система растворителей: бензол:этиловый спирт (8:2) предлагается для разделения левомецетина ($R_f = 0,65$) и анестезина ($R_f = 0,45$) в модельной смеси методом ТСХ [91].

Методом восходящей ТСХ разделяют смеси парацетамола с новокаином при применении различных смесей растворителей. Минимально определяемые количества аналитов на уровне 10 мкг [89].

Известен обращенно-фазовый вариант ТСХ с применением в качестве неподвижной фазы силикагеля с привитыми углеводородными радикалами C_{18} . Применение пластин, обработанных тиоцианатом кобальта (II) и реагентом Эрлиха,

позволяет разделить новокаин, оксибупрокаин, кокаин, лидокаин, ропивакаин, анилокаин, тримекаин, пиромекаин, бупивакаин, мепивакаин и прокаинамид (подвижная фаза: этиловый спирт:вода:25 % раствор аммиака в соотношении 6:2:4). При применении различных способов детектирования предел обнаружения составляет для новокаина $10^{-4} - 2,5 \cdot 10^{-3}$, лидокаина $2,5 \cdot 10^{-4} - 5 \cdot 10^{-3}$ мг в пятне [94, 95].

Для проявления пятен местных анестетиков применяют УФ-излучение, пары йода, реактив Драгендорфа и он же, модифицированный по Мунье; свежеприготовленный реактив Манделина и раствор NaNO_2 в хлороводородной кислоте в сочетании со щелочным раствором 2-нафтола. К реагентам для обнаружения аминов также относятся тиоцианат кобальта, при обработке которым образуются соединения голубого цвета на розово-белом фоне, 4-хлор-5,7-динитробензофуразан (окраска пятен аминов – оранжево-красная, зеленая или синяя) и *n*-диметиламинобензальдегид (желтая окраска) [88, 96].

В качестве селективного реагента для проявления ароматических аминов, в частности местных анестетиков, используют раствор 5-хлор-4,6-динитробензофуразана в ацетонитриле. При этом возможна идентификация первичных аминов в присутствии вторичных и третичных, а также обнаружение изомерных и замещенных соединений [97].

Известен вариант колоночной хроматографии, где подвижные водно-органические фазы состоят из метилового, этилового, изопропилового спиртов, ацетонитрила; соотношение органической и водной фаз варьируют от 0,01 до 0,3 мол. долей. Идентификацию хроматографических зон анестезина и новокаина проводят по реакции, основанной на образовании азокрасителей [98].

При идентификации местных анестетиков методом мицеллярной электрокинетической хроматографии с УФ-детектированием новокаин и лидокаин разделяют за 14 мин при элюировании колонки 35 ммоль/дм^3 фосфатным буферным раствором (рН 7,15), содержащим $48,46 \text{ ммоль/дм}^3$ додецилсульфата натрия и 10,0 % NaOH [99].

ВЭЖХ – современный метод разделения сложных смесей. Известно его применение при анализе лекарственных средств, биологических жидкостей и тканей, имеющих многокомпонентную матрицу [100-102]. Варианты определения местных анестетиков методом ВЭЖХ без наличия предварительной пробоподготовки представлены в таблице 1.1.

Для разделения местных анестетиков применяют различные подвижные фазы, в т.ч. содержащие цианид натрия. В качестве неподвижной фазы используют колонку с привитыми алкильными радикалами C_{18} . Известно также применение модифицированных колонок, например, с добавлением ZrO_2 и полибутадиена. Для обнаружения новокаина, лидокаина и анестезина используют УФ-детекторы, значительно реже диодно-матричные или амперометрические.

Известен способ, при котором экспрессное разделение (8 мин) местных анестетиков методом ВЭЖХ в сочетании с масс-спектрометрическим детектированием достигается благодаря применению предколонки (20·2 мм ID, 3 м BDS Hypersil C_{18}) при скорости потока 1,0 см³/мин [103].

Разработана методика ВЭЖХ определения анестезина в мази «Бишофит» в присутствии продуктов его деструкции. Подвижная фаза – смесь ацетонитрил:босфатный буферный раствор (40:60), pH 3,0. Погрешность определения анестезина и примесей составляет 2,1 % и 3,5 % соответственно [112, 113].

Обнаружение анальгина и анестезина при анализе таблеток «Беллалгин» методом ВЭЖХ проводили с предварительным концентрированием на сорбентах Nova-Pak CN HP с привитыми октадецилсиланольными Symmetry C_{18} и нитрильными группами, подвижная фаза – смесь ацетонитрила и дигидрофосфата калия [114].

Методом ВЭЖХ с диодно-матричным детектированием новокаин и лидокаин определены в 17 образцах анестезирующих лекарств и в модельных смесях. Для разделения спектральных, хроматографических и концентрационных пиков использован факторный анализ [115, 116].

Таблица 1.1 – Определение местных анестетиков методом ВЭЖХ

Определяемое вещество	Анализируемый объект	Подвижная фаза	Неподвижная фаза	Детектор, условия детектирования	Предел обнаружения	Источник
Лидокаин	Водные среды	30 ммоль/дм ³ метиловый спирт : дигидрогенфосфатный буферный раствор, содержащий 10 ммоль/дм ³ пентансульфоната натрия (рН 2,5)	C ₈	УФ-детектор, 225 нм	0,2 мкг/см ³	[104]
Новокаин, лидокаин, кофеин, кокаин	Модельные смеси	NaOH : вода : H ₃ PO ₄ : 1%-ный раствор гексиламина (75:175:250:3,5)	muBondapak C ₁₈	УФ-детектор	2 мкг/см ³	[105]
Лидокаин и толперизон	Модельная смесь	додецилсульфат натрия с небольшим количеством изопропилового спирта	C ₁₈	Диодно-матричный детектор, 210 нм	0,0365 нг/см ³	[106]
Лидокаин	Лекарственные смеси из антиаритмических препаратов	NaCN : 20 ммоль/дм ³ фосфатного буферного раствора с рН 1 – 13 (28:72)	колонка с ZrO ₂ , покрытая полибутадиеном	УФ-детектор, 254 нм	–	[107]
Местные анестетики, 2,6-диметиланилин и <i>o</i> -толуидин	Фармацевтические препараты	0,01 моль/дм ³ Tris-буфер рН 7,9 : ацетонитрил (45:55).	Luna C ₁₈	Амперометрический детектор (углеродный электрод, хлоридсеребряный электрод сравнения)	1,5 нг/см ³	[108]
Лидокаин	Микросфера с альгинат – Gantrez	NaCN : раствор NH ₄ ONO ₃ (70:30), рН 4,85	LiChrospher C ₁₈	Диодный матричный детектор	2·10 ⁻³ мг/см ³	[109]
Лидокаин	Слизистая щечная свинья	ацетонитрил:метанол: Na ₂ HPO ₄ , рН 3,0 (7,5:7,5:85)	колонка C ₁₈	УФ-детектор, 224 нм	0,1 мкг/см ³	[110]
Лидокаин имоноэтилглицинксилдид	Микросом свиные	0,03 моль/дм ³ раствор KH ₂ PO ₄ : NaCN, рН 5,9 (87:13)	muBondapak C ₁₈	УФ-детектор, 205 нм	10 нг/см ³	[111]

Обращенно-фазный вариант жидкостной хроматографии рекомендуется для определения лидокаина в присутствии триметоприма, пропранолола, напроксена, эстрадиола, норэтистерона, дизопирамида и салициловой кислоты. Селективность разделения достигается при применении микроэмульсионной электрокинетической хроматографии [117, 118].

Описано использование контрольного образца для диагностики погрешностей измерений, полученных методом ВЭЖХ с диодно-матричным детектированием. При этом результаты измерений корректируются на основе известной погрешности измерения контрольного образца. Результаты определения интерпретированы на примере контрольной серии из 15 образцов с разными концентрациями лидокаина и для другой серии из 3 образцов с различным его содержанием [119].

Возможно разделение лидокаина, анекаина, анилокаина, дикаина, кокаина, пиромекаина, тримекаина и ультракаина в модельной смеси методом капиллярной хроматографии на аппаратно-программном комплексе «Кристалл 2000М» с применением единой хроматографической системы, включающей пламенно-ионизационный и термоионный детекторы [120].

Газовая хроматография с масс-селективным детектированием получила распространение в судебно-химическом и химико-токсикологическом анализе как высокоспецифичный, чувствительный и достаточно экспрессный и надежный метод идентификации веществ и их количественного определения [121-123].

Для скрининга мочи дериваты новокаина и лидокаина, полученные по реакции с уксусным ангидридом, определяли ГХ с масс-селективным детектором. Способ определения недостаточно точен [14].

Проведен анализ водных и спиртово-водных растворов анестезина и новокаина на хромато-масс-спектрометре Varian 3900/2 100T с капиллярной колонкой Varian FactorFour VF-5ms. Исследованы структурно-аналитические возможности прибора с ионным источником типа «ионная ловушка» [124].

С помощью аппаратно-программного метода фиксации времен удерживания разработана унифицированная методика обнаружения и количественного

определения новокаина в моче с пламенно-ионизационным и масс-селективным детектированием. Диапазон измеряемых концентраций хромато-масс-спектрометрии при полном сканировании составляет $5 \cdot 10^{-2} - 1 \cdot 10^3$ мкг/см³, при селективном мониторинге $5 \cdot 10^{-3} - 1 \cdot 10^3$ мкг/см³, при пламенно-ионизационном детектировании $5 \cdot 10^{-1} - 1 \cdot 10^3$ мкг/см³ [125].

Тандемная масс-спектрометрия – современный метод анализа, позволяющий проводить идентификацию большого количества соединений в микроколичествах исследуемого материала, а также получать высокие аналитические характеристики определения. Известен чувствительный, селективный и точный способ определения местных анестетиков в плазме крови и моче человека, отличающейся прямым вводом пробы в колонку хроматографа после ее ультрафильтрации и подкисления ультрафильтрата фосфорной кислотой [126].

Определение лидокаина в плазме крови методом тандемной масс-спектрометрии с химической ионизацией при атмосферном давлении позволяет определить его на уровне $0,2 - 30$ нг/см³ [127].

Известно непосредственное определение анестетиков в необработанной плазме человека, обезьяны, мыши и крысы с применением тандемной масс-спектрометрии [84, 128, 129].

1.1.6. Тест-методы определения местных анестетиков

Для качественного и полуколичественного определения местных анестетиков применяют экспрессные визуально-тестовые способы [130]. Созданы цветовые шкалы для тест-определения новокаина и лидокаина в виде ионных ассоциатов с ализариновым красным С [131-133].

Индикаторную бумагу с химической иммобилизацией 1-нафтиламина на целлюлозе применяют для тест-определения анестезина и новокаина в жидких средах. Диапазон определяемых содержаний анестетиков $0,5 - 1000$ мг/дм³, относительное стандартное отклонение результатов – $0,3$ [134].

Разработаны тестовые бумажные полоски, содержащие сахарозу в качестве твердого субстрата и Tb³⁺ (активатор), для люминесцентного анализа с разреше-

нием по времени. Полоски устойчивы при хранении в эксикаторе в течение 6 месяцев и применены для определения новокаина. Погрешность определения составляет 20 %. Предел обнаружения 0,4 мкмоль/дм³ [135].

Пенополиуретан предложен в качестве твердого реагента для получения полимерных азосоединений, предел обнаружения от 0,1 до 4 мкг/см³ [136]. Для визуально-тестового или фотометрического определения местных анестетиков применяют индикаторные пленки, содержащие ванилин, *n*-диметиламинобензальдегид, *n*-диметиламинокоричный альдегид и бромфеноловый синий в качестве индикатора. Материал-носитель – прозрачные желатиновые слои фотографических пленок. В присутствии мицелл, например, додецилсульфата натрия, чувствительность повышается на 1 – 2 порядка по отношению к реакции в водной среде, контрастность реакции возрастает. Методика применима для фотометрического определения микрограммовых концентраций новокаина и анестезина в биологических объектах [130, 137-143].

1.2. Методы для извлечения и концентрирования местных анестетиков

На сегодняшний день в химико-токсикологическом анализе самым распространенным способом выделения веществ из биообъектов и лекарственных средств является экстракция. Экстракционные способы (жидкость-жидкостная, ЖЖЭ и твердофазная, ТФЭ) позволяют одновременно разделять и концентрировать определяемые компоненты. Выделение веществ из многокомпонентной смеси способствует получению воспроизводимых и надежных результатов при определении современными физико-химическими методами [8, 144-147].

Установлены коэффициенты распределения анестезина и новокаина при экстракции из водных растворов различными растворителями (таблица 1.2). Применение эфиров наиболее перспективно для извлечения анестезина. Наибольшие коэффициенты распределения новокаина достигнуты в системах с гидрофильным изопропиловым спиртом и хлорсодержащими экстрагентами (хлороформ, дихлорметан).

При экстракции анестетиков из водных сред олеиновым спиртом при соотношении объемов равновесных фаз 1:15 коэффициенты распределения и степени извлечения анестезина, новокаина и лидокаина составляют 41,0 (73,2 %); 1,40 (8,5 %) и 54,0 (78,3 %) соответственно, что не обеспечивает практически полного извлечения. Однако, гидрофобные растворители, наряду с гидрофильными, нашли применение в жидкостной экстракции местных анестетиков [148].

Предложена мицеллярная экстракция новокаина и лидокаина в присутствии фенола и н-гептилового спирта. Максимальное извлечение анестетиков происходит, если они и индуцирующая добавка (модифицированная фаза TritonX-100) находятся в молекулярной форме [149].

Таблица 1.2 – Коэффициенты распределения анестезина и новокаина [148]

Растворитель	Коэффициенты распределения	Условия установления
Анестезин		
Гексан	0,89	27 °С, pH=2,2–6,6, $c = 10^{-2}$ - 10^{-3} моль/дм ³
н-Октиловый спирт	72,5	вычислено по корреляционным уравнениям
Пентилацетат	319	20 °С, $c = 1 - 10^{-3}$ моль/дм ³
Новокаин		
Изопропиловый спирт	63,1	вычислено по корреляционным уравнениям
Дибутиловый эфир	1,38	20 °С, $c = 1-10^{-3}$ моль/дм ³
н-Бутиловый спирт	13,5	25 °С, pH 7,0 – 8,0, $c = 10^{-2}$ - 10^{-6} моль/дм ³
Бутилацетат	5,37	
Диэтиловый эфир	12,9	
н-Октиловый спирт	11,8	
н-Пентиловый спирт	19,9	
Пропилацетат	8,13	
Хлороформ	27,5	
Этилацетат	13,2	
Дихлорметан	26,3	
Пентилацетат	11,8	
Циклогексан	0,15	
Оливковое масло	0,34	37 °С pH 7,0–7,8, $c = 10^{-4}$ - 10^{-6} моль/дм ³

Изучена экстракция лидокаина из водной фазы *o*-дибутилфталатом, суспендированным на кончике иглы микрошприца [150].

Для подавления влияния протонирования аминогруппы экстракцию новокаина из водных сред спиртами, эфирами и их смесями проводят при фиксированном значении рН 8,37 [151].

Известен способ, при котором сорбцию гидрохлорида новокаина в статических условиях на клиноптилолитовом туфе проводили при температуре 295 К из водных растворов с рН $5,60 \pm 0,1$. Максимальная иммобилизация новокаина достигается при сорбции из раствора с концентрацией 12,0 ммоль/дм³ и составляет 4,2 ммоль/г сорбента [152].

Возможны варианты эффективного экстракционного концентрирования *аци*-форм нитросоединений карбонильных веществ супрамолекулярными средами на основе поверхностно-активных веществ различных типов [153].

Применение ЖЖЭ и ТФЭ при анализе сложных объектов, в том числе с многокомпонентной матрицей, для изолирования, очистки и концентрирования при детектировании анестетиков различными физико-химическими методами анализа показано в таблице 1.3. В качестве экстрагентов преимущественно используются гидрофобные растворители, в частности хлороформ, дихлорметан, дихлорэтан, ЖЭ проводится многократно. При проведении ТФЭ известно применение модифицированных неподвижных фаз (сорбент, покрытый метакрилатным полимером; наличие привитой смешанной фазы или β -циклодекстрина; заполнение колонки сильноосновным катионообменником с группами бензолсульфоновой кислоты). Для элюирования аналитов в основном используют метиловый и этиловый спирты.

Таблица 1.3 – Экстракционное и сорбционное концентрирование при определении местных анестетиков в различных объектах

Вещество	Экстрагент/сорбент	Объект исследования	Условия проведения	Метод определения	Предел обнаружения	Погрешность, %	Источник
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>	<i>7</i>	<i>8</i>
Новокаин	Вода	Лекарственные прокладки после проведения ДЭНС-электрофореза	Прокладки измельчались заливались дистиллированной водой для экстрагирования оставшегося в них новокаина	Фотометрия (реакция диазосочетания с тимолом)	–	–	[154]
	Диэтиловый эфир	Извлечения из биологического материала	Трехкратная экстракцию из смеси диметилкетона и воды (3:1) при добавлении до рН 10 25 % мас. раствора аммиака	ТСХ, спектрофотометрия, масс-спектрометрия	2 мкг/см ³	2	[13]
		Трупный материал	Экстракция из смеси диметилкетона и воды, рН = 10 (подщелачивание 25 % мас. раствором аммиака	ТСХ, спектрофотометрия	0,03 мкг	–	[92]
	Смесь диэтилового эфира и гексана (1:1)	Печень	Экстракция из смеси диметилкетона и воды (5:3)	ТСХ, спектрофотометрия	0,75 мкг/г	20	[93]
Местные анестетики	Гексан	Водный раствор или плазма крови	Экстракцию проводят в гидрофобной микропористой мембране	ГХ, капиллярная, колонка 22 м * 0,32 мм * 0,17 мкм с 5 % сшитого фенилметилсиликона с азотно-фосфорным детектором	–	–	[155]

Продолжение таблицы 1.3

1	2	3	4	5	6	7	8
Лидокаин	Трет. бутилметилэфир	Плазма крови	Присутствие ортофосфорной кислоты	ВЭЖХ, колонка - модифицированный силикагель С ₁₈ , подвижная фаза: ацетонитрил (26 ммоль/дм ³) – ацетат аммония (рН = 4,5)	10 нг/см ³	–	[127, 156]
Местные анестетики	Дибутилфталат	Моча	Микроэкстракция, продолжительностью 40 мин	обращенно-фазная ВЭЖХ	0,05 мг/дм ³	0,06	[15, 150]
Новокаин	Дихлорметан	Плазма крови лошади	рН 11, присутствие фторида натрия, соотношение объемов водной и органической фаз 1:1,2.	ВЭЖХ в сочетании с масс-спектроскопией	1 нг/см ³	–	[157]
Лидокаин и его метаболит моноэтилглицицидид		Плазма крови (или сыворотка)	Присутствие NaOH	ВЭЖХ с УФ-детектированием при 210 нм	1 нг/см ³	–	[158]
Новокаин	Дихлорэтан	Плазма крови лошади	Двукратная экстракция при рН 9,5, присутствие фторида натрия (соотношение объемов фаз 0,6 – 1:1)	ВЭЖХ с УФ-детектированием колонка: «Radial Pak C ₁₈ », подвижная фаза: ацетонитрил : 0,0165 моль/дм ³ раствора триэтиламина (85:15)	500 нг/см ³	–	[159]

Продолжение таблицы 1.3

1	2	3	4	5	6	7	8
Лидокаин	Хлороформ	Биоматериал	–	ГХ, ВЭЖХ, ТСХ	–	–	[160]
		Лекарственные формы (мази, гели, растворы для инъекций)	Соотношение объемов водной и органической фаз 1:2	Потенциометрия	–	–	[161]
Новокаин	Хлороформ	Комбинированные препараты	pH 10 (подщелачивание 25 % мас. раствором аммиака)	Спектрофотометрия	–	–	[161]
Новокаин, лидокаин	Смесь хлороформа и изобутилового спирта (6:1)	Моча	Трехкратная экстракция при pH 8,4 – 8,6 и соотношении объемов фаз 0,3:1	ГХ с масс-селективным детектированием, дериватизация производилась с помощью уксусного ангидрида	–	–	[14]
Мегадон, новокаин, димедрол и новокаинамид	Хлороформ, патрон Диапак Силикагель	Нелегальный препарат метадона	Соотношение объемов фаз при экстракции 1:1, экстракт пропускают через патрон, сорбент последовательно промывают хлороформом и метиловым спиртом	ИК-спектроскопия (идентификация)	–	–	[162]
Лидокаин	Силикагель – С ₂	Плазма крови человека	Твердофазная микроэкстракция в шприце, сорбент промывают водой, элюирование - метиловым спиртом	Капиллярная ГХ на колонке НР ₅₀ ; масс-спектроскопия	5 нмоль/дм ³	15	[163]

Продолжение таблицы 1.3

1	2	3	4	5	6	7	8
Разделение кокаина, лидокаина и маннитола	Патрон Диапак C ₁₆	Нелегальный препарат кокаина	Элюирование аналитов метиловым спиртом	ИК-спектроскопия (идентификация)	–	–	[162]
Лидокаин, мепивакаин, бупивакаин, ропивакаин и их соли	Tenax-GC, Chromosorb-T, Chromosorb-103	Сыворотка крови человека	–	Капиллярная ГХ	1,5 мкг/см ³	6 – 9	[164]
Новокаин, имакролиды, антгельминты, диаминопиримидины, фторхинолоны, сульфонамиды	Картридж Strata-X	Сточные воды фармацевтической промышленности	pH 4,0	ВЭЖХ в сочетании с тандемной масс-спектрометрией	0,5 - 5 нг/дм ³	0,5 - 2	[165]
Местные анестетики и антигистамины	Картридж C ₁₈	Косметика	Элюирование смесью ацетонитрил : вода (8:2) с добавлением трифторуксусной кислоты (1 % мас.)	ВЭЖХ с фотодиодным детектором, колонка: «Purospher RP-18», подвижная фаза - градиентные системы	–	–	[166]

Продолжение таблицы 1.3

1	2	3	4	5	6	7	8
Новокаин, анестезин	Полиамид	Извлечения из биологического материала	Сорбция в колонке, элюирование аналитов этиловым спиртом	Фотометрия	–	–	[6]
Местные анестетики, бусульфам, ресковитин, метопролол, пиндолол	Метакрилатный полимер	Плазма крови человека	Анализ одновременно 96 проб с помощью роботизированного устройства. Продолжительность анализа 2-4 минуты.	ВЭЖХ с тандемной масс-спектрометрией	–	–	[167]
Лидокаин	Патроны с привитой смешанной фазой; анионный центр – сульфогруппы	Кровь	Двукратное элюирование смесью дихлорметан : изопропиловый спирт : 25 % аммиак (4:1:0,1)	ГХ с масс-селективным детектированием	1000 нг/см ³	–	[168]
Лидокаин, парацетамол, гиосцин бумбромид	Колонка Bond-Elut SCX, заполненная сильноосновным катионообменником с группами бензолсульфоной кислоты	Растворы для инъекций	Элюирование смесью NaOH : 1 моль/дм ³ HCl (70:30)	ВЭЖХ с УФ-детектированием колонка: BDS C ₁₈ , подвижная фаза: NaCN : 0,2 М CH ₃ COONH ₄ (30:70)	30 мкг/см ³	0,7	[169]
Местные анестетики	Полистирол Purosep-270 и пластина с β-циклодекстрином и ПАВ	Моча и сыворотка крови	Применяли off-line концентрирования на сверхшлитоле полистироле и on-line на пластине	ВЭЖХ с денситометрическим детектированием	–	–	[170]

Продолжение таблицы 1.3

1	2	3	4	5	6	7	8
Местные анестетики	Сорбент с насадкой катионообменника (бензолсульфоновая кислота)	Плазма крови человека	ТФЭ проводят в микрошприце в потоке, подвижная фаза: метиловый спирт : вода (1:1)	ВЭЖХ в сочетании с тандемной масс-спектрометрией	2 нмоль/дм ³	–	[171]
Местные анестетики	Сорбент, спрессованный в таблетку	Плазма крови человека	Пробоподготовка в режиме автоматического режима	Капиллярный электрофорез	1 – 10 мкг/см ³	9	[172]
Лидокаин и диазепам	–	Модельные смеси	Твердофазная микроэкстракция с применением off-line и on-line режима десорбции	ГХ	1 мкг/см ³	–	[173]
Первичные и вторичные амины		Волосы, слюна, моча, кровь	Твердофазная микроэкстракция	ГХ с масс-селективным детектированием	0,7 нг/мг	2	[84]

Детектирование местных анестетиков проводят в большинстве случаев хроматографическими (ТСХ, ЖХ, ВЭЖХ, ГХ) и оптическими методами (фотометрия, спектрофотометрия, ИК-спектроскопия).

* * *

Обзор известных данных об извлечении, концентрировании, разделении и определении местных анестетиков позволяет сделать вывод об отсутствии систематических исследований в этом направлении. Недостаточно разработаны способы их определения непосредственно в концентратах.

Перспективна разработка новых, комбинированных с экстракционным извлечением способов определения местных анестетиков в водных средах, биообъектах и фармацевтических препаратах, которые позволят снизить пределы обнаружения веществ, удешевить проведение анализа и сделать его доступным для мало оснащенных лабораторий.

ГЛАВА 2. МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

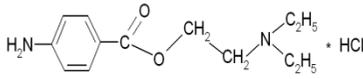
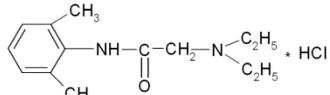
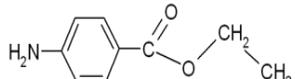
2.1. Объекты исследования

Объекты исследования: новокаин [2-(диэтиламино)этил-4-аминобензоата гидрохлорид], лидокаин [2-(диэтиламино)-N-(2,6-диметилфенил)ацетамид гидрохлорид] и анестезин [4-аминобензойной кислоты этиловый эфир] – местные анестетики, наиболее применяемые в лечебной практике. Новокаин и анестезин – эфиры *n*-аминобензойной кислоты, лидокаин – производное ацетанилида. Структурные формулы и некоторые физико-химические свойства объектов исследования приведены в таблице 2.1. По физическим свойствам это белые кристаллические порошки без запаха и/или бесцветные кристаллы (новокаин), горьковатого вкуса [20, 174]. Местные анестетики являются синтетическими препаратами. Анестезин получают этерификацией *n*-аминобензойной кислоты этиловым спиртом, новокаин – переэтерификацией бензокаина диэтиламиноэтанолом в присутствии алкоголята натрия, лидокаин – взаимодействием 2,6-диметил-N,N-диэтиламиноацетанилида с хлористым водородом [175].

2.2. Реактивы

Препараты новокаина, анестезина и лидокаина соответствовали фармакопейной чистоте. Вещества идентифицировали по соответствию положения полос поглощения в ИК-спектре (бромид калия, $400-4000\text{ см}^{-1}$) по отношению к спектрам, приведенным в Государственной Фармакопее (рисунки 1 и 2 в приложении А). Температура плавления анестетиков соответствовала литературным данным [21].

Таблица 2.1 – Структурные формулы и некоторые физико-химические свойства объектов исследования [176-182]

Структурная формула, название			
Основные физико-химические свойства	Новокаин	Лидокаин	Анестезин
Молекулярная масса, M_r	272,77	270,81	165,19
Плотность d^{25} , г/см ³	1,08 ± 0,06	1,03 ± 0,06	1,13 ± 0,06
Молярный объем V_m , см ³	219,39 ± 3	228,35 ± 3	146,11 ± 3
Поляризуемость b , $10 \cdot e^{-24}$ см ³	27,41 ± 0,5	28,71 ± 0,5	18,59 ± 0,5
Показатель преломления n , 20 °С	1,54 ± 0,02	1,55 ± 0,02	1,55 ± 0,02
Молярная рефракция R_∞ , см ³ /моль	69,15 ± 0,3	72,43 ± 0,3	46,9 ± 0,3
Температура плавления, $t_{\text{кпл}}$ °С	155 ± 1,00	129 ± 1,00	90,25 ± 1,25
Температура кипения, $t_{\text{пл}}$ °С	373,64 ± 22	350,82 ± 30	310,73 ± 15
pK_a	8,9	7,7	2,5
Растворимость при 20 °С, г/дм ³	Вода	1000 (1:1)	1429 (1:0,7)
	Этиловый спирт	125 (1:8)	667 (1:1,5)
	Диэтиловый эфир	Практически не растворим	Практически не растворим
			250

Растворители (алифатические спирты нормального и изомерного строения $C_2 - C_9$, алкилацетаты $C_1 - C_5$, гексан, изооктан, хлороформ, 1,2-дихлорэтан, диметилкетон, 1,4-диоксан) дважды дистиллировали и идентифицировали по показателям преломления (рефрактометр ИРФ-454 Б2М).

Дифенилгуанидин квалификации ч. дополнительно очищали последовательной перекристаллизацией из этилового спирта с объемной долей 95 % и из толуола, затем препарат высушивали при 117 °С в течение 5 часов [183].

При хроматографировании концентратов в тонком слое применяли алифатические спирты $C_1 - C_4$, диметилкетон, гексан и ацетонитрил квалификации х.ч. для хроматографии. Некоторые физико-химические свойства растворителей представлены в таблице 2.2.

Сульфаты и хлориды калия и натрия, сульфат аммония, карбонат калия, перекристаллизовывали из препаратов квалификации ч.д.а. Трихлоруксусная кислота соответствовала квалификации ч., уксусная ледяная кислота и дигидрофосфат калия – х.ч., 2-нафтол, хлороводородная кислота, гидроксид натрия, водный раствор гидроксида аммония, а также индикаторы диметиловый желтый, метиленовый голубой, ализариновый красный С – ч.д.а, ортофосфорная кислота и азотная кислота – о.ч. Нитрат висмута и йодид калия соответствовали фармакопейной чистоте.

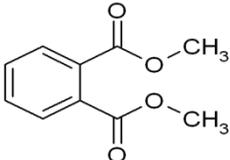
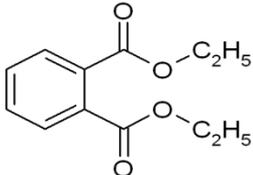
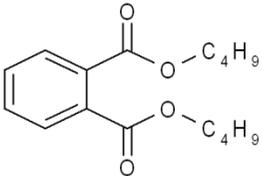
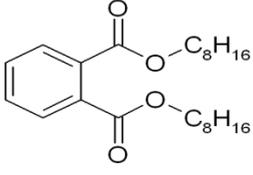
В качестве сольвотропных реагентов применяли камфору квалификации фарм. и диметилфталат, диэтилфталат, дибутилфталат, диоктилфталат, бензофенон, фенетол, дифенил – ч. В таблице 2.3 представлены некоторые физико-химические свойства применяемых в работе соединений.

Все растворы готовили на бидистиллированной воде по ГОСТ 4517-87. Необходимую кислотность среды создавали аммонийным и ацетатным буферными растворами.

Таблица 2.2 – Некоторые физико-химические свойства растворителей [179, 181, 182, 184]

Экстрагенты	Молекулярная масса, M_r	$t_{\text{кип}}, ^\circ\text{C}$	Показатель преломления n , 20°C	Диэлектрическая проницаемость ϵ	Дипольный момент μ , Д	Плотность $d^{25}, \text{г/см}^3$	Поверхностное натяжение σ , дин/см	Растворимость в воде, мас. %, 25°C
Метиловый спирт	32,04	65	1,3286	33,10	1,65	0,7918	22,61	∞
Этиловый спирт	46,07	78	1,3611	25,00	1,69	0,7893	22,39	∞
н-Пропиловый спирт	60,09	97	1,3856	20,10	1,64	0,7995	23,70	∞
Изопропиловый спирт	60,09	83	1,3776	18,30	1,68	1,3747	21,51	∞
н-Бутиловый спирт	74,12	118	1,3992	17,51	1,63	0,8134	24,57	7,45
Изобутиловый спирт	74,12	108	1,3902	17,93	1,63	0,7944	22,98	9,50
н-Пентиловый спирт	88,15	138	1,4103	13,90	0,80	0,8146	9,45	2,24
н-Гексиловый спирт	102,18	157	1,4136	13,30	0	0,8222	9,14	0,71
н-Октиловый спирт	130,23	195	1,4292	9,87	0	0,8264	8,76	0,05
н-Нониловый спирт	144,26	203	1,4300	-	0	0,8273	8,54	Не растворим
Диметилкетон	58,08	58	1,3591	20,56	2,70	0,7908	20,90	∞
Ацетонитрил	41,05	82	1,3460	38,80	3,92	0,7875	26,64	∞
1,4-Диоксан	88,11	103	1,2426	13,10	1,54	1,4224	20,70	8,50
Гексан	86,18	69	1,3749	1,89	0,08	0,6594	18,43	$9,5 \cdot 10^{-4}$
Изооктан	114,23	99	1,3916	-	-	0,6919	18,85	$2,44 \cdot 10^{-4}$
Этилацетат	88,11	77	1,3724	6,02	1,81	0,8946	23,75	8,08
Бутилацетат	116,16	127	1,3873	5,01	1,91	0,8756	14,53	0,50
Пентилацетат	130,19	149	1,4012	4,75	1,84	0,8818	12,00	0,17
Хлороформ	119,38	61	1,4486	4,80	1,15	1,4891	31,58	0,88
1,2-Дихлорэтан	98,95	83	1,4448	10,36	1,75	1,2572	32,23	0,86

Таблица 2.3 – Некоторые физико-химические свойства сольвотропных реагентов [176, 177, 179, 181, 182]

Параметры Сольвотропный реагент	Молекулярная масса M_r	$t_{\text{кип}}, ^\circ\text{C}$	Показатель преломления n	Дипольный момент $\mu, \text{Д}$	Плотность, $d^{25}, \text{г/см}^3$	Динамическая вязкость $\eta, \text{мПа}\cdot\text{с}$	Растворимость, г/100 см^3	
							Вода	Этиловый спирт
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>	<i>7</i>	<i>8</i>	<i>9</i>
 Диметилфталат	194,18	282	1,5125	2,62	1,1905	16,3	0,5	Растворим
 Диэтилфталат	222,24	296	1,500	-	1,1180	10,06	0,0999	Смешивается
 Дибутилфталат	278,35	340	1,4920	2,82	1,0500	21	0,1	Растворим
 Диоктилфталат	390,56	229	1,486	-	0,9780	40	Не растворим	-

Продолжение таблицы 2.3

	2	3	4	5	6	7	8	9
<p>Камфора (1,7,7-триметил- бицикло[2,2,1]гептан-2-он)</p>	152,23	204	1,4700	2,95	0,9900	-	0,12	100
<p>Бензофенон</p>	182,22	305	1,5893	-	1,1100	-	0,1	39,1
<p>Фенетол</p>	122,16	170	1,5171	1,4	1,0114	6,87	0,12	растворим
<p>Дифенил</p>	154,21	256	1,5873	0	1,1560	-	$6,45 \cdot 10^{-4}$	9,98

2.3. Спектрофотометрический анализ водной и органической фаз

Спектры поглощения анестетиков в различных растворителях получали на спектрофотометре Shimadzu UV Mini-1240 (кварцевая кювета, $l = 1$ см) в диапазоне длин волн 190 – 320 нм, на основании которых установлены характеристические длины волн (λ_{max}) для анализа водной и органической фаз (рисунки 2.1, 2.2).

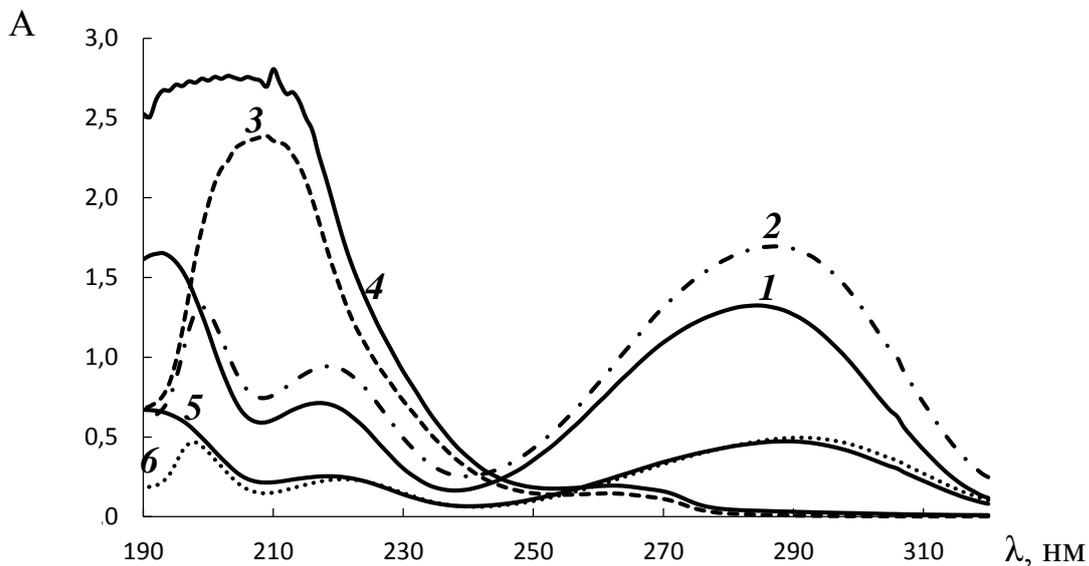


Рисунок 2.1 – Спектры поглощения анестезина (1 и 2), лидокаина (3 и 4) и новокаина (5 и 6) в водных (1, 3, 5) и водно-солевых (сульфат аммония) растворах

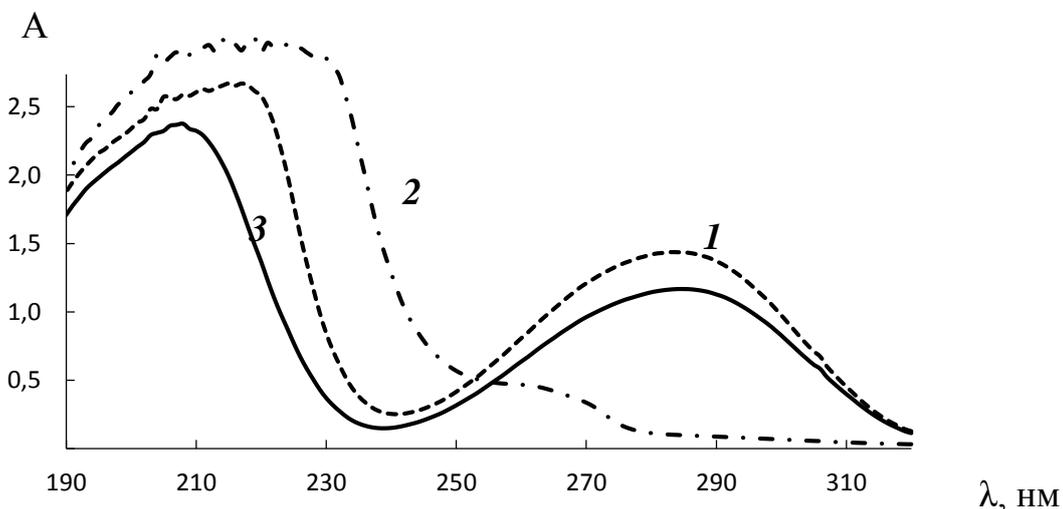


Рисунок 2.2 – Спектры поглощения анестезина (1), лидокаина (2) и новокаина (3) в водно-солевых (карбонат калия) растворах

В водно-солевых растворах анестетиков по сравнению с водными установлены небольшие отличия в спектрах поглощения (рисунок 2.1). Это обусловлено изменением ионной силы раствора и, как следствие, возникновением батохром-

ных и гипсохромных сдвигов. Приводим молярные коэффициенты светопоглощения и характеристические длины волн водных и водно-солевых растворов анестетиков (таблица 2.4).

Таблица 2.4 – Характеристические длины волн (λ_{\max} , нм), молярные коэффициенты (ϵ , $\text{дм}^3 \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$) светопоглощения водных и водно-солевых растворов местных анестетиков

Местный анестетик	Водный раствор		Водно-солевой раствор сульфата аммония		Водно-солевой раствор карбоната калия	
	λ_{\max}	$\epsilon \cdot 10^{-4}$	λ_{\max}	$\epsilon \cdot 10^{-4}$	λ_{\max}	$\epsilon \cdot 10^{-4}$
Анестезин	193	1,82	199	1,13	–	–
	217	0,78	218	0,81	215	2,70
	284	1,45	287	1,45	283	1,45
Новокаин	–	–	198	1,36	–	–
	217	0,77	221	0,68	208	2,81
	291	1,35	291	1,35	285	1,35
Лидокаин	210	0,58	209	0,66	219	0,26
	262	0,04	261	0,04	260	0,04

Наибольшая чувствительность спектрофотометрического определения новокаина и анестезина в водном растворе и насыщенном растворе сульфата аммония достигается при $\lambda_{\max} = 291$ нм и 284 нм соответственно. Например, для водного раствора новокаина молярный коэффициент светопоглощения в 1,7 раза больше при 291 нм, чем при 217 нм; для анестезина различие составляет 1,9 раза (при 284 и 217). Отметим, что при 219 и 284 нм (водный раствор) и 199 и 287 нм (насыщенный раствор сульфата аммония) молярные коэффициенты светопоглощения анестезина близки ($1,82 \cdot 10^4$ и $1,45 \cdot 10^4$ – для водного и $1,13 \cdot 10^4$ и $1,45 \cdot 10^4$ $\text{дм}^3 \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ – для водно-солевого раствора сульфата аммония).

Для лидокаина, характеризующегося двумя максимумами в спектрах поглощения, наибольшая чувствительность определения достигается при 201, 209 и 215 нм соответственно для водного раствора, растворов сульфата аммония и карбоната калия. Разница молярных коэффициентов светопоглощения составляет 14,4, 16,3 и 6,4 раза. Однако, поглощение при этих длинах волн неселективно.

При фотометрировании анестетиков в насыщенном растворе карбоната калия в спектрах поглощения установлено по два максимума светопоглощения. Коэффициенты ϵ максимальны для анестетиков в диапазоне 205 – 219 нм. Чувствительность определения новокаина (при 285 нм) и анестезина (при 283 нм) меньше почти в 2 раза, чем при 208 нм (новокаин) и 215 нм (анестезин).

Для водных и водно-солевых растворов анестетиков молярные коэффициенты светопоглощения новокаина и анестезина различаются незначительно. Для лидокаина чувствительность определения на порядок ниже по сравнению с новокаином и анестезином.

Для построения градуировочных графиков разбавлением стандартных растворов готовили серии водных растворов, содержащих (мг/см^3) $3 \cdot 10^{-4}$ – $1,6 \cdot 10^{-2}$ анестезина, $3 \cdot 10^{-3}$ – $3 \cdot 10^{-2}$ новокаина и $5 \cdot 10^{-2}$ – $5 \cdot 10^{-1}$ лидокаина. Уравнения градуировочных графиков для водных растворов анестезина, новокаина и лидокаина приведены в таблице 2.5.

Таблица 2.5 – Уравнения градуировочных графиков для определения местных анестетиков в водных растворах при характеристических длинах волн (λ_{max})

Анестетик, характеристическая длина волны λ_{max} , нм	Уравнение градуировочного графика (c , мг/см^3)	Коэффициент корреляции (R^2)
Анестезин, 284	$A = 88,05 \cdot c$	0,9996
Новокаин, 291	$A = 49,35 \cdot c$	0,9982
Лидокаин, 262	$A = 1,490 \cdot c$	0,9981

Приведенные длины волн, молярные и удельные коэффициенты светопоглощения позволяют идентифицировать анестетики в растворах [20].

2.4. Потенциометрическое титрование экстрактов

Титрование в неводных средах основано на кислотно-основном взаимодействии анестетиков с хлороводородной кислотой.

Измерения проводили на потенциометре рН-150 М. В ячейку для титрования (рисунок 2.3) помещали $0,5 \text{ см}^3$ экстракта анестетиков, прибавляли $4,5 \text{ см}^3$ дифференцирующего растворителя и перемешивали после добавления каждой порции титранта ($0,05$ – $0,1 \text{ см}^3$ раствора $0,1 \text{ моль/дм}^3$ HCl в соответствующем дифференцирующем

растворителе). Выдерживали 10 – 30 сек для стабилизации сигнала и отмечали показания прибора. Титровали до установления практически постоянного потенциала.

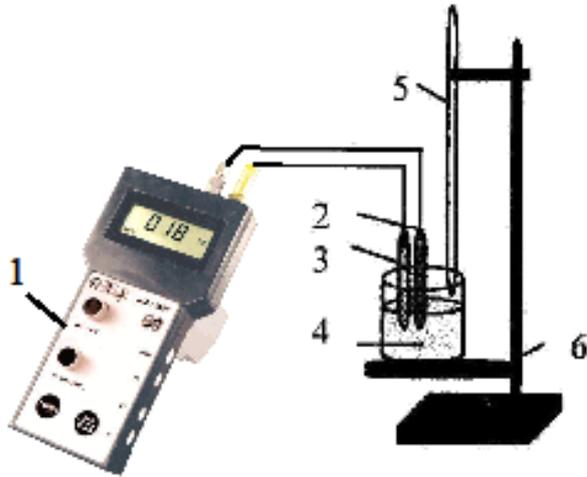


Рисунок 2.3 – Установка для потенциометрического титрования экстрактов: 1 – pH-метр; 2 – платиновый электрод; 3 – хлоридсеребряный электрод; 4 – ячейка с экстрактом; 5 – микробюретка; 6 – штатив

Титрант стандартизировали по раствору *симм*-дифенилгуанидина в смеси метилового и изопропилового спиртов (35:65 об.). Титрование проводили в присутствии индикатора – раствор смеси диметилового желтого и метиленового голубого в метиловом спирте (переход зеленой окраски раствора в янтарную). При этом 1 см³ раствора 0,1 моль/дм³ HCl эквивалентен 21,13 мг *симм*-дифенилгуанидина [183].

2.5. ИК-спектроскопия анестетиков и их растворов

Состав и строение образующихся при экстракции в равновесной органической фазе комплексов, а также идентификацию препаратов объектов исследования проводили методом ИК-спектроскопии [185-188].

ИК-Фурье спектры получали на спектрометре «ИнфраЛЮМ ФТ-08» фирмы Люмекс (Россия) в диапазоне частот валентных колебаний 400 – 5000 см⁻¹. Результаты получали в виде интерферограммы с применением компьютерной программы СпектраЛЮМ.

При идентификации местных анестетиков их препараты растирали в агатовой ступке до мелкодисперсного состояния и сушили в термостате до постоянной массы. Монокристаллический бромид калия растирали в ступке и сушили в тер-

мостате при 150 – 160 °С до удаления следов влаги. Прессованием готовили таблетку из бромида калия с массовой долей анестетиков 1 %. Анализ проводили, применяя приставку диффузного отражения.

Спектры водных растворов анестетиков, растворителей и экстрактов получали методом нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО) с применением соответствующей ячейки (рисунок 2.4). Метод НПВО основан на проникновении световой волны из оптически более плотной среды (с показателем преломления n_1) в менее плотную среду (с показателем преломления n_2) на глубину порядка длины световой волны в условиях полного внутреннего отражения (ПВО), то есть при падении света на границу раздела сред под углом, большим критического $q_{кр} = \arcsin(n_2/n_1)$. Нарушение ПВО заключается в том, что коэффициент отражения $R_{отр} = I_0/I_t$ становится меньше единицы вследствие поглощения света в слое, в который проникает волна, падающая на отражающую среду [189].

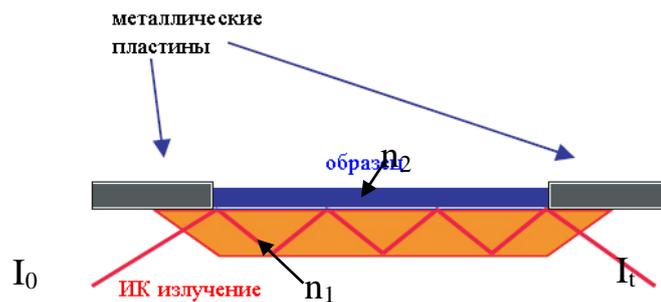


Рисунок 2.4 – Ячейка для НПВО

Прибор снабжен цинк-селеновой призмой с алмазным напылением и разборной жидкостной кюветой из оксида кремния с длиной оптического пути 5 см. Снятие спектра проводили при 60 сканах в режиме Standart.

2.6. Определение анестетиков методом хроматографии в тонком слое

Определение включает следующие стадии: подготовку пластин и хроматографической камеры, получение концентрата, нанесение пробы на пластину, хроматографирование [190].

В хроматографическую камеру размером 200·200·100 мм помещали подвижную фазу. Камеру закрывали и оставляли на 30 мин для насыщения парами растворителей.

Применяли пластины Sorbfil ПТСХ-АФ-А-УФ (Россия) с силикагелем на Al-подложке (150·150 мм).

Хроматографические пластины предварительно активировали в концентрированном растворе аммиака и высушивали при 100 ± 5 °С. Активированные пластины хранили над слоем силикагеля.

На пластине отмечали линии старта (на расстоянии 1,5 – 2 см от нижнего края пластины) и финиша с таким расчетом, чтобы расстояние между ними составляло 8 – 10 см. Микрошприцем отбирали 0,01 см³ экстракта и стандартного раствора анестетика, наносили на линию старта, пластину подсушивали на воздухе. Затем помещали ее в камеру и хроматографировали. После достижения подвижной фазой линии финиша пластину извлекали из хроматографической камеры и сушили на воздухе.

На рисунке 2.5 показан общий вид пластины после хроматографирования и установление фронта смещения разделяемых анестетиков и элюента [190].

Вещества идентифицировали по окраске и коэффициенту подвижности R_f (2.1):

$$R_f = \ell/L, \quad (2.1)$$

где ℓ и L – фронт смещения пятна идентифицируемого анестетика и растворителя соответственно.

Селективность разделения веществ оценивали по коэффициентам разделения α :

$$\alpha = \ell_1/\ell_2. \quad (2.2)$$

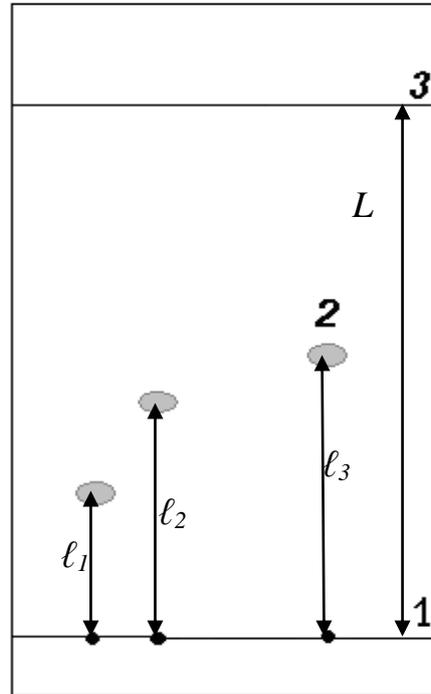


Рисунок 2.5 – Установление фронта смещения разделяемых анестетиков и элюента после хроматографирования: **1** – линия старта, **2** – пятно анестетика, **3** – фронт растворителя

2.7. Анализ концентратов методом ВЭЖХ

Эксперимент выполняли на жидкостном хроматографе «Миличром-5» с УФ-детектором, колонка «Nucleosil C₁₈» размером 2×80 мм, диаметр частиц сорбента 5 мкм; объем пробы – 10⁻² см³, скорость подачи подвижной фазы – 0,1 см³/мин. Подвижные фазы фильтровали через мембранный фильтр диаметром 13 мм с размером пор 0,2 мкм, для дегазации применяли продувку гелием. Результаты получали и обрабатывали при помощи программы МультиХром для Windows.

2.8. Газо-жидкостная хроматография

с масс-спектрометрическим детектированием

Анализ концентратов проводили на газовом хроматографе Agilent Technologies (США) модели 6850 Network GC System с квадрупольным масс-селективным детектором модели 5973 Network.

Хроматографирование осуществляли в капиллярной колонке DB-5 MS EVIDEX длиной 25 м, внутренним диаметром 0,2 мм, толщина неподвижной фазы 0,33 мкм (5%-фенил-95%-метилполисилоксан).

Масс-селективный детектор работает в режиме электронного удара (70 эВ). Регистрацию масс-спектра проводили по полному ионному току с задержкой 2,5 минуты.

Газ-носитель – гелий. Подачу газа-носителя производили со скоростью 0,7 см³/мин. Режим с делением потока 1:2. Диапазон сканирования составляет 40-500 m/z.

2.9. Методика экстракции местных анестетиков

Для получения достоверных данных об экстракции анестетиков их исходные концентрации должны исключать самоассоциацию в водно-солевой и органической фазах [191]. Для проверки этого условия строили изотермы экстракции $C_o = f(C_v)$ для водно-солевых растворов (высаливатели – сульфат аммония или карбонат калия) с концентрациями (мг/см³) 0,005 – 0,5 (новокаин); 0,03 – 3,0 (анестезин) и 0,001 – 0,1 (лидокаин) соответственно). Эксперимент выполняли при 22 ± 2 °С. К 5 см³ раствора анестетика в практически насыщенном водном растворе высаливателя добавляли 1 см³ экстрагента и перемешивали на вибросмесителе с амплитудой колебаний $120 \div 140$ кол/мин. Спектрофотометрически устанавливали равновесные концентрации анестетиков в водной и органической фазах. Изотермы экстракции прямолинейны в изученном интервале концентраций, самоассоциация распределяемых соединений исключается [192].

Экстракция индивидуальными экстрагентами. К 5 см³ раствора анестетика в практически насыщенном водном растворе высаливателя добавляли по 1 см³ растворителя, экстрагировали 5 мин, экстракт отделяли. Измеряли оптическую плотность равновесных водных растворов относительно раствора сравнения, который содержал все компоненты, кроме определяемого.

Рассчитывали количественные характеристики экстракции – коэффициенты распределения (D) и концентрирования (K), степень извлечения (R , %):

$$D = c_o/c_v \quad (2.3)$$

где c_o и c_e – концентрации анестетика в равновесных органической и водной фазах соответственно, мг/см³;

$$K = [100D/R] - D, \quad (2.4)$$

где $R = 97 \div 99 \%$.

$$R = \frac{D}{D+f} \cdot 100\%, \quad (2.5)$$

где f – соотношение равновесных объемов водной и органической фаз (V_B/V_O).

Степень извлечения при n -кратной экстракции вычисляли по уравнению (2.6):

$$R_n = (100 - R_{n-1})R_{n-1}/100, \quad (2.6)$$

где R_n и R_{n-1} – степень извлечения анестетиков при n и $(n - 1)$ экстракции соответственно, %.

Экстракция бинарными смесями растворителей. Для расчета состава бинарной смеси растворителей молярные объемы каждого компонента (V , см³) вычисляли по уравнениям (2.7):

$$\begin{aligned} V_1 &= M_1/\rho_1, \\ V_2 &= M_2/\rho_2; \end{aligned} \quad (2.7)$$

где M_1, M_2 – молярные массы, г/моль; ρ_1, ρ_2 – плотности экстрагентов 1 и 2 соответственно, г/см³ (таблица 2.2).

Рассчитывали молярные объемы (V_{m1} и V_{m2} , см³) каждого растворителя по уравнениям (2.8) и (2.9):

$$V_{m1} = n_1V_1, \quad (2.8)$$

$$V_{m2} = (1 - n_1)V_2 = n_2V_2, \quad (2.9)$$

$$n_1 + n_2 = 1, \quad (2.10)$$

где n_1, n_2 – молярные доли растворителей 1 и 2 соответственно.

Далее эксперимент и расчеты выполняли, как при экстракции индивидуальными растворителями.

Для количественной оценки синергизма при экстракции анестетиков смесями растворителей рассчитывали коэффициенты синергетности K_c [193]:

$$K_c = \lg D_{см} / D_{add}, \quad (2.11)$$

где $D_{см}$ – коэффициенты распределения местного анестетика в системе бинарная смесь экстрагентов – высаливатель – вода, и D_{add} – аддитивное значение коэффициента распределения, рассчитанное по известным коэффициентам распределения анестетика в системах с индивидуальными экстрагентами (D_1 и D_2) и мольной долей одного из компонентов смеси растворителей (n_1):

$$D_{add} = n_1 \cdot \lg D_1 + (1 - n_1) \cdot \lg D_2 \quad (2.12)$$

Константы образования сольватов ($\lg K_{сольв1}$ и $\lg K_{сольв2}$) устанавливали по величинам отрезка, отсекаемого прямой $\lg(D_{см}/D_{наим.эфф.} - 1) = f \lg[C]_0$ на оси ординат, где $D_{наим.эфф.}$ – коэффициент распределения анестетика в системе с менее эффективным индивидуальным растворителем; сольватные числа (m и n) рассчитывали как тангенс угла наклона прямой к оси абсцисс [10].

Коэффициенты вытеснения K_e рассчитывали по формуле (2.13) [10]:

$$K_e = (\lg (D_{эфф.} / D_{см})) / C, \quad (2.13)$$

где $D_{эфф.}$ – коэффициент распределения анестетика в системе с более эффективным индивидуальным растворителем, C – концентрация менее активного экстрагента, мол. д.

Коэффициенты обогащения (S) и разделения (β) рассчитывали по формулам (2.14) и (2.15) [194]:

$$S = R_{см1} / R_{см2}, \quad (2.14)$$

$$\beta = D_{см1} / D_{см2}, \quad (2.15)$$

где $R_{см1}$ и $R_{см2}$ – степени извлечения анестетиков 1 и 2 соответственно, %, $D_{см1}$ и $D_{см2}$ – коэффициенты распределения разделяемых анестетиков 1 и 2.

Экстракция органическими растворителями с применением сольватропных реагентов.

Растворы сольватропных реагентов готовили в индивидуальных экстрагентах с концентрациями от 1 до 30 % мас. Для установления коэффициентов распределения к 5 см³ водно-солевых растворов анестетиков добавляли 1 см³ раство-

ра сольвотропного экстрагента и экстрагировали. После достижения межфазного равновесия спектрофотометрически устанавливали концентрации анестетика в органической и водной фазах.

Органическую фазу также анализировали методом хроматографии в тонком слое. Коэффициенты распределения, концентрирования и степень извлечения рассчитывали как при экстракции индивидуальными растворителями.

2.10. Статистическая обработка результатов анализа

При статистической обработке результатов эксперимента оценивали воспроизводимость, правильность и предел обнаружения [9].

Воспроизводимость – это качество единичных измерений (X_i), отражающее близость друг к другу результатов измерений, полученных на идентичных объектах испытаний в различных условиях (разными методами, в различных лабораториях и разное время, с использованием различного оборудования).

Мерой воспроизводимости являются выборочное стандартное отклонение (S_n), относительное стандартное отклонение (S_r) и дисперсия (σ^2), которые рассчитывали по следующим формулам [195]:

$$S_n = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}{n-1}}, \quad (2.16)$$

где \bar{X} – среднестатистическая величина измерений; n – число параллельных измерений.

$$S_r = \frac{S_n}{X} \cdot 100\% \quad (2.17)$$

$$\sigma^2 = \frac{\sum_{i=1}^{i=n} (x_i - \bar{x})^2}{n-1} \quad (2.18)$$

Для оценки правильности (качества измерений, отражающего близость к нулю систематической погрешности) проводили расчет доверительного интервала (δ):

$$\delta = \pm \frac{t_{p.f} \cdot S_n}{\sqrt{n}}, \quad (2.19)$$

где $t_{P,f}$ – коэффициент распределения Стьюдента, зависящий от выбранного доверительного уровня P и числа степеней свободы $f = n - 1$.

Предел обнаружения (c_{min}), соответствующий наименьшему содержанию анестетика, при котором по данной методике можно обнаружить его присутствие с заданной доверительной вероятностью, рассчитывали по $3s$ -критерию [196]:

$$c_{min} = 3S_o/b, \quad (2.20)$$

где S_o – стандартное отклонение при измерении сигнала при проведении опыта, заведомо не содержащего анестетика, b – коэффициент инструментальной чувствительности, равный тангенсу угла наклона прямолинейного участка градуировочной прямой $y = a + b \cdot c$, где c – концентрация анестетика.

Для оценки отклонения измеренного значения величины от ее истинного значения ($X_{ист}$) рассчитывали относительную погрешность определения Δ (%):

$$\Delta = \frac{\Delta X}{X_{ист}} \cdot 100\%, \quad (2.21)$$

где $\Delta X = X_i - X_{ист}$ – абсолютная погрешность измерения.

Проверяли, является ли величина промахом, используя Q -критерий [46]:

$$Q = (x_1 - x_2)/R, \quad (2.22)$$

где x_1 – сомнительный результат, x_2 – значение соседнего результата (результаты располагали в порядке возрастания), R – разность между крайними значениями результатов, не вызывающих сомнения. При превышении значения Q -критерия, по отношению к табличной величине (при заданном количестве определений и принятой доверительной вероятности $P = 0,95$), сомнительный результат исключали из выборки, расчет повторяли с оставшимися значениями.

ГЛАВА 3. ЗАКОНОМЕРНОСТИ ЭКСТРАКЦИИ МЕСТНЫХ АНЕСТЕТИКОВ

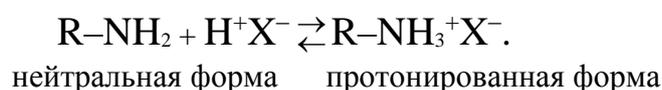
3.1. Экстракция местных анестетиков индивидуальными органическими растворителями

Необходимое условие экстракции из водных сред растворителями, частично или полностью смешивающимися с водой – введение в водный раствор до экстракции высаливателя. При этом происходит снижение растворимости экстрагента в воде, что приводит к образованию двухфазной системы, образуется достаточное для анализа количество органической фазы. Применение электролитов вызывает изменение диэлектрической проницаемости среды и ионной силы раствора, что способствует переходу распределяемого вещества из водной фазы в органическую [197-199].

Эффективность действия высаливателя во многом определяется природой электролита, его концентрацией и свойствами распределяемого вещества [200]. Повышение концентрации высаливателя в водном растворе сопровождается закономерным увеличением коэффициентов распределения и степени извлечения анестетиков. Это обусловлено уменьшением растворимости экстрагируемого соединения в воде, тогда как его растворимость в органических растворителях практически не изменяется [201].

Максимальные количественные характеристики экстракции анестетиков достигаются при применении насыщенных растворов сульфата аммония (38 мас. %) и карбоната калия (52 мас. %), что объясняется различной растворимостью солей в воде – 11,1; 19,2; 34,0; 35,8; 75,4 и 110,5 г/100 см³ при 20 °С для K₂SO₄, Na₂SO₄, KCl, NaCl, (NH₄)₂SO₄, K₂CO₃ соответственно [199].

Местные анестетики наиболее полно извлекаются из щелочных растворов (рисунок 3.1). Это обусловлено подавлением протонирования аминогруппы, нейтральная форма вещества переходит в органическую фазу [151]:



При применении сульфата аммония водные растворы подщелачивали аммонийной буферной смесью [174].

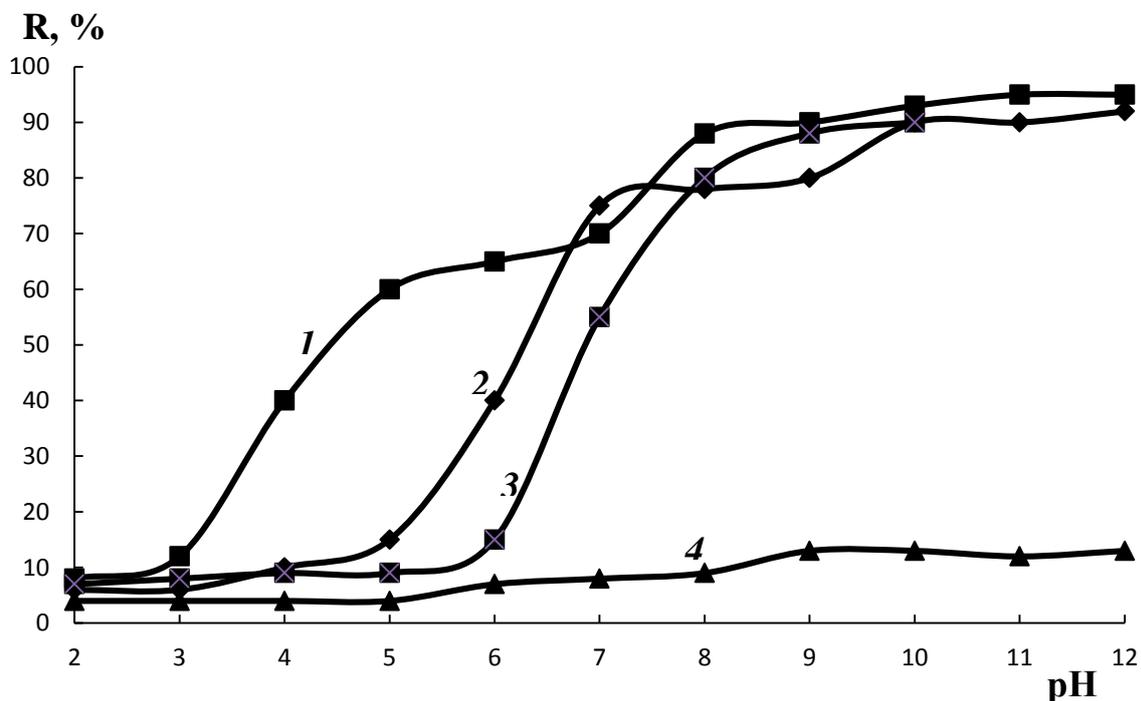


Рисунок 3.1 – Зависимость степени извлечения новокаина (R, %) от pH среды при экстракции хлороформом (1), н-бутиловым спиртом (2), этилацетатом (3) и гексаном (4).

Экстрагирующая активность спиртов обусловлена положительным индукционным эффектом алкильных групп, повышающим электронную плотность на атоме кислорода, что способствует образованию водородных связей с молекулами распределяемых соединений. Кроме того, в системах спирт – вода происходит ослабление водородных связей между молекулами спирта, что уменьшает их ассоциацию и способствует более эффективной экстракции анестетиков [202].

Установлено, что независимо от строения экстрагента с увеличением числа С-атомов в молекуле спиртов-гомологов их экстрагирующая способность по отношению к анестетикам закономерно снижается при применении всех изученных нами высаливателей (рисунок 3.2). Это объясняется ослаблением водородной связи между спиртом и распределяемым веществом, а также снижением гидрофильности спиртов и уменьшением относительной доли полярных групп (увеличением неактивной части молекул) [174, 201, 202].

Установлено, что независимо от строения экстрагента с увеличением числа С-атомов в молекуле спиртов-гомологов их экстрагирующая способность по отношению к анестетикам закономерно снижается при применении всех изученных нами высаливателей (рисунок 3.2).

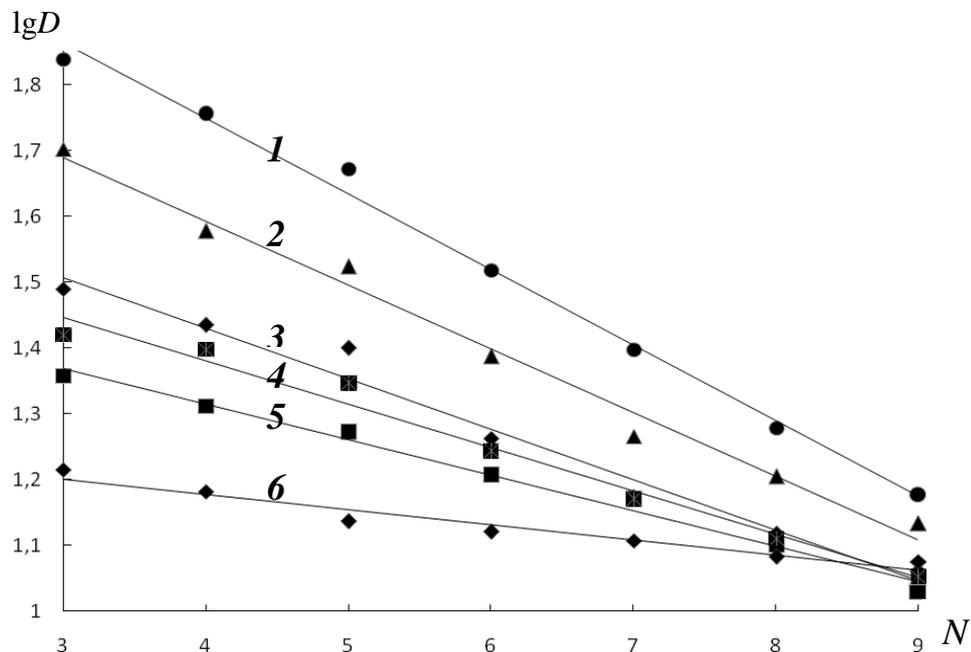


Рисунок 3.2 – Зависимость логарифмов коэффициентов распределения новокаина от числа С-атомов в молекуле спиртов (N) при применении в качестве высаливателей: **1** – карбоната калия, **2** – сульфата аммония, **3** – хлорида натрия, **4** – хлорида калия, **5** – сульфата натрия, **6** – сульфата калия [201]

Получены корреляционные уравнения, которые описывают зависимость lgD от числа С-атомов в углеводородном радикале нормального спирта при применении в качестве высаливателя K_2CO_3 , $(NH_4)_2SO_4$, $NaCl$, KCl , Na_2SO_4 , K_2SO_4 соответственно:

$$lgD = -0,114 \cdot N + 2,209;$$

$$lgD = -0,097 \cdot N + 1,980;$$

$$lgD = -0,077 \cdot N + 1,737;$$

$$lgD = -0,066 \cdot N + 1,646;$$

$$lgD = -0,054 \cdot N + 1,531;$$

$$lgD = -0,023 \cdot N + 1,269 [201].$$

Приводим коэффициенты распределения анестетиков при экстракции алифатическими спиртами в системах с сульфатом аммония и карбонатом калия (таблица 3.1). Спирты изомерного строения менее эффективны по сравнению с нормальными вследствие того, что они в большей степени самоассоциированы [174, 203].

Установлена прямая зависимость коэффициентов распределения ($\lg D$) анестезина и лидокаина (соответственно) от числа С-атомов в углеводородном радикале спирта при применении в качестве высаливателя практического насыщенного раствора карбоната калия:

$$\lg D = -0,082 \cdot N + 2,433, R^2 = 0,9820;$$

$$\lg D = -0,073 \cdot N + 1,650, R^2 = 0,9890$$

и сульфата аммония:

$$\lg D = -0,095 \cdot N + 2,695, R^2 = 0,9891;$$

$$\lg D = -0,089 \cdot N + 1,580, R^2 = 0,9860.$$

Полученные зависимости позволяют прогнозировать коэффициенты распределения анестетиков в системах. Например, при экстракции *n*-дециловым спиртом из раствора карбоната калия коэффициенты распределения равны для анестезина и лидокаина 41,0 и 8,32 соответственно, а для системы *n*-дециловый спирт – раствор сульфата аммония составляют 55,6 и 4,90. Коэффициенты распределения новокаина при экстракции *n*-дециловым спиртом равны 11,7 и 10,4 при применении в качестве высаливателя карбоната калия и сульфата аммония соответственно [204, 205].

Наибольшее влияние на межфазное распределение органических веществ оказывают диэлектрическая проницаемость (ϵ), параметр растворимости Гильдебранда (δ), характеризующий количество работы, затрачиваемой на отделение молекул растворителя друг от друга, и показатель преломления растворителей (n) [206].

Изучены зависимости между этими параметрами и коэффициентами распределения анестетиков ($\lg D$) в системе алифатический спирт – высаливатель – вода.

Установлено, что между параметром растворимости Гильдебранда экстрагента и $\lg D$ зависимость прямая, между $\lg D$ и показателем преломления спирта – обратная, взаимосвязь $\lg D = f(\varepsilon)$ носит также прямолинейный характер (рисунки 3.3 и 3 в приложении Б). Приведенные корреляции позволяют прогнозировать коэффициенты распределения анестетиков, например, при экстракции *n*-дециловым спиртом с погрешностью не более 10 %.

На основании полученных зависимостей $\lg D$ от показателя преломления спирта и диэлектрической проницаемости экстрагента можно заключить, что коэффициенты распределения анестетиков в системе *n*-дециловый спирт – водный раствор карбоната равны 9,99 и 10,2 – для лидокаина, 50,1 и 49,9 – для анестезина и 15,5 и 15,6 для новокаина; для системы *n*-дециловый спирт – раствор сульфата аммония составляют 6,08 и 6,07 – для лидокаина, 74,0 и 73,9 – для анестезина и 13,2 и 13,3 – для новокаина, что удовлетворительно согласуется с прогнозированием по зависимости $\lg D = f(N)$ [205].

Изучена экстракция местных анестетиков различными классами растворителей (таблица 3.2).

Экстрагирующая способность этилацетата объясняется отсутствием самоассоциации, а сольватирующая – образованием водородных связей между эфирными атомами кислорода анестетика и растворителя [207].

Ацетонитрил при взаимодействии с анестетиками проявляет свойства электроноакцептора. Строение ацетонитрила ($\text{H}_3\text{C} - \text{C} \equiv \text{N}$), более точно описываемое формулой граничной структуры $\text{H}_3\text{C} - \text{C}^+ = \text{N}^-$, обуславливает высокий дипольный момент молекулы. По отношению к анестезину и новокаину частично ассоциированный ацетонитрил (димерный ассоциат), как экстрагент, менее эффективен по сравнению с неассоциированными растворителями (алкилацетаты, кетоны). Однако экстракция лидокаина ацетонитрилом (основной растворитель) эффективна, что объясняется повышенным сродством нитрильной группы к иминогруппе [208]. Для C-атома нитрильной группы ацетонитрила более характерны электрофильные свойства, чем для кислорода ОН-группы спирта, в связи с этим

экстрагирующая активность ацетонитрила, по сравнению со спиртами, по отношению к лидокаину выше.

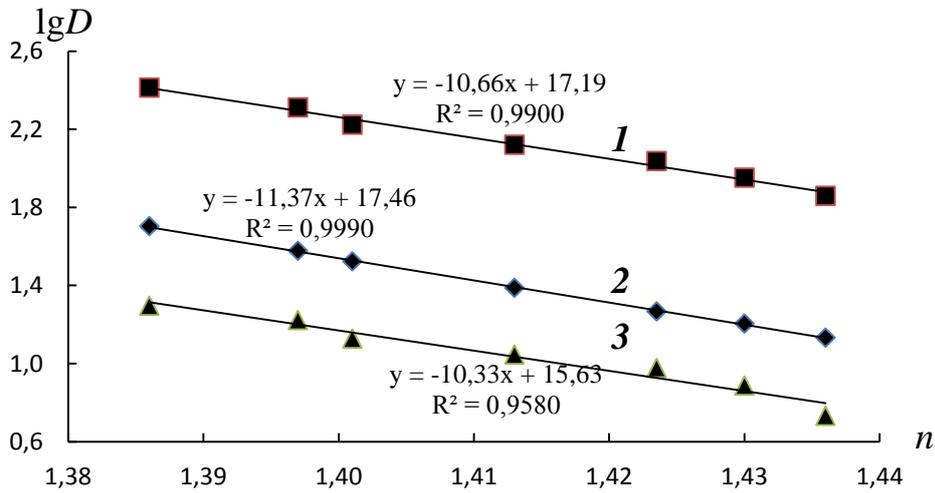
Химические свойства диметилкетона обусловлены высоким дипольным моментом карбонильной группы, положительным зарядом С-атома, а также поляризуемостью двойной связи. Диметилкетон образует водородные связи с анестетиками за счет смещения электронной плотности к атому кислорода. Действие диметилкетона как экстрагента объясняется его способностью образовывать протонированный гидрат растворителя, отличающийся повышенной реакционной способностью по отношению к анестетикам [209].

Сольватирующая способность 1,4-диоксана эфира обусловлена способностью образовывать водородные связи между СО-группой анестетика и эфирным атомом кислорода [209]. СО-группа анестетика проявляет свойства донора протонов, атом кислорода – источник электронной пары, необходимой для образования водородной связи.

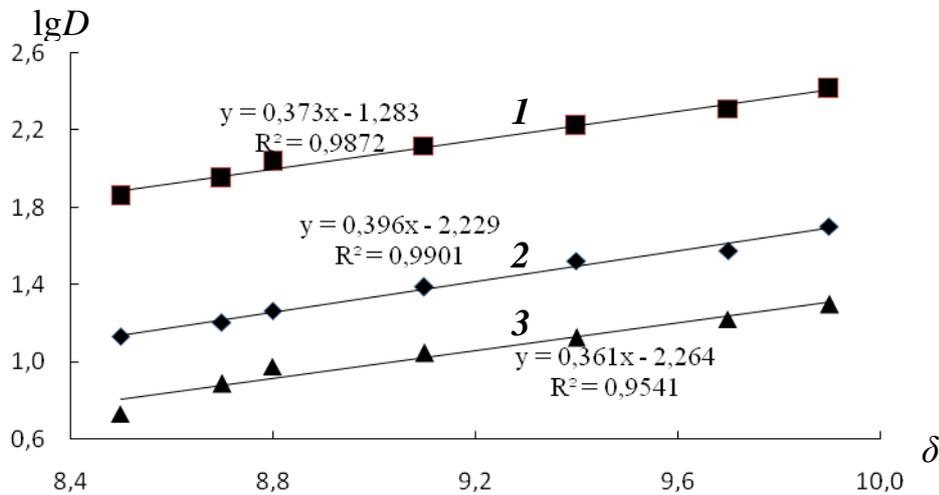
Эффективность экстракции 1,4-диоксаном невелика. Лидокаин извлекается не более чем на 32 %, тогда как степень извлечения анестезина составляет 80 %. Различие обусловлено стерическими затруднениями, проявляющимися при экранировании СН₃-группами активных центров лидокаина.

Таблица 3.1 – Коэффициенты распределения и степень извлечения анестетиков в системе спирт – высаливатель – вода; n = 3, P = 0,95 [174, 210]

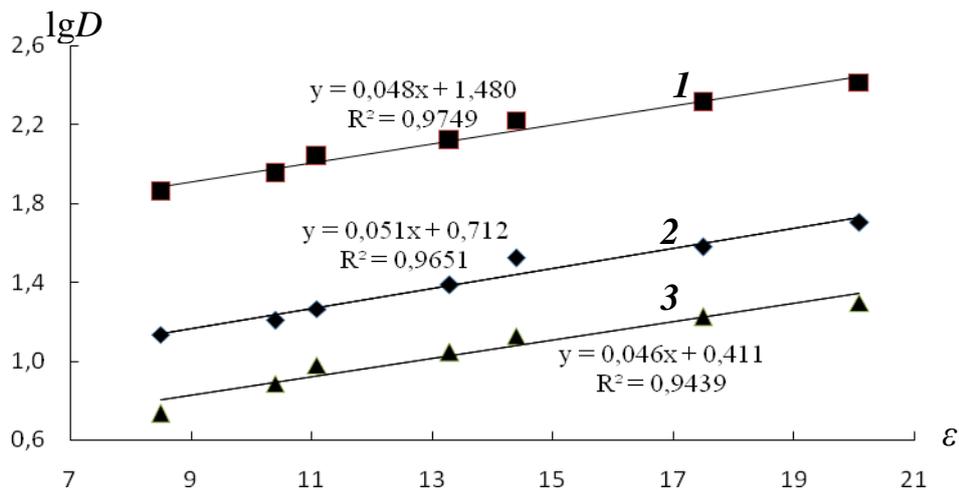
Спирт	Высаливатель											
	K ₂ CO ₃		(NH ₄) ₂ SO ₄		K ₂ CO ₃		(NH ₄) ₂ SO ₄		K ₂ CO ₃		(NH ₄) ₂ SO ₄	
	<i>D</i>	<i>R</i> , %	<i>D</i>	<i>R</i> , %	<i>D</i>	<i>R</i> , %	<i>D</i>	<i>R</i> , %	<i>D</i>	<i>R</i> , %	<i>D</i>	<i>R</i> , %
	Новокаин				Анестезин				Лидокаин			
Этиловый	95,0 ± 8,0	95	–	–	186 ± 16	97	–	–	31,9 ± 2,5	86	–	–
н-Пропиловый	69,0 ± 5,3	93	50,4 ± 2,5	89	165 ± 14	97	259 ± 26	98	25,5 ± 2,1	84	19,8 ± 1,4	80
н-Бутиловый	57,0 ± 5,0	92	37,8 ± 3,1	86	123 ± 10	96	205 ± 19	98	23,3 ± 1,9	82	16,7 ± 1,1	77
н-Пентиловый	47,0 ± 4,2	90	33,4 ± 1,7	86	98,0 ± 8,1	95	167 ± 14	97	19,7 ± 1,7	80	13,4 ± 1,0	73
н-Гексиловый	33,0 ± 3,0	87	24,4 ± 1,8	83	84,2 ± 7,0	94	132 ± 11	96	16,6 ± 1,4	77	11,1 ± 1,0	69
н-Гептиловый	25,0 ± 2,3	83	18,4 ± 2,8	79	72,1 ± 6,3	94	109 ± 8,0	96	14,4 ± 1,2	74	9,50 ± 0,70	66
н-Октиловый	19,1 ± 1,7	79	16,0 ± 1,2	76	64,3 ± 5,5	93	89,4 ± 7,5	95	11,3 ± 1,1	69	7,70 ± 0,50	61
н-Нониловый	15,4 ± 1,3	75	13,6 ± 0,7	73	48,5 ± 4,7	91	72,2 ± 6,7	94	9,50 ± 0,80	66	5,40 ± 0,50	52
Изопропиловый	29,1 ± 2,4	85	25,0 ± 1,2	83	92,1 ± 8,8	95	111 ± 10	96	15,6 ± 1,3	76	8,30 ± 0,60	62
Изобутиловый	26,3 ± 2,3	84	24,0 ± 1,1	82	71,3 ± 6,4	93	85,3 ± 7,4	94	14,4 ± 1,1	74	6,70 ± 0,50	57
Изопентиловый	22,0 ± 2,0	81	19,8 ± 0,8	80	50,6 ± 4,3	91	65,6 ± 5,3	93	12,8 ± 1,0	72	5,30 ± 0,50	51



a)



б)



в)

Рисунок 3.3 – Зависимости $\lg D$ анестезина (1), новокаина (2) и лидокаина (3) от показателя преломления спирта (а), параметра растворимости Гильдебранда экстрагента (б) и диэлектрической проницаемости спирта (в) при применении в качестве высаливателя сульфата аммония

Таблица 3.2 – Коэффициенты распределения и степень извлечения анестетиков в системе экстрагент – высаливатель – вода; n = 3, P = 0,95 [174]

Экстрагент	Высаливатель											
	K ₂ CO ₃		(NH ₄) ₂ SO ₄		K ₂ CO ₃		(NH ₄) ₂ SO ₄		K ₂ CO ₃		(NH ₄) ₂ SO ₄	
	<i>D</i>	<i>R</i> , %	<i>D</i>	<i>R</i> , %	<i>D</i>	<i>R</i> , %	<i>D</i>	<i>R</i> , %	<i>D</i>	<i>R</i> , %	<i>D</i>	<i>R</i> , %
	Новокаин				Анестезин				Лидокаин			
Этилацетат	75,0 ± 6,4	94	68,0 ± 3,2	93	900 ± 85	99	890 ± 80	99	57,7 ± 5,3	92	53,2 ± 5,2	91
Бутилацетат	34,4 ± 2,8	87	30,2 ± 1,3	86	450 ± 45	99	428 ± 45	99	38,8 ± 3,0	89	33,2 ± 2,9	87
Пентилацетат	20,1 ± 1,7	80	19,8 ± 0,8	80	360 ± 35	99	355 ± 30	98	29,1 ± 2,2	85	27,5 ± 2,0	85
Диметилкетон	60,3 ± 4,8	92	55,6 ± 5,0	92	285 ± 23	98	230 ± 19	98	55,0 ± 5,0	92	48,0 ± 4,5	91
Ацетонитрил	23,3 ± 1,9	82	19,7 ± 1,7	80	36,6 ± 3,0	88	28,6 ± 2,3	85	77,8 ± 7,1	94	59,2 ± 4,6	92
1,4-Диоксан	6,6 ± 0,30	57	5,82 ± 0,4	54	20,2 ± 1,7	80	19,1 ± 1,4	79	2,30 ± 0,15	32	1,08 ± 0,08	18
Хлороформ	96,0 ± 8,8	95	90,6 ± 8,3	95	1250 ± 105	99	1020 ± 93	100	120 ± 10	96	94,0 ± 7,4	95
1,2-Дихлорэтан	80,3 ± 7,5	94	76,5 ± 6,2	94	90,9 ± 8,8	95	87,5 ± 7,7	95	38,8 ± 3,2	89	32,4 ± 2,8	87
Гексан	0,90 ± 0,03	15	0,71 ± 0,03	13	4,00 ± 0,30	44	3,52 ± 0,25	41	18,5 ± 1,5	79	16,8 ± 1,1	77
Изооктан	0,65 ± 0,01	12	0,51 ± 0,02	9	3,24 ± 0,28	39	3,14 ± 0,22	39	25,4 ± 2,0	84	24,5 ± 2,1	83

Для экстракции анестезина, новокаина и лидокаина применяли также гидрофобные растворители (хлороформ, 1,2-дихлорэтан, гексан, изооктан). С гидрофобными экстрагентами происходит образование сольватированных комплексов анестетиков по электрофильно-нуклеофильному взаимодействию (рисунок 3.4) [211].

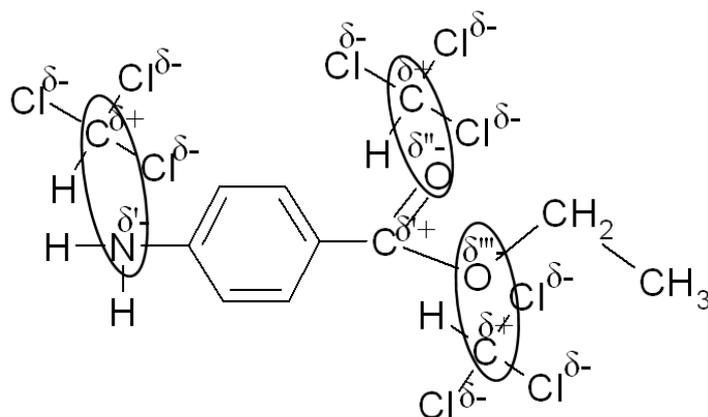


Рисунок 3.4 – Схема электрофильно-нуклеофильного взаимодействия анестезина с хлороформом

Соединения, содержащие галогены (хлороформ; 1,2-дихлорэтан), имеют достаточно высокую протондонорную способность (σ -орбиталь связи Н–СCl₃ сильно поляризована в сторону атомов хлора). Молекула хлороформа более поляризована, чем 1,2-дихлорэтана, поэтому хлороформ – более эффективный экстрагент по отношению к анестетикам [207]. Неполарные гексан и изооктан проявляют минимальную экстракционную способность (таблица 3.2). Лидокаин, по сравнению с анестезином и новокаином, извлекается гексаном (изооктаном) эффективнее, что обусловлено дополнительным неспецифическим взаимодействием СН₃-групп лидокаина с растворителем.

Индивидуальные растворители не позволили достичь практически полного извлечения новокаина и лидокаина из водных сред при соотношении объемов водной и органической фаз 5:1. Для повышения экстракционных характеристик, а также коэффициентов концентрирования (в том числе и в случае анестезина) изучали возможность применения бинарных смесей экстрагентов.

3.2. Экстракция местных анестетиков смесями органических растворителей

Для экстракционного извлечения и разделения органических соединений широко применяются бинарные смеси растворителей. Известны работы, где для извлечения аналитов используют двухкомпонентные экстрагенты, содержащие триоктиламин, алкилпроизводные фосфиновых кислот, а также смеси различных гидрофильных растворителей [193, 212-214].

Экстракция из водных сред смесями растворителей представляет собой вариант распределения в двухфазной четырехкомпонентной системе. При изучении таких систем устанавливают синергетический, антагонистический эффекты, либо аддитивность коэффициентов распределения [193].

При экстракции анестетиков из насыщенных растворов $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ смесями хлороформ:этилацетат; изопропиловый спирт:гексан, изопропиловый спирт:1,4-диоксан установлен антагонистический эффект (рисунок 3.5), обусловленный вытеснением анестетиков менее активным растворителем [этилацетат и гексан (или 1,4-диоксан) соответственно] из сольватов с более эффективным экстрагентом. В экстракции такое явление называется всаливанием [215].

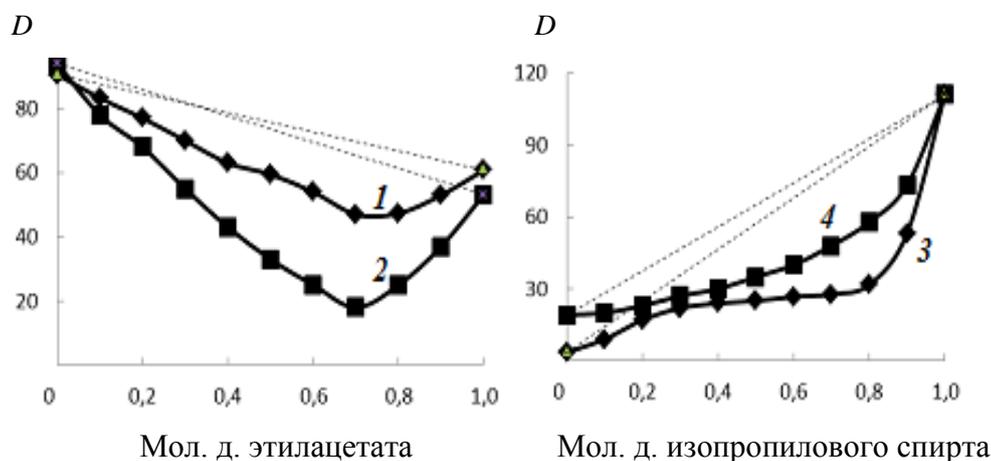


Рисунок 3.5 – Антагонистический эффект при экстракции: новокаина (1) и лидокаина (2) изомолярными смесями этилацетата и хлороформа и анестезина изомолярными смесями изопропилового спирта с гексаном (3) и 1,4-диоксаном (4); пунктир – линии аддитивности

Уменьшение коэффициентов распределения веществ по сравнению с аддитивными величинами характеризуется коэффициентами вытеснения [10]. Природа всаливания обусловлена различной растворимостью распределяемых соединений

в воде (гидрофобностью). С возрастанием молекулярной массы ($M_{\text{г анестезина}} = 165$, новокаина – 273) увеличивается гидрофобность веществ. Так, с повышением растворимости анестетиков в воде (новокаин – анестезин), возрастают и соответствующие коэффициенты вытеснения при применении смесей этилацетата и хлороформа или изопропилового спирта и 1,4-диоксана (таблица 3.3) [215].

Таблица 3.3 – Коэффициенты вытеснения анестетиков; $n = 3$, $P = 0,95$

Смесь растворителей	Анестетик	D_1/D_2	K_6
Этилацетат* – хлороформ	Новокаин	1,15	$0,38 \pm 0,06$
	Анестезин	1,49	$0,63 \pm 0,33$
	Лидокаин	1,77	$0,84 \pm 0,38$
Изопропиловый спирт – гексан*	Новокаин	39,0	$1,48 \pm 0,36$
	Анестезин	31,7	$1,13 \pm 0,42$
	Лидокаин	–	–
Изопропиловый спирт – 1,4-диоксан*	Новокаин	3,95	$0,66 \pm 0,14$
	Анестезин	5,80	$0,91 \pm 0,39$
	Лидокаин	7,69	$1,08 \pm 0,64$

*Вытеснитель

При экстракции лидокаина смесью изопропиловый спирт:гексан установлен синергетический эффект: в молекуле лидокаина присутствуют два метильных радикала в бензольном кольце в орто-положениях по отношению к иминогруппе, которые способствуют повышению устойчивости сольватов лидокаина со спиртами и усилению гидрофобных взаимодействий с инертным компонентом смеси. Таким образом, для лидокаина кроме специфичной (образование Н-связей с водой и изопропиловым спиртом) характерна сольватация за счет универсальных взаимодействий. Эти факторы способствуют переходу лидокаина в органическую фазу [215, 216].

Отметим также, что чем больше разница в экстрагирующей способности компонентов, входящих в состав смеси (D_1/D_2), тем больше коэффициенты вытеснения анестетиков менее активным компонентом. Так, коэффициент вытеснения новокаина ($K_6 = 0,38 \pm 0,06$) достигнут при применении смеси этилацетата и хлороформа, где соотношение коэффициентов распределения новокаина при применении индивидуальных экстрагентов минимально ($D_1/D_2 = 1,15$) [215].

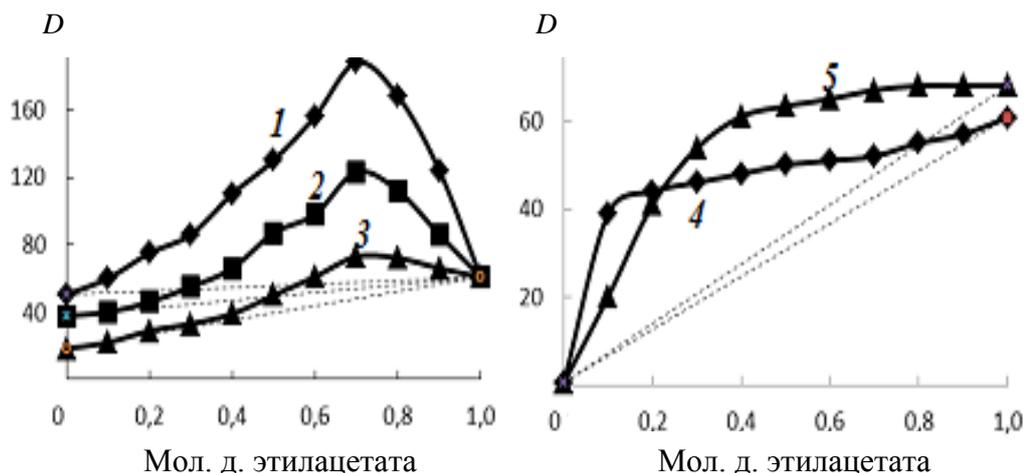


Рисунок 3.6 – Синергетический эффект при экстракции новокаина изомолярными смесями этилацетата с н-пропиловым (1), н-бутиловым (2), н-гептиловым (3) спиртами, гексаном (4), изооктаном (5); пунктир – линии аддитивности

При экстракции анестетиков смесями алкилацетатов и спиртов установлен синергетический эффект. При удлинении гидрофобного алкильного радикала спирта и, соответственно, уменьшении влияния полярной ОН-группы, их экстрагирующая способность снижается [201]. В связи с этим синергетический эффект уменьшается (снижаются количественные характеристики экстракции) в смесях на основе высших спиртов по сравнению со смесями состава пропиловый спирт:этилацетат. Так, при экстракции смесями н-гептиловый спирт:этилацетат K_c не превышают 0,06 при содержании этилацетата в интервале 0 – 0,4 мол. д. (рисунок 3.6). При экстракции новокаина смесью н-нониловый спирт:этилацетат коэффициенты распределения практически аддитивны [215].

Таблица 3.4 – Коэффициенты распределения, степень извлечения и коэффициенты синергетности (K_c) новокаина при экстракции смесью изопропиловый спирт: этилацетат; $n = 3$, $P = 0,95$ [217]

Состав смеси спирт – эфир	D	$R, \%$	K_c	Состав смеси спирт – эфир	D	$R, \%$	K_c
0,1:0,9	$153 \pm 2,9$	98	0,39	0,6:0,4	$294 \pm 6,1$	98	0,84
0,2:0,8	$269 \pm 5,7$	98	0,66	0,7:0,3	$221 \pm 4,3$	98	0,77
0,3:0,7	$390 \pm 7,8$	99	0,86	0,8:0,2	$138 \pm 2,7$	97	0,62
0,4:0,6	$366 \pm 7,7$	99	0,86	0,9:0,1	$75,4 \pm 1,9$	94	0,41
0,5:0,5	$328 \pm 7,1$	98	0,85				

Наибольшие коэффициенты распределения установлены при экстракции анестетиков смесью изопропиловый спирт:этилацетат (0,3:0,7 мол. д.). Они составляют 390 и 130 для новокаина и лидокаина соответственно, при этом степени извлечения 99 и 96 % (рисунок 3.7) [215].

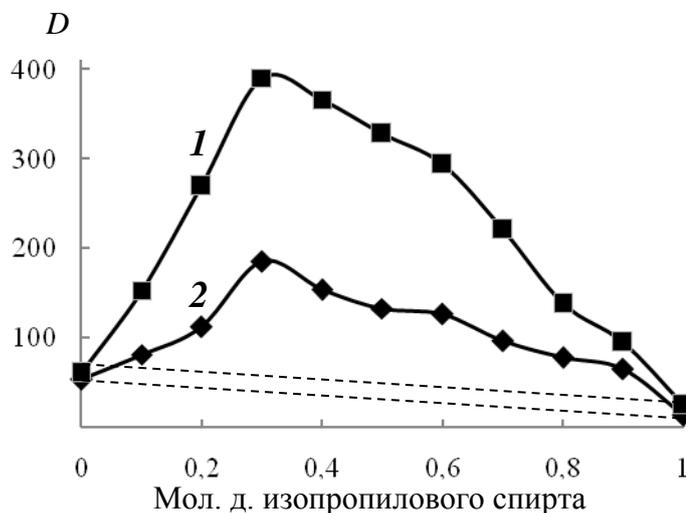


Рисунок 3.7 – Зависимость коэффициентов распределения новокаина (1) и лидокаина (2) от мольной доли изопропилового спирта в смеси с этилацетатом; пунктир – линии аддитивности

При экстракции анестетиков из водно-солевых растворов возможны координационные взаимодействия и конкурентная координация. Спирты относятся к ассоциированным растворителям [214]. При введении в систему апротонного этилацетата межмолекулярные водородные связи спиртов ослабляются. При этом ОН-группа спирта образует Н-связи с СО-группой анестетиков. Кроме того, компоненты смеси растворителей взаимодействуют друг с другом с образованием малоустойчивых комплексов, которые характеризуются повышенной растворяющей способностью к анестетикам по сравнению с индивидуальными растворителями [193]. Это способствует переходу анестетиков в органическую фазу. При увеличении в смеси этилацетата (более 0,7 мол. д.) число ассоциированных молекул спирта снижается. Коэффициенты распределения анестезина, новокаина и лидокаина постепенно уменьшаются до значений, полученных при экстракции индивидуальным этилацетатом [215].

Установлено, что синергетический эффект возрастает при замене нормальных спиртов на изомерные, что обусловлено наиболее оптимальной простран-

ственной конфигурацией молекулярных комплексов экстрагентов: активные центры (COO-, CO-, OH-, NH₂-), а также вторичные и третичные атомы азота находятся в непосредственной близости друг к другу, что обуславливает образование более прочных молекулярных комплексов распределяемых соединений и экстрагентов для перехода анестетиков в органическую фазу [215].

Таблица 3.5 – Зависимость коэффициентов синергетности и коэффициентов разделения от мольной доли изопропилового спирта в смеси с этилацетатом; $n = 3$, $R = 0,95$

Мол. д. спирта	$K_{с\ нов}$	$K_{с\ анест}$	$K_{с\ лид}$	$\beta_{анест/нов}$	$\beta_{анест/лид}$	$\beta_{нов/лид}$
0	–	–	–	15	17	1
0,1	0,43	0,25	0,22	9	18	1
0,2	0,70	0,41	0,39	7	17	2
0,3	0,90	0,55	0,65	6	12	2
0,4	0,89	0,54	0,62	6	13	2
0,5	0,88	0,53	0,60	5	13	2
0,6	0,87	0,47	0,64	4	10	2
0,7	0,79	0,24	0,58	3	6	2
0,8	0,63	0,18	0,57	3	5	2
0,9	0,52	0,01	0,42	2	4	2
1,0	–	–	–	4	8	2

Ввиду того, что коэффициенты разделения β (таблица 3.5) не превышают 100, разделить анестетики при применении системы этилацетат:изопропиловый спирт нельзя. Такая смесь является перспективной для суммарного извлечения анестетиков из биологических жидкостей при химико-токсикологическом анализе и из лекарственных средств при контроле качества фармацевтических препаратов [215].

Синергетический эффект уменьшается при переходе от новокаина к анестезину. Различные по электронному строению и химической природе заместители по-разному влияют на характер взаимодействия соединений с водой и экстрагентом. Полярная NH₂-группа, которая присутствует в молекулах анестезина и новокаина, 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 пара-положении ослабляет ^+C -эффект аминогруппы, в результате чего связи N–H ослабляются (сильнее у новокаина, чем анестезина), что способствует образованию H-связи с молекулами электродонорных растворителей. Дополнительный активный центр в молекуле новокаина обуславливает большой синергетический эффект [215, 216].

При экстракции новокаина и анестезина смесями этилацетата и гексана (изооктана) установлен синергетический эффект (рисунок 3.6). При содержании этилацетата в смеси в интервале 0 – 0,3 мол. д. коэффициенты D резко увеличиваются по сравнению с аддитивными значениями. В интервале 0,3 – 1,0 мол. д. коэффициенты распределения практически равны коэффициентам в системах с чистым этилацетатом. При содержании этилацетата до 0,1 мол. д. в смеси с гексаном коэффициенты синергетности резко возрастают. Далее коэффициенты распределения D незначительно увеличиваются [215].

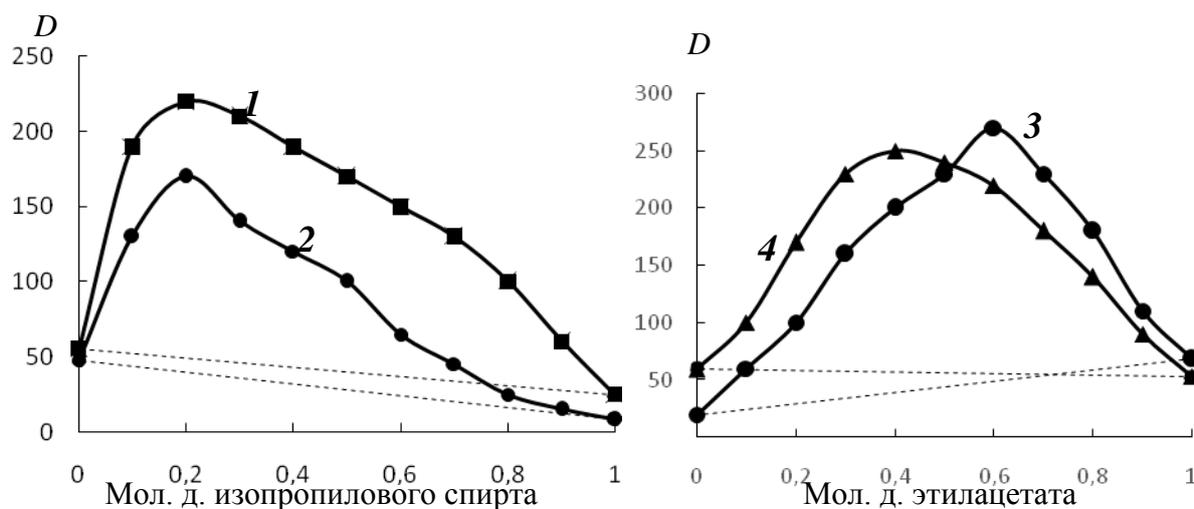


Рисунок 3.8 – Синергетический эффект при экстракции: новокаина (1, 3) и лидокаина (2, 4) изомолярными смесями изопропилового спирта с диметилкетонем и этилацетата с ацетонитрилом соответственно; пунктир – линии аддитивности

При экстракции анестетиков смесью изопропилового спирта и диметилкетона отмечен также синергетический эффект. Действие диметилкетона (апротонный растворитель) аналогично действию этилацетата при экстракции анестетиков его смесью с *n*-пропиловым спиртом. Отметим, что при экстракции лидокаина при содержании диметилкетона в смеси 0-0,2 мол. д. коэффициенты распределе-

ния аддитивны. Максимумы на синергетических кривых отмечены при содержании изопропилового спирта в смеси 0,2 мол. д. При применении смеси этилацетата с ацетонитрилом максимумы соответствуют составу смеси 0,4:0,6 мол. д. (при экстракции лидокаина) и 0,6:0,4 мол. д. (при экстракции новокаина), рисунок 3.8.

В отличие от новокаина и анестезина при экстракции лидокаина из водных сред смесями этилацетат:изооктан и изопропиловый спирт:хлороформ установлен антагонистический и синергетический эффекты соответственно (рисунок 3.9). Синергизм объясняется увеличением степени сольватации лидокаина из-за его повышенной растворимости в смеси из хлороформа и изопропилового спирта [215].

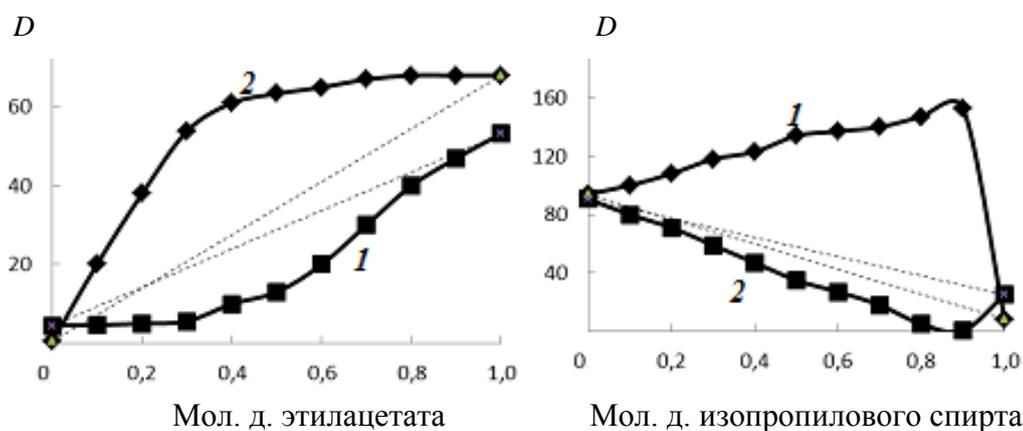


Рисунок 3.9 – Зависимость коэффициентов распределения лидокаина (1) и новокаина (2) при экстракции изомольярными смесями этилацетата и изооктана (а), изопропилового спирта и хлороформа (б); пунктир – линии аддитивности

На примере экстракции анестетиков смесями этилацетата с гексаном, пропиловым и изопропиловым спиртами рассчитаны константы образования комплексов и сольватные числа (таблица 3.6). Дробные значения сольватных чисел обусловлены различным составом сольватов в зависимости от соотношения компонентов смеси растворителей. Наиболее устойчивые комплексы образует анестезин при экстракции смесью этилацетат – гексан.

Рассчитаны коэффициенты обогащения органической фазы местными анестетиками. После экстракции смесью состава 0,9 мол. д. изопропилового спирта и 0,1 мол. д. хлороформа в органическую фазу переходит в 11 раз больше лидокаина, чем новокаина и в 9 раз больше анестезина, чем новокаина.

Таблица 3.6 – Константы образования сольватов ($K_{\text{сольв}1}$ и $K_{\text{сольв}2}$) и сольватные числа (m и n) анестетиков; $n = 3$, $P = 0,95$

Смесь растворителей	Анестетик	$K_{\text{сольв}1}$	m	$K_{\text{сольв}2}$	n
Этилацетат:гексан	Новокаин	46,8	2,17	67,6	0,12
	Анестезин	107	2,03	145	0,40
	Лидокаин	3,55	1,33	5,62	0,24
Этилацетат: н-пропиловый спирт	Новокаин	5,62	0,58	3,72	2,21
	Анестезин	1,70	0,68	1,32	1,56
	Лидокаин	11,0	0,49	2,82	0,68
Этилацетат:изопропиловый спирт	Новокаин	45,7	0,95	6,92	0,67
	Анестезин	32,4	0,81	4,57	0,93
	Лидокаин	33,9	0,44	1,74	2,80

При других соотношениях компонентов в смеси, а также при применении системы этилацетат:изооктан соотношение извлекаемых анестетиков составляет 1:1. Исключение – экстракция смесями изопропиловый спирт:хлороформ (0,8:0,2 мол. д.) и этилацетат:изооктан (при содержании 0,1 – 0,3 мол. д. этилацетата). При их применении соотношение извлекаемых анестетиков составляет 2:1.

Экстракционные системы, характеризующиеся антагонистическим эффектом при экстракции новокаина, лидокаина и анестезина, могут быть применены как элюенты в обращенно-фазовом варианте жидкостной хроматографии, синергическим – для общего извлечения анестетиков из объектов [215].

3.3. Экстракция местных анестетиков с применением сольватотропных реагентов

Для повышения эффективности экстракции органических веществ разных классов, в частности ароматических соединений, в растворители вводят сольватотропные реагенты (камфора, диалкилфталаты, бензофенон, фенетол, дифенил). Механизм повышения эффективности экстракции основан на образовании молекулярных комплексов с распределяемым веществом, которые легко переходят в органическую фазу [9, 10].

Камфора – оптически активное вещество, монотерпеновый, бициклический кетон. Молекулярные комплексы образуются за счет водородных связей между СО-группой и СО-группой анестетика через «мостик» воды. Неспецифичное взаимодействие растворителя или анестетика с СН₃-группами камфоры также способствует дополнительному переходу вещества в органическую фазу [218, 219].

В молекуле бензофенона СО-группа менее реакционноспособна вследствие соседства фенильных групп [207]. Молекулярные комплексы анестетиков с бензофеноном менее устойчивы, чем с камфорой. Механизм образования молекулярных комплексов аналогичен.

Молекулярные комплексы анестетиков с ДАФ образуются также посредством «мостиков» воды. Водородные связи формируются между кислородом СО-группы, входящей в состав сложноэфирной группы в молекуле диалкилфталата, и кислородом СО-группы анестетика, а также между кислородом СО-группы диалкилфталата и азотом аминной (или иминной для лидокаина) групп анестетика.

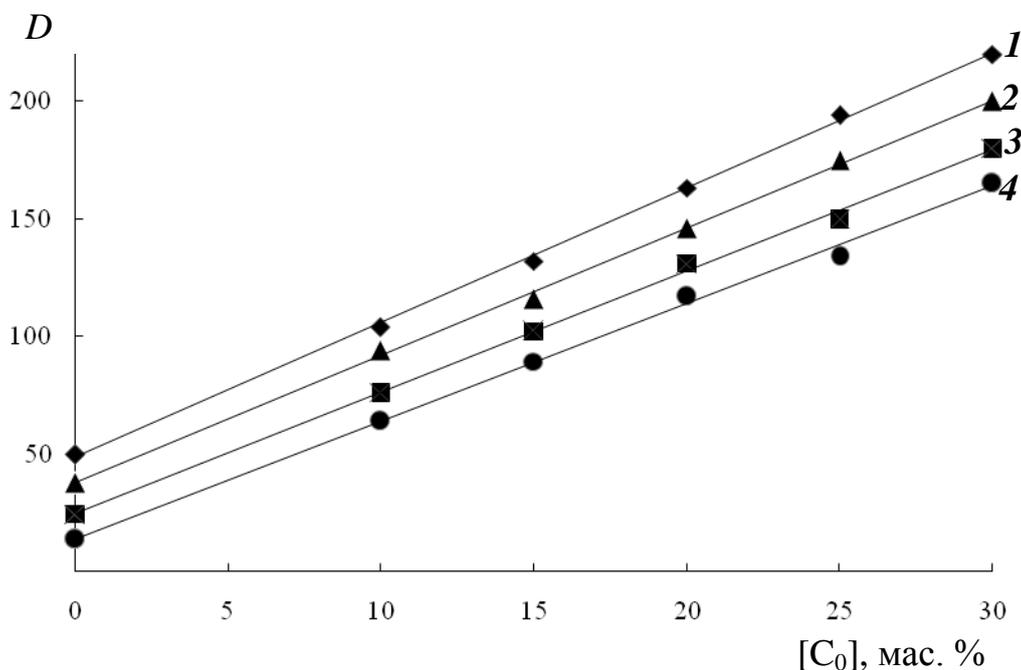


Рисунок 3.10 – Зависимость коэффициентов распределения новокаина D от концентрации камфоры $[C]_0$ в *n*-пропиловом (1), *n*-бутиловом (2), *n*-гексиловом (3) и *n*-нониловом (4) спиртах (высаливатель – сульфат аммония)

Фенетол образует молекулярные комплексы с анестетиками с образованием водородных связей между кислородом эфирной группы и кислородом СО-группы анестетика через «мостик» воды.

Повышение концентрации сольвотропного реагента в растворителе приводит к закономерному возрастанию коэффициентов распределения и степени извлечения анестетиков. Приводим результаты, полученные при экстракции новокаина спиртами с добавлением камфоры (рисунок 3.10) [210].

Для практически полного извлечения лидокаина из водного раствора достаточно концентрации камфоры в этилацетате 10 % мас. (таблица 3.7).

Таблица 3.7 – Зависимость коэффициентов распределения (D) и степени извлечения (R , %) лидокаина от содержания камфоры в растворе алкилацетатов ($n = 3$, $P = 0,95$, высаливатель – карбонат калия)

Мас. доля камфоры в растворе, %	Этилацетат		Бутилацетат		Пентилацетат	
	D	R	D	R	D	R
5	110 ± 9	96	$59,3 \pm 5,5$	92	$34,8 \pm 3,0$	87
10	228 ± 19	98	$88,4 \pm 8,2$	95	$45,1 \pm 4,1$	90
15	330 ± 27	99	112 ± 10	96	$55,4 \pm 5,2$	92
20	437 ± 40	99	154 ± 13	97	$74,9 \pm 6,9$	94
25	520 ± 49	99	215 ± 18	98	$89 \pm 8,4$	95
30	660 ± 62	99	245 ± 22	98	$94 \pm 9,1$	95

При применении бутилацетата концентрацию сольвотропного реагента необходимо увеличить до 20 % мас. и более. Для эффективного извлечения новокаина из водных сред достаточно применять раствор камфоры в этилацетате с концентрацией 15 % мас. (таблица 1 в приложении Б).

Приводим коэффициенты распределения лидокаина в системах растворы диалкилфталатов в алкилацетатах – водный раствор сульфата аммония (таблица 3.8).

Таблица 3.8 – Коэффициенты распределения и степень извлечения лидокаина в системе раствор диалкилфталата в алкилацетате – водный раствор $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; $n = 3$, $P = 0,95$

ДАФ	Конц. ДАФ в АА, мас. %	Этилацетат		Бутилацетат		Пентилацетат	
		<i>D</i>	<i>R</i> , %	<i>D</i>	<i>R</i> , %	<i>D</i>	<i>R</i> , %
ДМФ	5	86,0 ± 7,5	95	77,0 ± 7,0	94	66,1 ± 6,4	93
	10	140 ± 12	97	104 ± 9	95	90,4 ± 8,9	95
	15	176 ± 16	97	127 ± 11	96	105 ± 10	95
	20	212 ± 19	98	150 ± 13	97	124 ± 11	96
ДЭФ	5	77,0 ± 6,9	94	65,0 ± 6,0	93	55,2 ± 4,7	92
	10	118 ± 10	96	90,4 ± 8,5	95	74,3 ± 7,1	94
	15	151 ± 13	97	103 ± 10	95	86,2 ± 8,4	95
	20	184 ± 17	97	125 ± 11	96	100 ± 10	95
ДБФ	5	70,0 ± 6,6	93	51,0 ± 4,7	91	46,0 ± 4,4	90
	10	100 ± 9	95	61,1 ± 5,9	92	57,0 ± 5,2	92
	15	125 ± 11	96	76,3 ± 7,2	94	64,0 ± 6,0	93
	20	163 ± 15	97	92,0 ± 9,0	95	78,4 ± 7,1	94
ДОФ	5	55,0 ± 4,8	92	37,2 ± 3,1	88	31,5 ± 2,6	86
	10	73,0 ± 6,8	94	42,0 ± 3,8	89	38,4 ± 3,0	88
	15	95,0 ± 9,1	95	55,1 ± 5,2	92	45,4 ± 3,9	90
	20	115 ± 10	96	67,3 ± 6,4	93	53,3 ± 4,7	91

Диалкилфталаты с более длинными углеводородными радикалами характеризуются меньшей сольватирующей способностью, поэтому максимальные экстракционные характеристики лидокаина достигаются при применении растворов наиболее гидрофильного этилацетата с диметилфталатом. Установлены прямые зависимости между коэффициентами распределения лидокаина от числа С-атомов в молекулах диалкилфталатов при экстракции алкилацетатами. На рисунке 3.11 приведены данные, полученные при экстракции лидокаина этилацетатом, бутилацетатом и пентилацетатом с концентрацией диалкилфталата 15 мас. %.

Полученные зависимости позволяют прогнозировать коэффициенты распределения лидокаина в системах с растворами диалкилфталатов. Например, при экстракции лидокаина этилацетатными растворами дипропилфталата (дипентилфталата, дигексилфталата, дигептилфталата) из водных растворов сульфата аммония коэффициенты распределения составляют 113; 94,6; 86,7 и 79,4 соответственно.

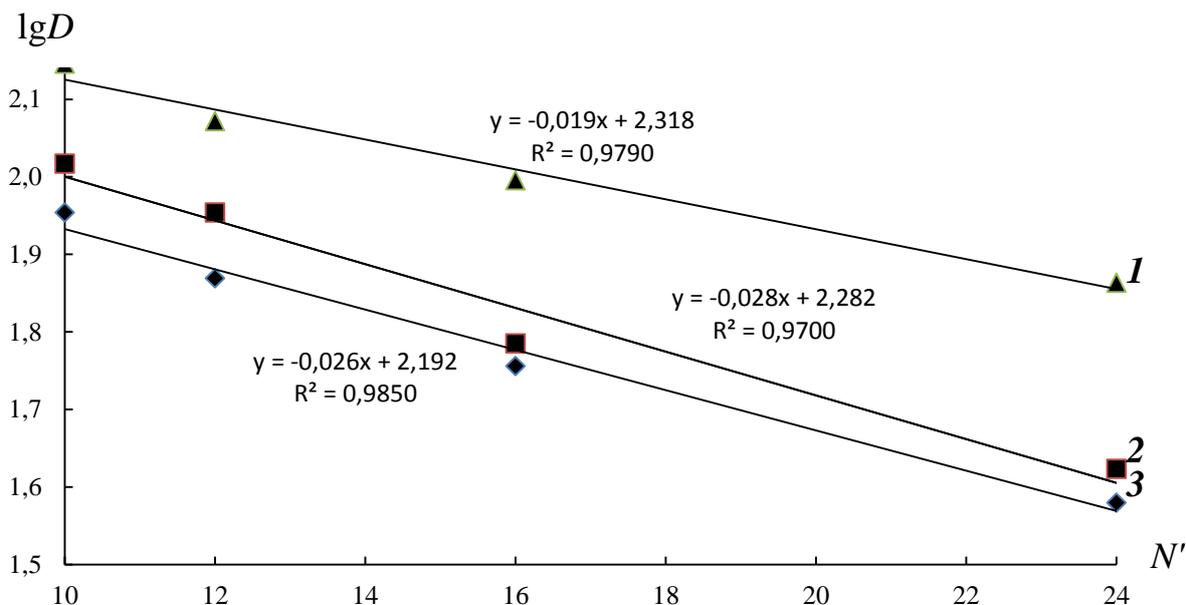


Рисунок 3.11 – Зависимость коэффициентов распределения лидокаина от числа С-атомов в молекулах ДАФ при экстракции этилацетатом (1), бутилацетатом (2) и пентилацетатом (3)

Для установления состава и констант образования молекулярных комплексов (K) строили графики зависимости $\lg(D/D' - 1) = f(\lg[C]_0)$, где D' – коэффициент распределения анестетика при экстракции растворителем без добавления сольватропного реагента. В качестве примера приводим расчет молекулярных комплексов AP_n новокаина (A), с сольватропными реагентами (P) при экстракции алифатическими спиртами [210].

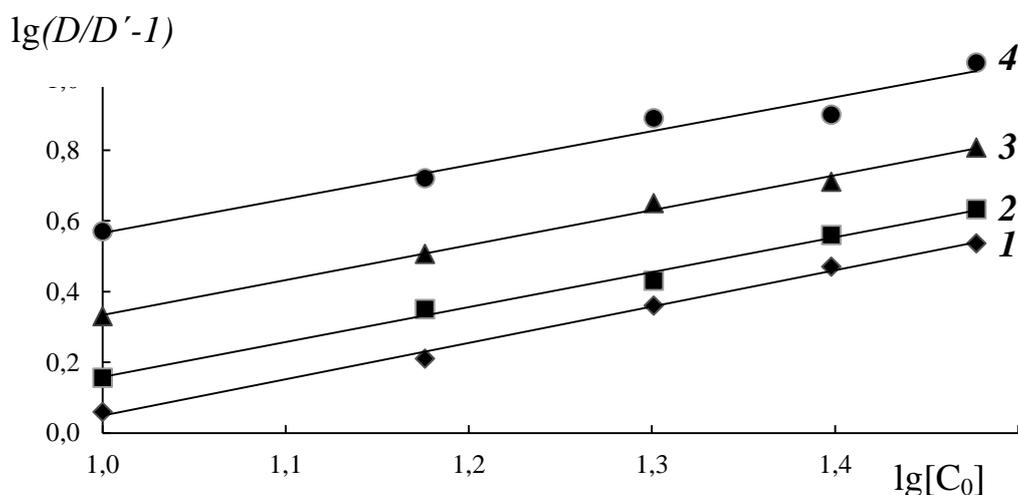


Рисунок 3.12 – Зависимость $\lg(D/D' - 1)$ от $\lg C_{\text{камфоры}}$ в н-пропиловом (1), н-бутиловом (2), н-гексиловом (3) и н-нониловом (4) спиртах

Прямые параллельны друг другу, отсекают на оси ординат отрезок, равный lgK и наклонены к оси абсцисс под углом, тангенс которого соответствует стехиометрическому коэффициенту n (рисунок 3.12). В системах с сольвотропными реагентами новокаин образует молекулярные комплексы состава 1:1. Аналогичные результаты получены для анестезина и лидокаина. Константы образования комплексов новокаина с камфорой, бензофеноном, диэтилфталатом, фенетолом и дифенилом при экстракции спиртами $C_3 - C_9$ приведены в таблице 3.9 [210].

Таблица 3.9 – Константы образования молекулярных комплексов новокаина (K) с сольвотропными реагентами при экстракции спиртами

Спирт	K				
	камфора	бензофенон	диэтилфталат	фенетол	дифенил
н-Пропиловый	0,11	0,08	0,07	0,05	0,04
н-Бутиловый	0,14	0,12	0,10	0,07	0,05
н-Пентиловый	0,16	0,14	0,11	0,08	0,05
н-Гексиловый	0,21	0,17	0,14	0,12	0,07
н-Гептиловый	0,28	0,20	0,16	0,14	0,10
н-Октиловый	0,30	0,25	0,17	0,16	0,10
н-Нониловый	0,37	0,33	0,20	0,17	0,13

Более устойчивые комплексы анестетиков образуются при применении камфоры. При применении неактивных сольвотропных реагентов (не содержащих атом кислорода, например, дифенил) образуются менее прочные π - или σ - комплексы [10].

Установлено, что природа растворителей влияет на состав молекулярных комплексов. Наиболее прочные комплексы новокаина образуются при применении гидрофобных спиртов $C_6 - C_9$. Максимальные константы K характерны для систем с н-нониловым спиртом. Самые нестабильные комплексы образуются в среде с наиболее гидрофильным н-пропиловым спиртом [10, 210].

Между lgK и lgD анестетика установлена прямая зависимость (рисунок 3.13).

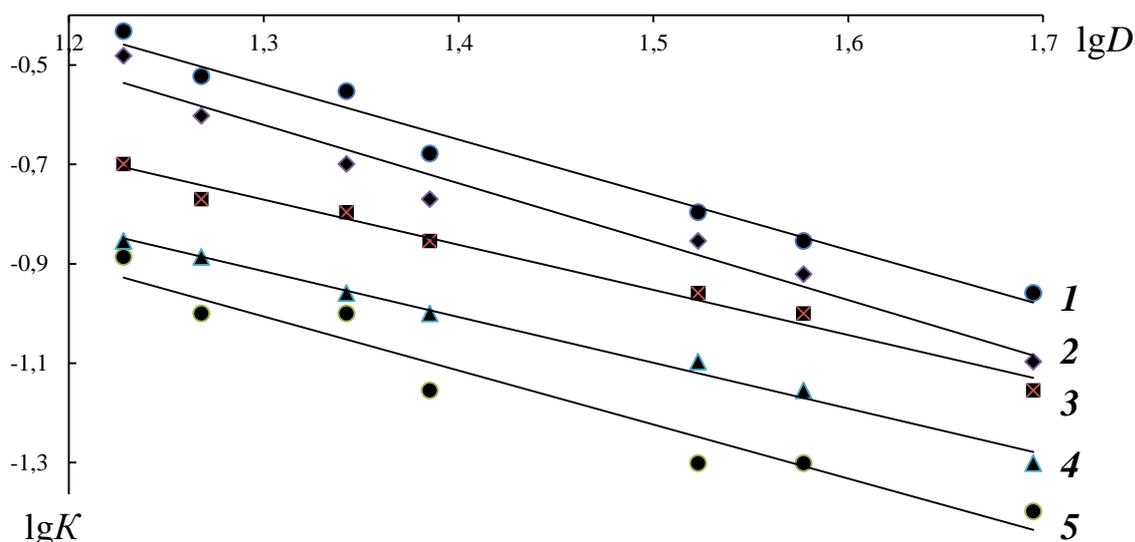


Рисунок 3.13 – Зависимость $\lg K$ новокаина с камфорой (1), бензофеноном (2), диэтилфталатом (3), фенетолом (4) и дифенилом (5) от $\lg D$ новокаина между водой и спиртом без добавления сольвотропного реагента [210]

Полученные уравнения регрессии для комплексов новокаина с камфорой, бензофеноном, диэтилфталатом, фенетолом и дифенилом соответственно имеют вид: $\lg K = -1,111 \cdot \lg D + 0,905$, $R^2 = 0,9790$;

$$\lg K = -1,175 \cdot \lg D + 0,907, R^2 = 0,9670;$$

$$\lg K = -0,906 \cdot \lg D + 0,407, R^2 = 0,9830;$$

$$\lg K = -0,919 \cdot \lg D + 0,279, R^2 = 0,9910;$$

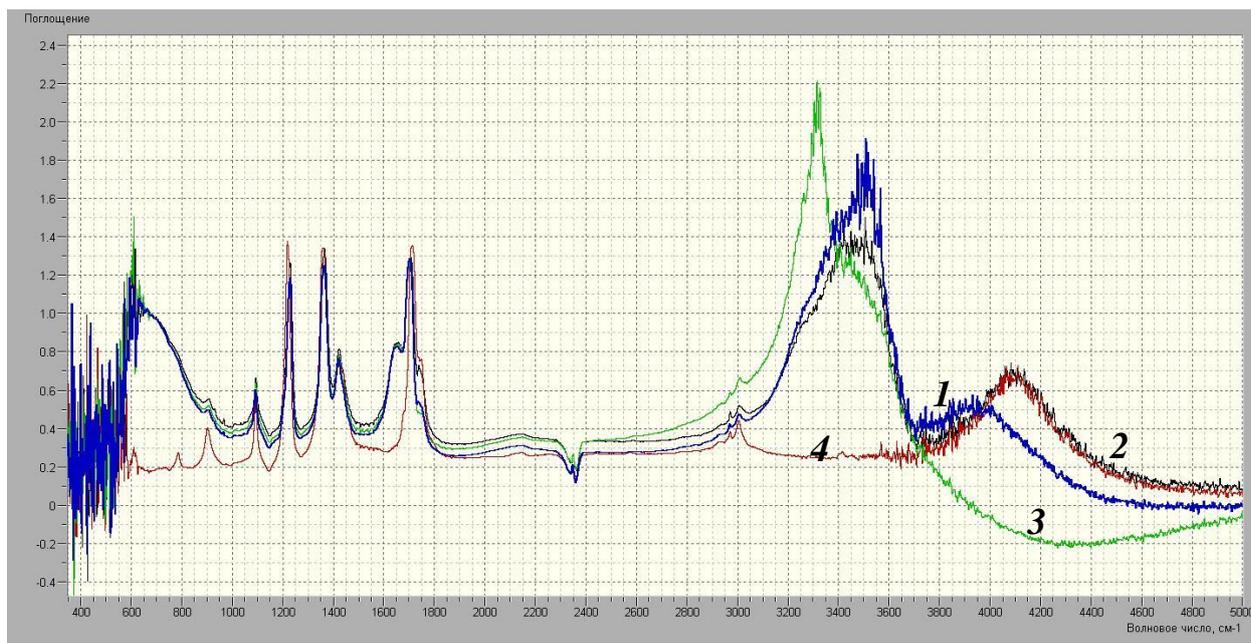
$$\lg K = -1,086 \cdot \lg D + 0,406, R^2 = 0,9420.$$

Уравнения позволяют надежно прогнозировать константы образования молекулярных комплексов с сольвотропными реагентами. Например, в системе н-дециловый спирт – камфора $K = 0,48$ [210].

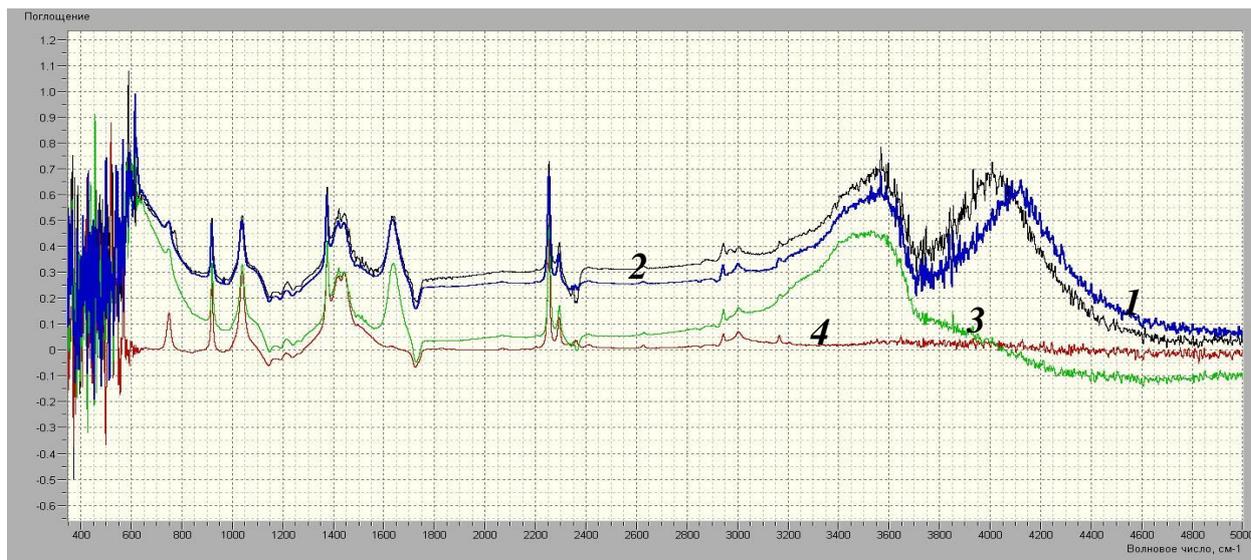
В системах с сольвотропными реагентами достигается значительное повышение экстракционных характеристик местных анестетиков по сравнению с экстракцией индивидуальными растворителями. Системы позволяют достичь 4-, 7- и 30-кратного концентрирования лидокаина, новокаина и анестезина соответственно, что способствует повышению чувствительности анализа.

3.4. Анализ ИК-спектров экстрактов местных анестетиков

Для установления механизма образования молекулярных комплексов исследуемых веществ с растворителями проводили ИК-Фурье-спектроскопический анализ экстрактов анестетиков. По сдвигу характеристических полос поглощения соответствующих групп в экстрактах делали вывод о возможном типе взаимодействия. Приводим ИК-спектры экстрактов местных анестетиков в различных растворителях (рисунки 3.14 и 3.15).



а)



б)

Рисунок 3.14 – ИК-спектры экстрактов новокаина (1), анестезина (2) и лидокаина (3) относительно чистых растворителей (4) в: а) диметилкетоне, б) ацетонитриле

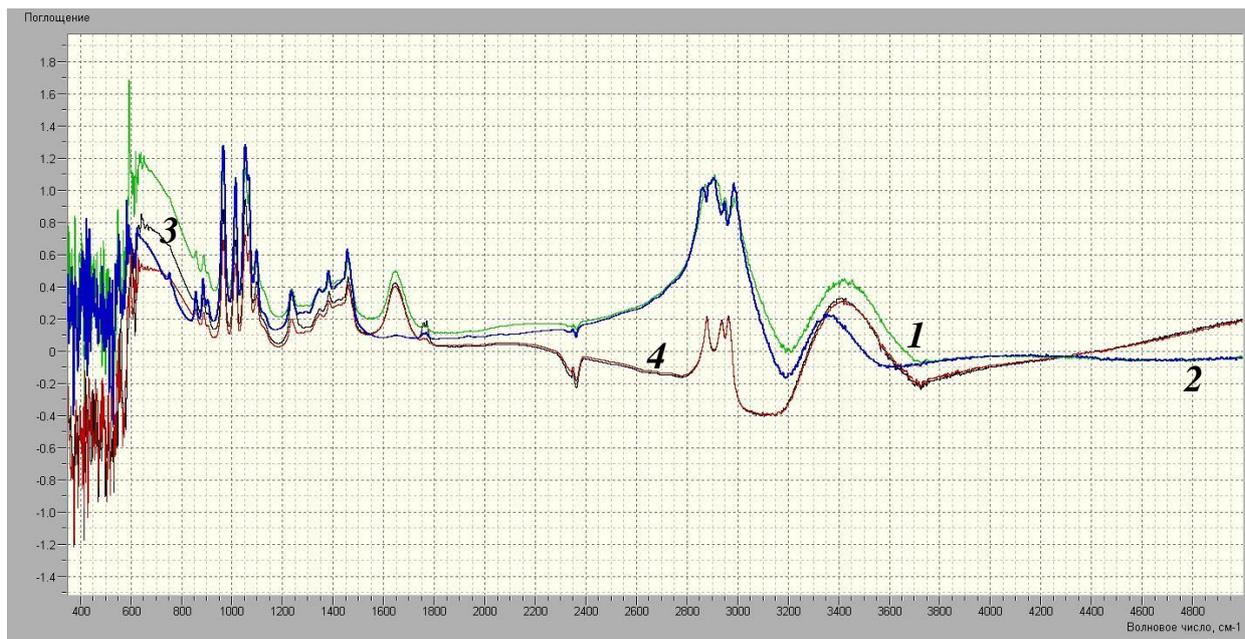


Рисунок 3.15 – ИК-спектры пропанольных экстрактов новокаина (1), анестезина (2) и лидокаина (3) относительно н-пропилового спирта (4)

Экстракты новокаина и анестезина содержат характерную для первичных аминов широкую полосу поглощения в интервале $623 - 850 \text{ см}^{-1}$ и $598 - 874 \text{ см}^{-1}$ соответственно (экстрагент – н-пропиловый спирт), $606 - 897 \text{ см}^{-1}$ и $579 - 834 \text{ см}^{-1}$ (экстрагент – ацетонитрил) и $620 - 890 \text{ см}^{-1}$ и $614 - 874 \text{ см}^{-1}$ (экстрагент – диметилкетон), обусловленную внешними деформационными колебаниями NH_2 -группы. Сдвиги полос в сторону более низких частот по сравнению со стандартным значением ($650 - 900 \text{ см}^{-1}$) обусловлены образованием водородных связей, причем более гидрированы группы анестезина (большее смешение в сторону низких частот).

В пропанольном, ацетонитрильном и диметилкетоновом экстрактах лидокаина отмечена полоса поглощения гидрированной NH -группы ($587 - 834 \text{ см}^{-1}$, $579 - 894 \text{ см}^{-1}$, $609 - 879 \text{ см}^{-1}$ соответственно).

В ИК-спектрах экстрактов лидокаина и анестезина в н-пропиловом спирте отмечен сдвиг валентных колебаний $\text{C}-\text{OH}$ (больше на 4 см^{-1} относительно стандартного значения 1050), обусловленный наличием водородных связей.

ИК-спектры новокаина включают широкую характерную полосу 1569 – 1739 см^{-1} (пик 1645 см^{-1}) – для пропанольного экстракта и 1574 – 1674 см^{-1} (пик 1649 см^{-1}) – для диметилкетонového экстрактов. Отклонение от стандартного значения пика 1650 см^{-1} обусловлено образованием водородных связей между группами $\text{C}=\text{O}$ сложноэфирной группы анестетика и OH -группой спирта или между группами $\text{C}=\text{O}$ новокаина и диметилкетона с помощью «мостика» воды. В диметилкетонovém экстракте анестезина идентифицированы полосы поглощения при 1558 – 1673 см^{-1} (пик 1651 см^{-1}), лидокаина при 1589 – 1675 см^{-1} (пик 1648 см^{-1}). С участием молекул лидокаина и анестезина осуществляется более сильное по сравнению с новокаином взаимодействие между группами $\text{C}=\text{O}$ и OH (сдвиг составляет 7 см^{-1} и 9 см^{-1} соответственно в пропанольном экстракте, разница – 14 см^{-1} и 12 см^{-1} в ацетонитрильном экстракте по отношению к пропанольному).

Для диметилкетонových экстрактов местных анестетиков отмечена область поглощения 1674 – 1733 см^{-1} , свидетельствующая о наличии сопряженных $\text{C}=\text{O}$ -связей (сдвиг в сторону более низких частот относительно стандартного значения 1690 – 1725 см^{-1}). Полоса поглощения при 1703 см^{-1} в экстракте новокаина и лидокаина сдвигается в сторону более низких частот на 9 см^{-1} , что также обусловлено образованием водородных связей. Для анестезина сдвиг составляет 5 см^{-1} , что подтверждает более слабое взаимодействие экстрагентов по сравнению с новокаином и лидокаином.

В области поглощения групп $\text{C}\equiv\text{N}$ (2227 – 2270 см^{-1}) в ацетонитрильном экстракте для лидокаина и анестезина отмечен сдвиг частот на 4 см^{-1} , для новокаина на 5 см^{-1} в сторону больших частот (образование водородных связей, сила которых для всех местных анестетиков приблизительно одинакова).

Отметим, что для всех полученных ИК-спектров экстрактов анестезина и новокаина (пропанольных, диметилкетонových и ацетонитрильных) отмечено наложение колебаний NH_2 и OH в области поглощения соответствующих групп (около 3530 см^{-1}), что затрудняет их дифференциацию.

ИК-спектры экстрактов новокаина содержат широкую полосу в области 3200 – 3700 см^{-1} для пропанольного экстракта и по две, характерные для первич-

ных аминов, широкие полосы: 3184 – 3702 см^{-1} и 3754 – 4717 см^{-1} для ацетонитрильного; 3035 – 3706 см^{-1} и 3706 – 4639 см^{-1} для диметилкетонového экстрактов. Это обусловлено образованием:

- межмолекулярных связей новокаина с экстрагентом за счет «мостиков» воды (часть пика в интервале 3450 – 3550 см^{-1});
- π -водородной связи (3500 – 3600 см^{-1}).

В ИК-спектре пропанольного экстракта лидокаина отмечена более широкая полоса поглощения групп $-\text{NH}_2$ и $-\text{OH}$ (3192 – 3722 см^{-1}), чем для экстракта новокаина (шире на 77 см^{-1}), и меньшая, чем для экстракта анестезина (3150 – 3727 см^{-1} , уже на 47 см^{-1}). Это обусловлено большей гидратируемостью молекул анестезина и лидокаина в экстракте, по сравнению с молекулой новокаина, а также наличием более устойчивых водородных связей.

В ИК-спектре ацетонитрильных и диметилкетонových экстрактов анестезина отмечены более узкие полосы поглощения по сравнению с экстрактами новокаина в этих растворителях. Для анестезина установлены две полосы поглощения групп $-\text{NH}_2$ и $-\text{OH}$ [3302 – 3732 (уже на 88 см^{-1}) и 3732 – 4685 см^{-1} (уже на 10 см^{-1})] в ацетонитрильном экстракте и 3047 – 3710 (уже на 8 см^{-1}) и 3710 – 4560 см^{-1} (уже на 83 см^{-1}) в диметилкетонovém. В ИК-спектре лидокаина (вторичный амин) отмечена одна широкая полоса поглощения 3094 – 3698 см^{-1} в ацетонитрильном экстракте и 3039 – 4259 см^{-1} в диметилкетонovém экстракте, характерная для поглощения групп $=\text{NH}$ и $-\text{OH}$.

При образовании π -комплексов анестетиков с растворителем характерны сдвиги характеристических полос поглощения относительно чистого растворителя, соответствующие:

- симметричным валентным колебаниям кольца анестетиков (966 см^{-1}). Сдвиг на 8 см^{-1} в сторону более высоких частот относительно стандартного значения 958 см^{-1} в ацетонитрильном экстракте;
- скелетным колебаниям (1081 – 1114 см^{-1}). Смещение установлено в сторону более высоких частот по сравнению со стандартным значением 1063 – 1098 см^{-1} для пропанольного экстракта анестезина;

- колебаниям CH_3 -группы в области $1146 - 1245 \text{ см}^{-1}$ [сдвиг на 11 см^{-1} (экстракт новокаина)] и движению карбонильной группы, связанной с остальной частью молекулы ($1287 - 1394 \text{ см}^{-1}$ [пик 1365 см^{-1} , сдвиг на 6 см^{-1} в экстракте анестезина и на 7 см^{-1} в экстракте лидокаина]), в сторону больших частот. Устойчивость комплексов местных анестетиков примерно одинаковая;
- симметричным валентным колебаниям CH_2 -группы ($2719 - 2881 \text{ см}^{-1}$, сдвиг на 6 см^{-1}) при применении в качестве экстрагента новокаина н-пропилового спирта. В ацетонитрильном экстракте анестезина и лидокаина отмечены сдвиги полос поглощения полос на 3 см^{-1} (комплексы менее устойчивы);
- симметричным валентным колебаниям CH_3 -группы. В пропанольном экстракте сдвиг характеристических полос поглощения относительно стандартного значения (2872 см^{-1}) составляет 3 см^{-1} и 5 см^{-1} для экстрактов лидокаина и анестезина соответственно;
- асимметричным колебаниям CH_2 -группам (сдвиг на 8 см^{-1} и на 10 см^{-1} в сторону более высоких частот в области колебаний $2887 - 2920 \text{ см}^{-1}$ в пропанольных экстрактах лидокаина и анестезина соответственно).

3.5. Квантово-химическое моделирование комплексов анестезина с растворителями и сольвотропными реагентами

Для подтверждения правильности результатов, полученных при анализе ИК-спектров экстрактов местных анестетиков, устанавливали структуру наиболее стабильных комплексов «экстрагент – анестетик» методом Хартри-Фока в базисе 6-31 G(d,p) при помощи компьютерных программ Gaussian 09W и GaussView 5.0 [220, 221]. Квантово-химическими расчетами комплексов «сольвотропный реагент – анестетик» подтверждали их структуру, а также природу взаимодействия соединений.

Расчеты структуры комплексов проводили в системах с этиловым спиртом и диметилкетонем. Изучали различные пространственные конфигурации комплексов (таблица 3.10 и рисунок 3.16 а), таблица 2 и рисунки 4-6 приложения В), для каждого из которых после оптимизации структуры рассчитывали энергию во-

дородной связи ($E_{\text{связи}}$, кДж/моль). Наиболее вероятно образующийся комплекс при экстракции анестезина приведен на рисунке 3.16 а). Он является самым устойчивым ($E_{\text{связи}}$ максимальна). Отметим, что в комплексах, изображенных на рисунках 4 б) и 6 б) водородные связи не образуются между кислородом анестетика и водородом молекулы воды, так как расстояние $O \cdots H-O$ превышает $3,2 \cdot 10^{-1}$ нм, перекрывание электронных облаков для образования связи не возможно. Структуры предполагаемых комплексов анестезина с экстрагентами и сольватропными реагентами представлены на рисунках 3.16-3.18, рассчитанные параметры приведены в таблицах 3.10 и 3.11.

Заряд является одним из важных свойств молекулы. При образовании связей на молекулярном уровне для определения природы взаимодействия используется распределение зарядов Малликена [222]. По удлинению связей в комплексах, по сравнению с исходным состоянием, а также расстоянию между атомами можно судить о межмолекулярных взаимодействиях [223].

Удлинение связи в комплексе по сравнению с исходной структурой молекулы обусловлено ее участием в межмолекулярном взаимодействии. Увеличение зарядов подтверждает увеличение поляризации связи [224].

Установлено, что $C=O$ связь в сложноэфирной группе анестезина удлиняется на $(3,7-8,4) \cdot 10^{-4}$ нм в комплексах с экстрагентами по сравнению с исходной структурой. Заряд Малликена на атоме кислорода группы $C=O$ возрастает на $(2,5-5,3) \cdot 10^{-2}$ ед. по сравнению с первоначальным зарядом. Длина связи $N-H$ анестезина возрастает на $(4,4-5,3) \cdot 10^{-4}$ нм, а заряд атома азота на $(2,9-4,4) \cdot 10^{-2}$.

Гидроксильные связи удлиняются в молекулах воды на $(3,4-7,8) \cdot 10^{-4}$ нм. Изменение зарядов атома кислорода OH -группы воды находится в пределах $(5,4 - 7,8) \cdot 10^{-2}$, водорода – $(2,6-6,3) \cdot 10^{-2}$ ед.

Длина связи $C=O$ увеличивается на $5,6 \cdot 10^{-4}$, $2,1 \cdot 10^{-4}$ и $1,3 \cdot 10^{-4}$ нм, а заряд атома кислорода возрастает на $3,7 \cdot 10^{-2}$, $0,6 \cdot 10^{-2}$ и $0,7 \cdot 10^{-2}$ ед. в молекулах камфоры, бензофенона и диметилфталата соответственно. Наибольшее удлинение и поляризация карбонильной связи происходит при взаимодействии с анестезином камфоры. Минимальное увеличение длины $C=O$ -связи отмечено в молекуле диме-

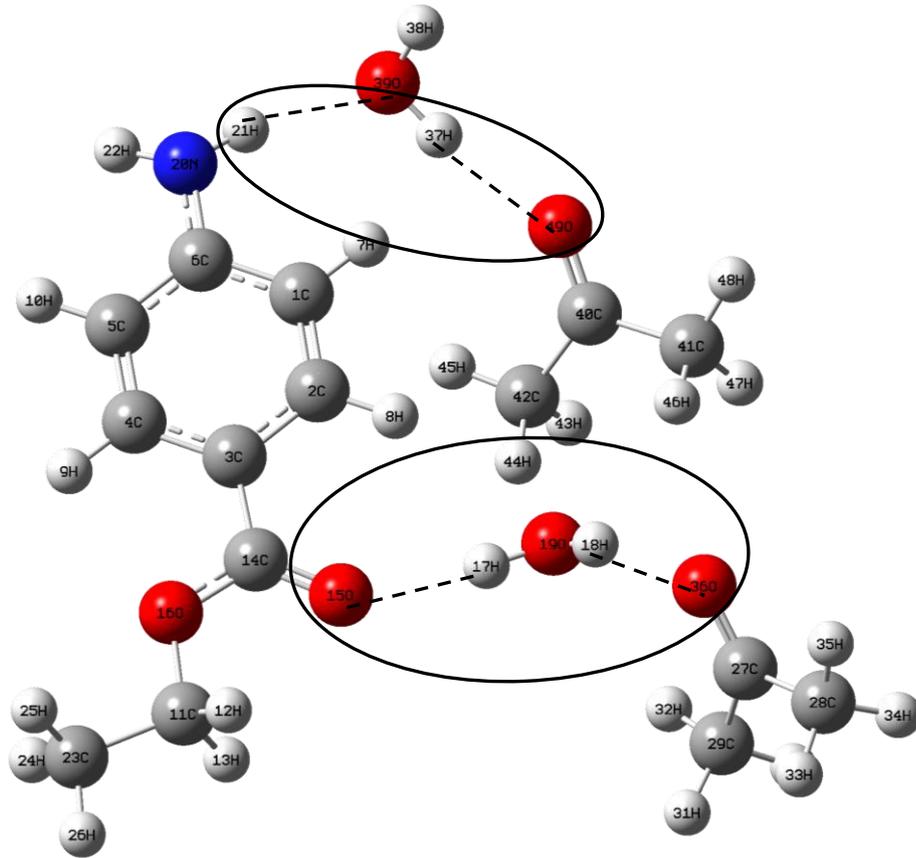
тилфталата, тогда как изменение заряда на атоме кислорода примерно одинаково по сравнению с соответствующим изменением в молекуле бензофенона. В молекуле фенетола длина эфирной группы С–О возрастает на $7,1 \cdot 10^{-4}$ нм, заряд кислорода – на $1,3 \cdot 10^{-2}$. Длина ОН-группы этилового спирта увеличивается на $7,6 \cdot 10^{-4}$ нм, заряд водорода возрастает на $6,3 \cdot 10^{-2}$, т.е. при образовании комплекса участвуют молекулы воды.

Длины водородных связей в комплексах с анестезином составляют 0,19556-0,22923 нм. Установлено, что водородные связи в комплексах образуются между атомом кислорода карбонильной группы анестезина и карбонильной, сложноэфирной или гидроксильной группами экстрагентов посредством «мостика» воды, а также с участием атома водорода аминогруппы анестезина через молекулу воды (комплексы с диметилкетонем и диметилфталатом), что согласуется с результатами, полученными в методе ИК-спектроскопии.

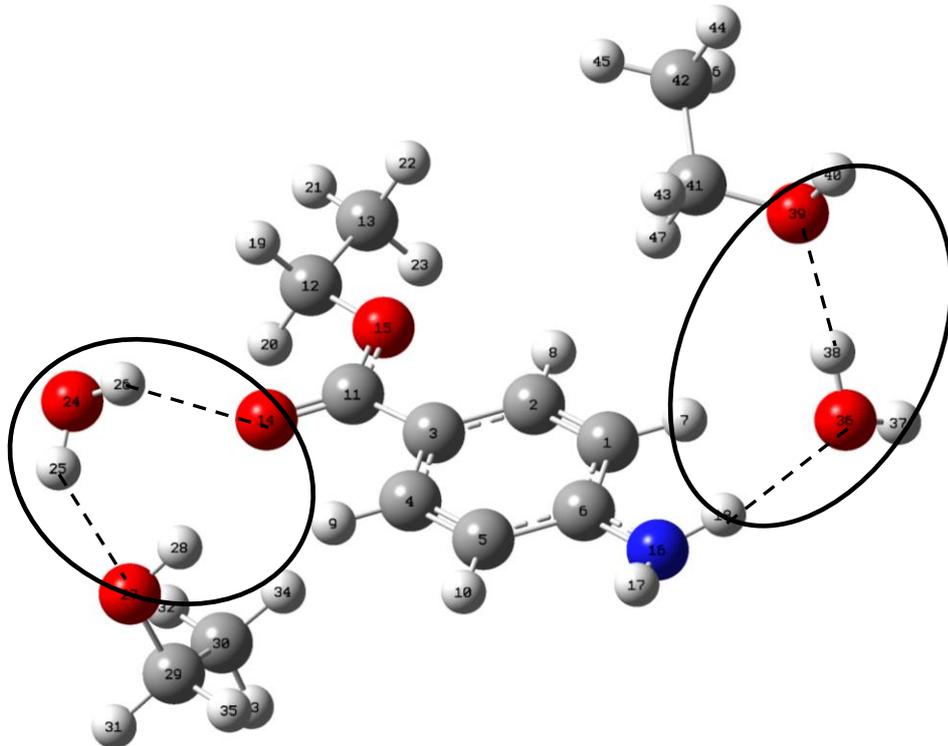
Таблица 3.10 – Характеристики предполагаемых оптимизированных комплексов анестезина с диметилкетонем и этиловым спиртом ($n_{\text{экт}} = 2$)

Экстрагент Параметр	Диметилкетон		Этиловый спирт	
$E_{\text{связи}}$, кДж/моль	-44,85		-26,45	
Длины связей · 10 ⁻¹ , нм	O [*] ₃₉ ...H ₂₁	2,1001	O ₁₄ ...H ₂₆	2,2339
	O ₄₉ ...H ₃₇	1,9929	O ₂₇ ...H ₂₅	2,2531
	O ₁₅ ...H ₁₇	2,0273	O ₃₉ ...H ₃₈	1,9509
	O ₃₆ ...H ₁₈	2,0783	O ₃₆ ...H ₁₈	2,0670
	N ₂₀ -H ₂₁	0,9997	N ₁₆ -H ₁₈	0,9989
	O ₃₉ -H ₃₈	0,9432	O ₃₆ -H ₃₈	0,9570
	O ₃₉ -H ₃₇	0,9501	O ₃₆ -H ₃₇	0,9426
	C ₄₀ =O ₄₉	1,2005	O ₂₄ -H ₂₆	0,9448
	O ₁₉ -H ₁₇	0,9490	O ₂₄ -H ₂₅	0,9460
	O ₁₉ -H ₁₈	0,9479	O ₂₇ -C ₂₉	1,4021
	C ₂₇ =O ₃₆	1,1966	C ₁₁ =O ₁₄	1,2049
	C ₁₄ =O ₁₅	1,2014	O ₃₉ -C ₄₁	1,4140
			O ₂₇ -H ₂₈	0,9435
			O ₃₉ -H ₄₀	0,9435
Заряды Маллика, z	O ₁₅	-0,649	O ₁₄	-0,663
	O ₁₉	-0,749	O ₂₄	-0,730
	O ₃₆	-0,545	O ₂₇	-0,680
	O ₃₉	-0,718	O ₃₆	-0,723
	O ₄₉	-0,582	O ₃₉	-0,669
	N ₂₀	-0,782	N ₁₆	-0,788
	H ₁₇	0,381	H ₁₈	0,365
	H ₁₈	0,367	H ₂₅	0,354
	H ₂₁	0,357	H ₂₆	0,354
	H ₃₇	0,388	H ₂₈	0,375
	H ₃₈	0,337	H ₃₇	0,337
	H ₄₄	0,188	H ₃₈	0,388
		H ₄₀	0,344	
Дипольный момент, Д	5,1542		9,4909	

* - номера атомов указаны на рисунке 3.16 в соответствующем комплексе



a)



б)

Рисунок 3.16 – Возможные структуры комплексов анестезина с: а) диметилкетон, б) этиловым спиртом

Таблица 3.11 – Характеристики оптимизированных комплексов анестезина с сольвотропными реагентами ($n_{\text{сольв}} = 1$)

Параметр	Фенетол		ДМФ		Бензофенон		Камфора	
Е _{связи} , кДж/моль	-15,77		-19,74		-20,06		-25,52	
Длины связей · 10 ⁻¹ , нм	O ₄₅ * ... H ₁₈	2,2923	O ₂₃ ... H ₂₁	2,0661	O ₂₃ ... H ₅₀	2,1337	O ₄₂ ... H ₄₄	2,1706
	O ₁₅ ... H ₁₇	2,0473	O ₄₀ ... H ₂₅	1,9983	O ₃₉ ... H ₄₉	2,0904	O ₁₅ ... H ₄₅	2,1332
	O ₁₉ – H ₁₇	0,9471	O ₁₅ ... H ₁₇	2,0364	O ₄₈ – H ₅₀	0,9463	O ₄₆ – H ₄₅	0,9467
	O ₁₉ – H ₁₈	0,9445	O ₄₁ ... H ₁₈	2,2705	O ₄₈ – H ₄₉	0,9473	O ₄₆ – H ₄₄	0,9457
	C ₁₄ = O ₁₅	1,1999	C ₁₄ = O ₁₅	1,2002	C ₂₄ = O ₂₃	1,2010	C ₄₁ = O ₄₂	1,2009
	C ₃₀ – O ₄₅	1,3521	O ₁₉ – H ₁₇	0,9482	C ₃₈ = O ₃₉	1,1985	C ₄ = O ₁₅	1,1951
	C ₃₈ – O ₄₅	1,4121	O ₁₉ – H ₁₈	0,9446				
			C ₄₇ = O ₄₁	1,1914				
			C ₄₄ = O ₄₀	1,1897				
			O ₂₃ – H ₂₅	0,9489				
			O ₂₃ – H ₂₄	0,9429				
		N ₂₀ – H ₂₁	0,9988					
Заряды Малликена, z	O ₁₅	-0,636	O ₁₅	-0,644	O ₂₃	-0,571	O ₁₅	-0,583
	O ₁₉	-0,735	O ₁₉	-0,733	O ₃₉	-0,629	O ₄₂	-0,640
	O ₄₅	-0,698	O ₂₃	-0,720	O ₄₈	-0,736	O ₄₆	-0,741
	H ₁₇	0,375	O ₄₀	-0,573	H ₄₉	0,370	H ₄₄	0,361
	H ₁₈	0,351	O ₄₁	-0,593	H ₅₀	0,365	H ₄₅	0,361
			N ₂₀	-0,790				
			H ₁₇	0,383				
			H ₁₈	0,354				
			H ₂₁	0,366				
			H ₂₂	0,288				
		H ₂₅	0,386					
Дипольный момент, Д	6,1508		3,9744		3,9949		5,8827	

* - номера атомов указаны на рисунках 3.17 и 3.18 в соответствующем комплексе

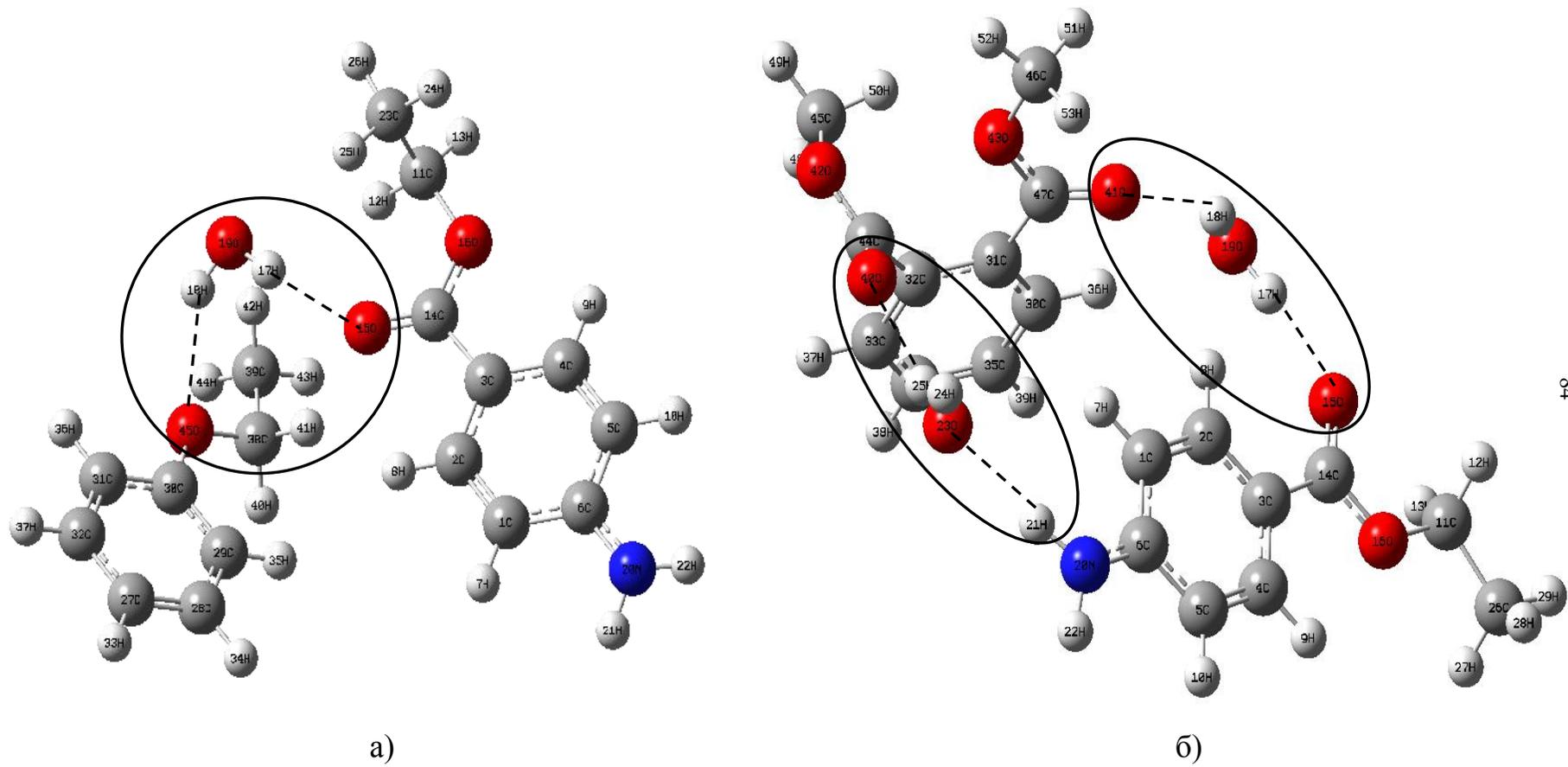
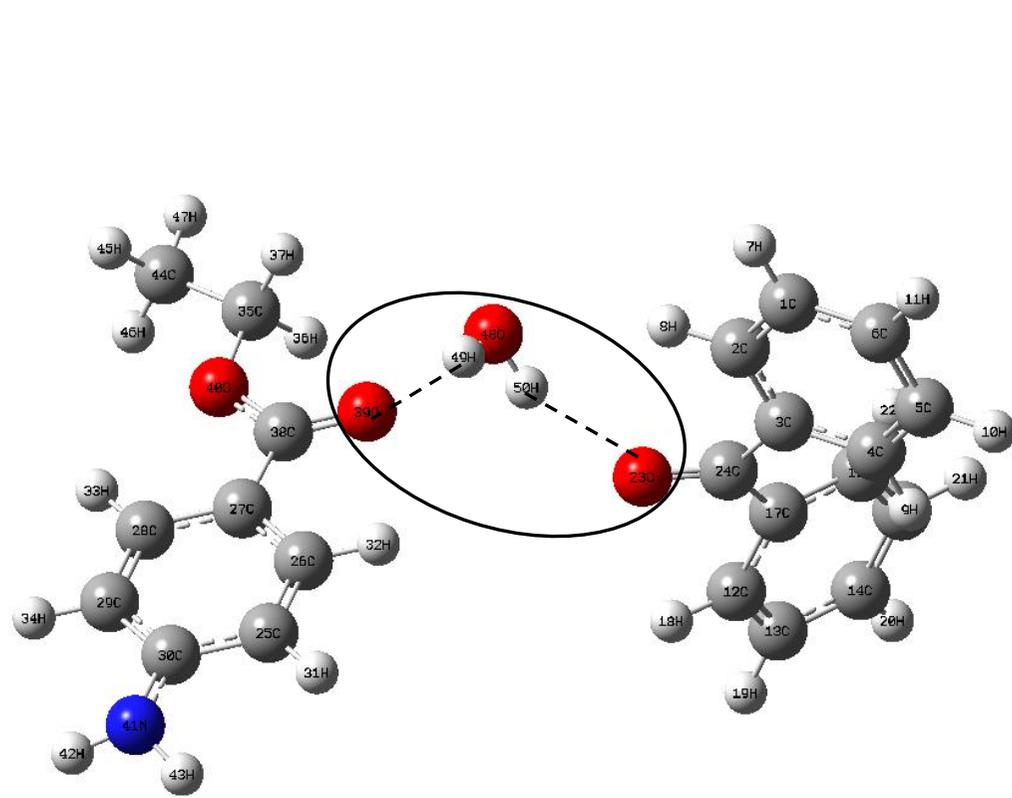
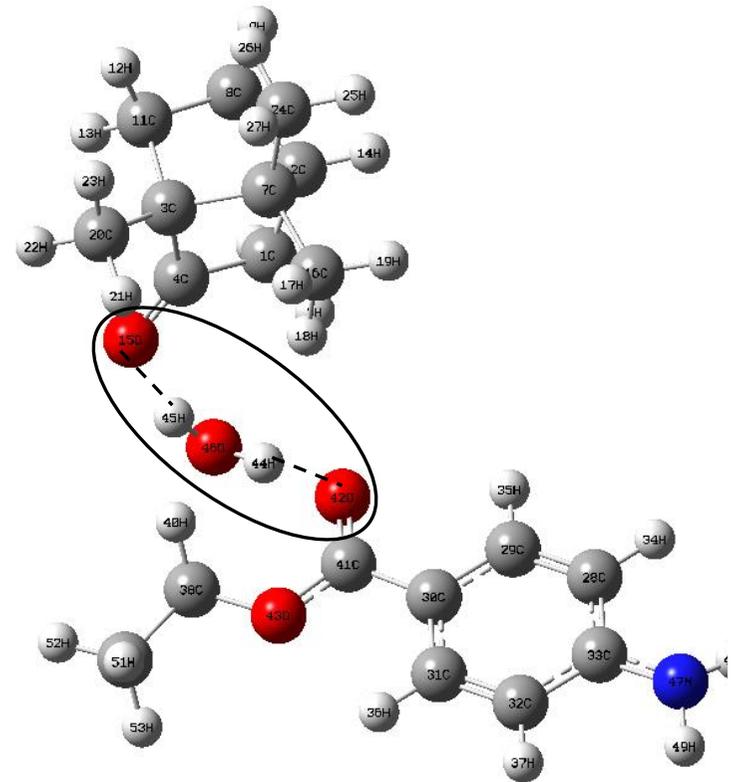


Рисунок 3.17 – Возможные структуры комплексов анестезина с: а) фенолом, б) диметилфталатом



a)



б)

Рисунок 3.18 – Возможные структуры комплексов анестезина с: а) бензофеноном, б) камфорой

Установлено, что самые поляризованные комплексы образуется при взаимодействии анестезина с этиловым спиртом и фенолом (дипольные моменты комплексов максимальны). Наиболее устойчивые молекулярные комплексы образуются при взаимодействии анестезина с камфорой. 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 логарифмов коэффициентов распределения и констант образования молекулярных комплексов анестезина с сольвотропными реагентами от величины энергии образования водородной связи в комплексах:

$$\lg D = -0,425 \cdot E_{\text{связи}} - 0,4731 \quad (R^2 = 0,9851) \quad \text{и} \quad \lg D = -0,025 \cdot E_{\text{связи}} + 2,8630 \quad (R^2 = 0,9618).$$

Полученные зависимости позволяют прогнозировать коэффициенты распределения анестезина при применении других сольвотропных реагентов с погрешностью не более 10 %.

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

ГЛАВА 4. ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕСТНЫХ АНЕСТЕТИКОВ В ЭКСТРАКТАХ

Разработан комплекс методик определения новокаина, анестезина и лидокаина в различных объектах. Методики включают в себя экстракцию анестетиков из вытяжек, получаемых из анализируемых объектов с последующим анализом концентрата физико-химическими методами (рисунок 4.1).

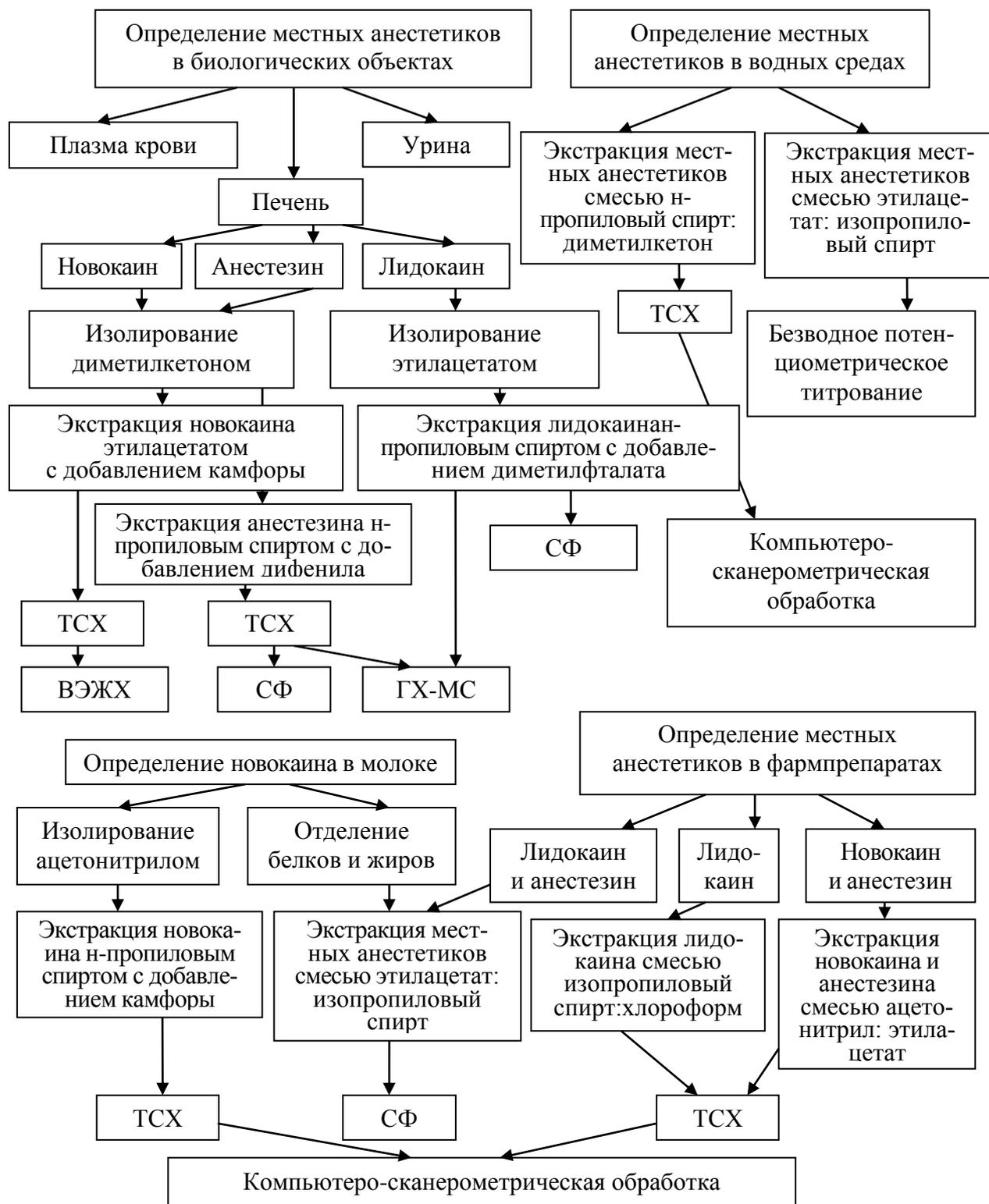


Рисунок 4.1 – Комплексная схема определения местных анестетиков

4.1. Экстракционно-спектрофотометрическое определение местных анестетиков в фармацевтических препаратах

При разработке способов экстракционно-спектрофотометрического определения анестетиков в экстрактах изучали светопоглощение новокаина, лидокаина и анестезина в органических растворителях и их смесях (рисунки 4.2, 4.3).

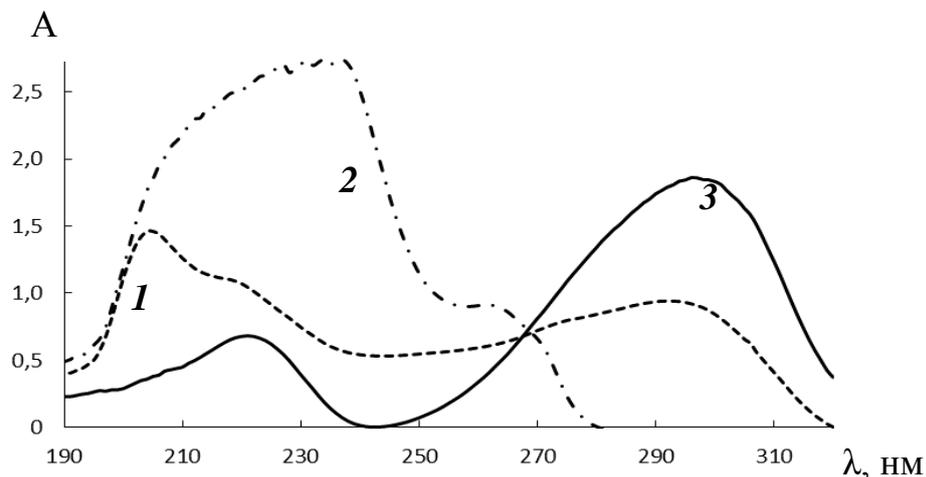


Рисунок 4.2 – Спектры поглощения анестезина (1), лидокаина (2) и новокаина (3) в этиловом спирте

В этиловом спирте обнаружено по два максимума светопоглощения анестетиков. Молярный коэффициент светопоглощения анестезина отличается для новокаина и лидокаина соответственно в 10 и 100 раз. Молярные коэффициенты светопоглощения максимальны для анестезина при 204 нм, лидокаина – при 237 нм и новокаина – при 298 нм.

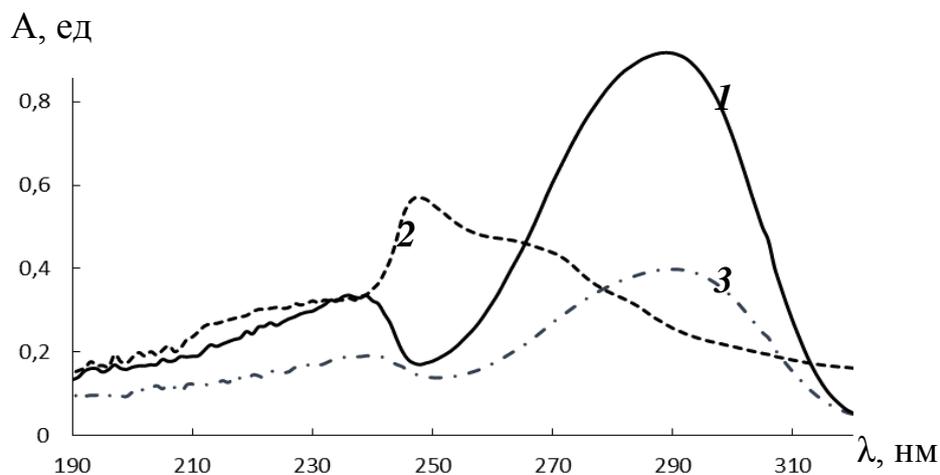


Рисунок 4.3 – Спектры поглощения анестезина (1), лидокаина (2) и новокаина (3) в смеси изопропиловый спирт:этилацетат (0,3:0,7 мол. д.)

В спектрах поглощения анестезина и новокаина в смеси изопропиловый спирт:этилацетат (0,3:0,7 мол. д.) отмечены по два максимума, для лидокаина – один. При этом светопоглощение анестезина на порядок больше по сравнению с новокаином и на два по сравнению с лидокаином (таблица 4.1), т. е. при применении этой смеси в качестве экстрагента чувствительности определения анестезина наибольшая.

Таблица 4.1 – Характеристические длины волн (λ_{\max} , нм) и молярные (ϵ , $\text{дм}^3 \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$) коэффициенты поглощения растворов местных анестетиков в различных растворителях

Местный анестетик	Этанольный раствор		Раствор в смеси изопропиловый спирт:этилацетат (0,3:0,7 мол. д.)	
	λ_{\max}	$\epsilon \cdot 10^{-4}$	λ_{\max}	$\epsilon \cdot 10^{-4}$
Анестезин	–	–	–	–
	204	3,61	239	5,65
	292	2,38	289	15,57
Новокаин	–	–	–	–
	224	0,44	236	1,07
	298	2,32	290	2,113
Лидокаин	237	0,12	–	–
	272	0,04	248	0,25

Анализ светопоглощения местных анестетиков в органических растворителях показал, что наибольшим светопоглощением характеризуется анестезин при 292 нм в смеси изопропиловый спирт:этилацетат в соотношении 0,3:0,7 мол. д. ($\epsilon = 1,56 \cdot 10^5 \text{ дм}^3 \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$), наименьшие значения – для лидокаина при 272 нм в этиловом спирте ($\epsilon = 3,81 \cdot 10^2 \text{ дм}^3 \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$), таблица 4.1.

Уравнения градуировочных графиков для определения местных анестетиков в концентратах приведены в таблице 4.2.

Для определения анестетиков 10 мг измельченных свечей, таблеток перемешивали при нагревании в 100 см^3 дистиллированной воды. При анализе мазей и кремов навески растворяли в 25 см^3 воды.

Таблица 4.2 – Уравнения градуировочных графиков для определения местных анестетиков при характеристических длинах волн в различных растворителях (λ_{\max})

Анестетик, характеристическая длина волны λ_{\max} , нм	Уравнение градуировочного графика (с, мг/см ³)	Коэффициент корреляции, (R ²)
Этанольный раствор		
Анестезин, 292	$A = 144 \cdot c$	0,9988
Новокаин, 298	$A = 96,7 \cdot c$	0,9973
Лидокаин, 272	$A = 1,38 \cdot c$	0,9992
Смесь изопропиловый спирт : этилацетат (0,3 : 0,7 мол. д.)		
Анестезин, 289	$A = 943 \cdot c$	0,9983
Новокаин, 290	$A = 77,2 \cdot c$	0,9989
Лидокаин, 248	$A = 9,24 \cdot c$	0,9988

Полученные суспензии фильтровали, к 10 см³ фильтрата прибавляли кристаллический сульфат аммония до насыщения и аммонийный буферный раствор до pH = 7,5-8,5. Анестетики экстрагировали 10 мин смесью изопропиловый спирт:этилацетат (0,3:0,7 мол. д.) при соотношении объемов водно-солевой и органической фаз 10:2. После расслаивания системы экстракт отделяли от водной фазы и спектрофотометрически определяли содержание анестетиков в концентрате при характеристических длинах волн [225, 226]. Результаты определения приведены в таблице 4.3.

Таблица 4.3 – Экстракционно-спектрофотометрическое определение анестетиков в различных фармацевтических препаратах; n = 3, P = 0,95

Анестетик	Фарм-препарат	Производитель	Заявлено, мг/г	Найдено, мг/г	S _r , %	Δ, %	F _{рас.}	t _{рас.}
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Лидокаин	Мазь «Ауробин»	ОАО «Гедеон Рихтер»	20	19,13 ± 2,80	6,3	5,3	2,20	0,29
	Крем «ЭМЛА»	ООО «АстраЗенека-Фармасьютикалз»	25	23,80 ± 3,50	4,3	4,3	1,85	0,60

Продолжение таблицы 4.3

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Ане- стезин	Суппози- тории «Анесте- зол»	ОАО «Нижфарм»	100 мг/супп.	96,40 ± 12,90	4,9	3,6	–	–
	Таблетки «Беллал- гин»	ОАО «Татхим- фармпрепа- раты»	250	242,30 ± 23,4	3,6	3,1	–	–
	«Гепари- новая мазь»	ОАО «Нижфарм»	40	37,90 ± 4,80	4,7	4,4	1,01	0,13
		ЗАО «Ал- тайвитами- ны»		38,30 ± 4,50	4,3	4,8	1,54	0,21

По сравнению с методикой хроматографического определения анестетиков (раздел 4.2) получены завышенные значения, что обусловлено влиянием соэкстрактивных веществ, поглощающих электромагнитное излучение в той же области. Способ экспрессен (продолжительность определения не превышает 20 мин), результаты хорошо воспроизводимы (относительное стандартное отклонение и погрешность в пределах 5 %) и сопоставимы с результатами, полученными с применением стандартных методик.

4.2. Экстракционно-хроматографическое определение анестетиков

4.2.1. Выбор подвижной фазы при определении анестетиков методом хроматографии в тонком слое

Хроматографические системы для разделения выбирали исходя из природы анестетиков. Новокаин и лидокаин – высокогидрофильные соединения, поэтому основу подвижной фазы должен составлять гидрофильный растворитель. Анестезин плохо растворим в воде, что требует введения в систему для хроматографирования гидрофобного компонента [174].

В качестве гидрофобного компонента системы нами предложен гексан, являющийся менее токсичным по сравнению с хлороформом и толуолом, смеси на

основе которых применяют в качестве подвижных фаз [227, 228]. Гидрофильные растворители – диметилкетон и ацетонитрил, широко применяемые как составляющие подвижных фаз, например, при определении алкалоидов, пестицидов и других веществ [174, 229].

Нами применены двух- и трехкомпонентные смеси, состоящие из диметилкетона, ацетонитрила и гексана. Для оптимизации состава подвижной фазы применяли симплекс-решетчатое планирование эксперимента. При этом сумма компонентов смеси нормируется и выполняется равенство [230]:

$$\sum_{1 \leq i \leq q} x_i = 1, \quad (4.1)$$

где x_i – объемное соотношение i -го компонента смеси.

В качестве математической модели «состав подвижной фазы – коэффициент подвижности» применяли кубическую модель для q -компонентной смеси:

$$y = \sum_{1 \leq i \leq q} \beta_i \cdot X_i + \sum_{1 \leq i < j \leq q} \beta_{ij} \cdot X_i \cdot X_j + \sum_{1 \leq i < j \leq q} \gamma_{ij} \cdot X_i \cdot X_j \cdot (X_i - X_j) + \sum_{1 \leq i < j < k \leq q} \beta_{ijk} \cdot X_i \cdot X_j \cdot X_k, \quad (4.2)$$

где X – масштабированные значения факторов, определяющих функцию отклика и поддающихся варьированию; i, j, k – индексы факторов; q – число компонентов смеси; β и γ – коэффициенты уравнения:

$$\beta_i = \gamma_i, \quad (4.3)$$

$$\beta_{ij} = \frac{9}{4} (3\gamma_{ij} + \gamma_{ji} - \gamma_i - \gamma_j), \quad (4.4)$$

$$\gamma_{ij} = \frac{9}{4} (3\gamma_{ij} - \gamma_{ji} - \gamma_i + \gamma_j), \quad (4.5)$$

$$\beta_{ijk} = 27\gamma_{ijk} - \frac{27}{4} (\gamma_{ij} + \gamma_{ji} + \gamma_{ik} + \gamma_{ki} + \gamma_{jk} + \gamma_{kj}) + \frac{9}{2} (\gamma_i + \gamma_j + \gamma_k), \quad (4.6)$$

где y – экспериментально установленные коэффициенты подвижности местных анестетиков.

Матрица планирования эксперимента приведена в таблице 4.4.

Таблица 4.4 – Матрица симплекс-решетчатого плана эксперимента третьего порядка ($\{3,3\}$ решетка)

№ эксперимента	Соотношение компонентов, об. доли			Коэффициент подвижности
	Диметилкетон	Ацетонитрил	Гексан	
1	1	0	0	y_i
2	0	1	0	y_j
3	0	0	1	y_k
4	2/3	1/3	0	y_{ij}
5	1/3	2/3	0	y_{ij}
6	0	2/3	1/3	y_{ik}
7	0	1/3	2/3	y_{ik}
8	2/3	0	1/3	y_{jk}
9	1/3	0	2/3	y_{jk}
10	1/3	1/3	1/3	y_{ijk}

В результате статистической обработки экспериментальных данных получены уравнения регрессии, характеризующие состав трехкомпонентной подвижной фазы для разделения анестетиков (программа Simplex 3.0):

анестезин

$$y = 0,91 \cdot X_1 + 0,15 \cdot X_2 + 0,97 \cdot X_3 + 0,16 \cdot X_1 \cdot X_2 - 3,02 \cdot X_1 \cdot X_3 + 0,59 \cdot X_2 \cdot X_3 + 1,19 \cdot X_1 \cdot X_2 \cdot (X_1 - X_2) - 2,16 \cdot X_1 \cdot X_3 \cdot (X_1 - X_3) - 0,72 \cdot X_2 \cdot X_3 \cdot (X_2 - X_3) + 4,21 \cdot X_1 \cdot X_2 \cdot X_3; \quad (4.7)$$

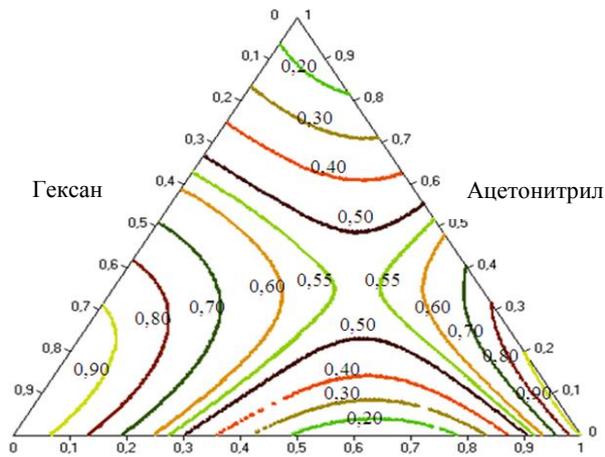
новокаин

$$y = 0,11 \cdot X_1 + 0,02 \cdot X_2 + 1,44 \cdot X_1 \cdot X_2 - 0,16 \cdot X_1 \cdot X_3 + 0,79 \cdot X_2 \cdot X_3 + 1,35 \cdot X_1 \cdot X_2 \cdot (X_1 - X_2) + 0,02 \cdot X_1 \cdot X_3 \cdot (X_1 - X_3) + 0,43 \cdot X_2 \cdot X_3 \cdot (X_2 - X_3) - 7,11 \cdot X_1 \cdot X_2 \cdot X_3; \quad (4.8)$$

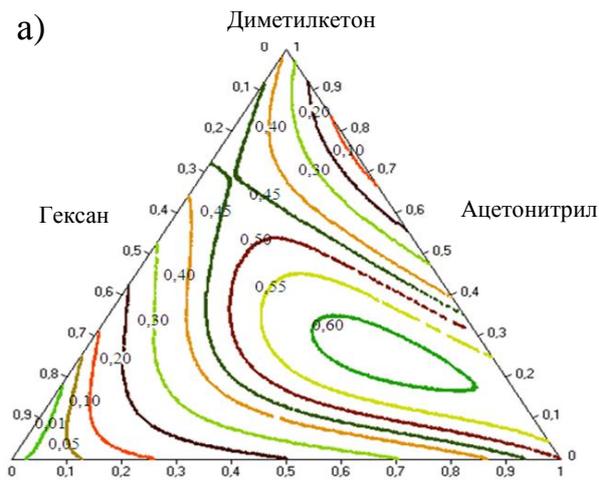
лидокаин

$$y = 0,50 \cdot X_1 + 0,38 \cdot X_2 - 0,70 \cdot X_1 \cdot X_2 - 0,20 \cdot X_1 \cdot X_3 + 0,36 \cdot X_2 \cdot X_3 + 2,23 \cdot X_1 \cdot X_2 \cdot (X_1 - X_2) - 0,11 \cdot X_1 \cdot X_3 \cdot (X_1 - X_3) + 1,17 \cdot X_2 \cdot X_3 \cdot (X_2 - X_3) + 9,36 \cdot X_1 \cdot X_2 \cdot X_3. \quad (4.9)$$

При обработке результатов эксперимента применены статистические критерии: проверка однородности дисперсий – критерий Кохрена, значимость коэффициентов уравнений регрессии – критерий Стьюдента, адекватность уравнений – критерий Фишера [231].



а)



б)

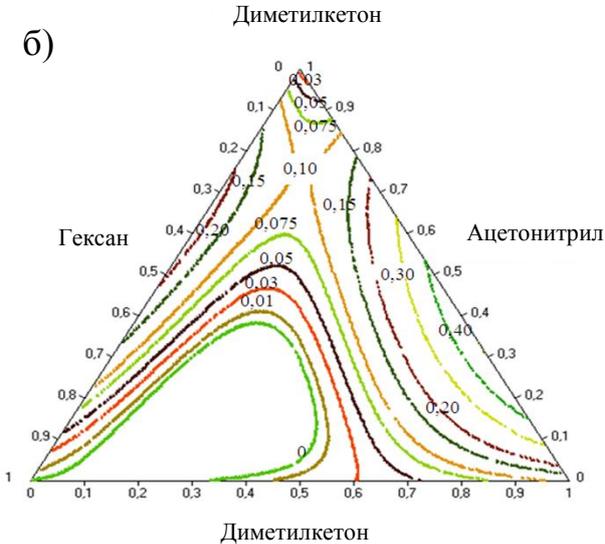


Рисунок 4.4 – Диаграммы «состав подвижной фазы – коэффициент подвижности» для трехкомпонентной смеси для разделения анестезина (а), лидокаина (б) и новокаина (в)

Для установления состава подвижной фазы уравнения регрессий (4.7-4.9) решали относительно переменных X_1 , X_2 и X_3 (интервал значений – от 0 до 1). По полученным значениям строили изолинии на треугольнике концентраций – контурные кривые равных коэффициентов подвижности, позволяющие выбрать состав подвижной фазы (рисунок 4.4), обеспечивающей наиболее полное разделение анестетиков в смеси.

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 (таблица 4.5).

Оценка результатов по критерию Фишера показала, что кубические модели адекватно описывают экспериментальные результаты. Погрешность значений коэффициентов подвижности анестетиков, полученных при моделировании, по отношению к экспериментально установленным, не превышает 10 %.

Анестетики – слабые основания, поэтому кислотность среды оказывает значительное влияние на коэффициенты

подвижности. Максимальное изменение R_f происходит при введении в систему кислоты (рисунок 4.5). Повышение эффективности хроматографирования обусловлено образованием в кислой среде ионных ассоциатов, которые извлекаются органической фазой более селективно [174, 209].

Таблица 4.5 – Расчетные коэффициенты подвижности ($R_{fрасч}$) и разделения (α) новокаина (1), лидокаина (2) и анестезина (3) при применении наиболее селективных подвижных фаз

Состав подвижной фазы (об. д.) диметилкетон:ацетонитрил:гексан	$R_{fрасч}$			α		
	1	2	3	1 и 2	2 и 3	3 и 1
0,05:0,15:0,80	0,03	0,08	0,94	3	12	32
0,05:0,25:0,70	0,06	0,15	0,90	3	6	15
0,05:0,30:0,65	0,08	0,20	0,87	3	4	11
0,10:0,15:0,75	~0	0,15	0,88	106	6	619
0,10:0,20:0,70	0,01	0,20	0,87	20	4	88
0,10:0,25:0,65	0,02	0,24	0,85	12	3	41
0,10:0,30:0,60	0,03	0,29	0,82	9	3	25
0,15:0,35:0,50	0,01	0,41	0,73	33	2	59
0,15:0,45:0,40	0,04	0,47	0,64	12	1	16
0,20:0,40:0,40	0,01	0,50	0,65	55	1	71
0,40:0,25:0,35	0,01	0,58	0,54	75	1	71
0,50:0,10:0,40	0,01	0,44	0,36	49	1	39

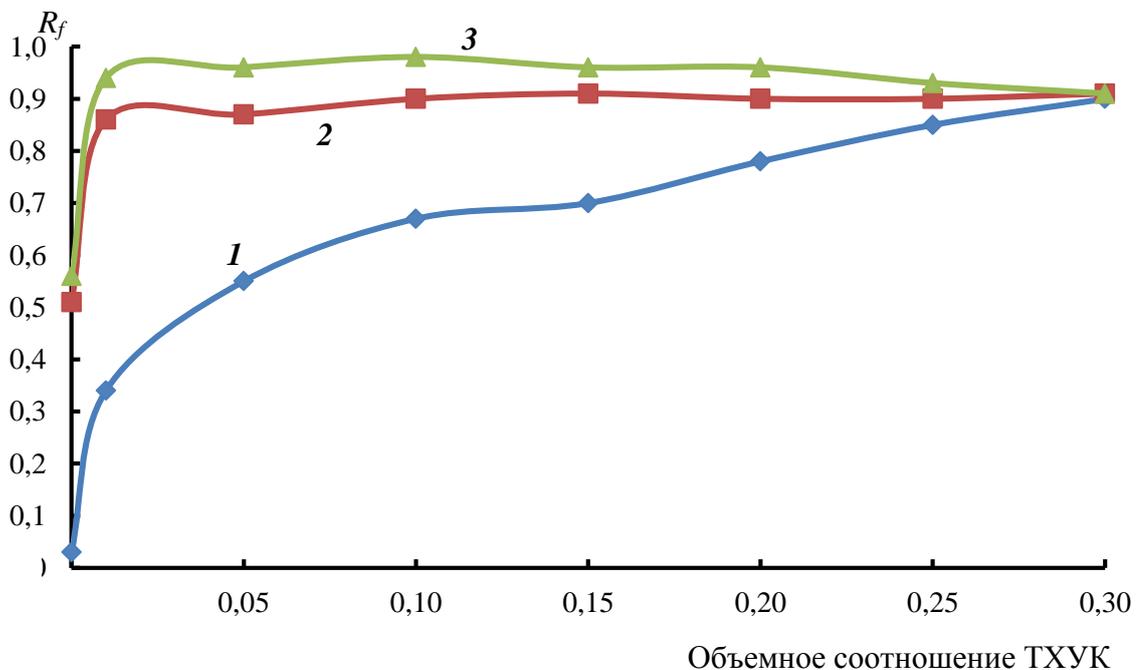


Рисунок 4.5 – Зависимость коэффициентов подвижности новокаина (1), лидокаина (2) и анестезина (3) от содержания ТХУК в системе гексан:диметилкетон :ацетонитрил (1:1:1)

Введение в подвижную фазу трихлоруксусной кислоты (ТХУК) позволило получить пятна анестетиков правильной формы, в системах с уксусной кислотой пятна размыты. Это обусловлено образованием менее устойчивых ассоциатов новокаина, лидокаина и анестезина в среде с уксусной кислотой, чем с ТХУК.

4.2.2. Способ определения анестетиков в водных средах

К 5 см³ раствора анализируемого раствора добавляли кристаллический сульфат аммония до насыщения, 0,5 см³ аммонийного буферного раствора и изо-молярную смесь пропиловый спирт:диметилкетон (0,2:0,8) из расчета объемов водной и органической фаз 5:1 и экстрагировали 5 мин. После расслаивания системы микрошприцем отбирали 0,01 см³ экстракта и наносили его на линию старта активированной хроматографической пластины. Также на пластину наносили по 0,01 см³ раствора каждого анестетика известной концентрации. На дно хроматографической камеры помещали подвижную фазу – смесь: гексан:диметилкетон:ацетонитрил:трихлоруксусная кислота (3:3:3:0,1). Насыщали газовую фазу камеры парами растворителей в течение 30 мин и помещали пластину. После достижения подвижной фазой линии финиша пластину извлекали, высушивали и проявляли реактивом Драгендорфа. Получали окрашенные в коричневый цвет пятна на оранжевом фоне.

Для определения местных анестетиков применяют специализированное программное обеспечение, которое снижает затраты времени и труда на получение информации о составе пробы в планарной хроматографии [174, 232].

В работе хроматограммы сканировали на планшетном сканере, полученное изображение обрабатывали в программе «Денситометр «Сорбфил».

Анестетики идентифицировали по коэффициентам подвижности.

Количественный анализ основан на построении хроматограммы трека по отклонению интенсивности окраски пятен в треке от яркости фона пластины с последующим нахождением пиков на этой кривой и расчетом их площади. Расчет производили методом внешнего стандарта (Приложение Г) [233].

Содержание анестетиков в экстракте устанавливали по градуировочным графикам в координатах: количество вещества (x) – площадь пятна (y).

Градуировочные графики построены по стандартным растворам анестетиков:

$$\text{анестезин } y = 13656 \cdot x + 318;$$

$$\text{новокаин } y = 7364 \cdot x - 9;$$

$$\text{лидокаину } y = 8936 \cdot x + 359.$$

Результаты количественного определения в водных средах приведены в таблице 4.6 [174].

Таблица 4.6 – Экстракционно-хроматографическое определение местных анестетиков в водных средах методом «введено – найдено»; $n = 3$, $P = 0,95$

Анестетик	Введено, мкг/см ³	Найдено, мкг/см ³	S _r , %	Δ, %
Новокаин	50,00	47,40 ± 6,45	5,0	5,2
	25,00	23,20 ± 4,60	7,3	7,2
	10,00	9,50 ± 1,75	6,9	7,0
Лидокаин	50,00	47,90 ± 6,30	4,8	4,2
	25,00	23,50 ± 4,40	6,9	6,0
	10,00	9,60 ± 2,20	8,4	4,0
Анестезин	50,00	48,10 ± 6,31	4,8	3,8
	25,00	23,80 ± 5,30	8,2	4,8
	10,00	9,70 ± 2,00	7,8	6,0

Диапазон определяемых концентраций 0,1 – 1 мкг/см³, предел обнаружения 0,02 мкг/см³. Способ легко выполним и может быть применен для контроля вод фармацевтических предприятий и стоматологических клиник. Относительная погрешность определения не превышает 7 %.

4.2.3. Способ определения анестетиков в мазях и кремах

Мазь/крем (10 мг) перемешивали при нагревании с 25 см³ дистиллированной воды. Полученную суспензию фильтровали, к 10 см³ фильтрата прибавляли карбонат калия до насыщения.

Для определения лидокаина экстракцию проводили изомолярной смесью изопропиловый спирт:хлороформ (0,9:0,1), новокаина и анестезина – смесью аце-

тонитрил:этилацетат (0,4:0,6) в течение 10 мин при соотношении объемов водно-солевой и органической фаз 15:3. После расслаивания, отбирали 0,01 см³ экстракта и наносили его на линию старта хроматографической пластины «Сорбфил» UV-254. В качестве подвижной фазы применяли смесь растворителей гексан:диметилкетон:ацетонитрил:трихлоруксусная кислота (3:3:3:0,1). Хроматографировали в присутствии стандарта. Хроматограмму проявляли реактивом Драгендорфа. Далее анализ выполняли как в предыдущем разделе.

Правильность разработанного способа определения анестетиков в фармацевтических препаратах оценивали, применяя фармакопейные методики [161]. Для извлечения лидокаина из мази применяли четырехкратную экстракцию хлороформом, упаривание экстракта и растворение его в серной кислоте. Анестетик предварительно идентифицировали по реакции с хлоридом кобальта (синезеленый кристаллический осадок).

Анестезин из мазей с водорастворимой основой выделяли при нагревании хлороводородной кислотой, из мази с водонерастворимой основой – диэтиловым эфиром, затем проводили реэкстракцию хлороводородной кислотой. Идентификацию анестезина проводили по образованию оранжево-красного осадка при реакции диазотированного анестезина 2-нафтолом в щелочной среде. Количественное определение проводили титрованием нитритом натрия (0,1 моль/дм³) с потенциометрической индикацией точки эквивалентности. Параллельно проводили анализ мази, не содержащей анестезин, и вносили корректировку. Новокаин определяли нитритометрическим титрованием, анестетик идентифицировали по ИК-спектрам.

Результаты определения анестетиков по предложенной и стандартной методикам приведены в таблице 4.7.

Содержание анестетиков в фармацевтических препаратах, установленное разработанным способом, соответствует заявленному производителем. Погрешность определения не превышает 9 %. Способ не требует специально обученного персонала, результаты воспроизводимы и правильны. По сравнению с известной методикой способ более экспрессен (продолжительность определения не превышает 40 мин).

Таблица 4.7 – Экстракционно-хроматографическое определение местных анестетиков в фармацевтических препаратах; n = 3, P = 0,95

Ане-стетик	Фармпрепарат	Производитель	Заяв-лено, мг/г	Предложенный способ			Стандартная методика			F _{рас.}	t _{рас.}
				Найдено, мг/г	S _г , %	Δ, %	Найдено, мг/г	S _г , %	Δ, %		
Лидо-каин	мазь «Ауробин»	ОАО «Гедеон Рихтер»	20,00	18,90 ± 3,30	6,4	3,5	18,20 ± 2,80	5,7	9,0	1,08	0,77
	Крем «ЭМЛА»	ООО «Астра-ЗенекаФармасъ-ютикалз»	25,00	23,10 ± 4,40	7,0	4,8	23,20 ± 3,50	5,6	7,2	1,35	0,08
Ане-стезин	«Гепариновая мазь»	ЗАО «Алтайви-тамины»	40,00	37,70 ± 5,10	5,0	5,3	37,40 ± 5,50	5,4	6,5	1,02	0,20
		ОАО «Нижфарм»		38,90 ± 4,70	4,6	4,3	36,8 ± 6,70	6,7	8,0	1,84	0,65
Ново-каин	Мазь «Меновазан»	ООО «ДКП Фармацевтиче-ская фабрика»	10,00	9,10 ± 1,95	7,9	9,0	9,05 ± 2,30	9,4	9,5	1,25	0,08
Ане-стезин			10,00	9,20 ± 1,92	7,7	8,0	9,30 ± 2,20	8,7	7,0	1,29	0,16

4.3. Экстракционно-потенциометрическое определение местных анестетиков в водных средах

Анестетики в экстракте определяли потенциометрическим титрованием раствором хлороводородной кислоты. Изучено влияние различных дифференцирующих растворителей различных классов и их смесей с инертными компонентами на точность селективного определения новокаина, лидокаина и анестезина. Наибольшая селективность достигнута при применении *n*-пропилового спирта в смеси с гексаном и уксусной ледяной кислотой. Известно, что применение кислотных растворителей при титровании слабых оснований способствует возрастанию силы аминов [183]. Уксусная кислота также характеризуется дополнительным дифференцирующим действием по отношению к местным анестетикам.

Титрование проводили в потенциометрической ячейке с хлоридсеребряным стандартным и индикаторным платиновым электродами. По сравнению с ионоселективным стеклянным при применении платинового электрода установлено более резкое изменение электродного потенциала вблизи точки эквивалентности при титровании растворов анестетиков 0,1 моль/дм³ раствором HCl в *n*-пропиловом спирте [234].

Константы ионизации (K_6) местных анестетиков в дифференцирующих растворителях определяли методом Комаря. Для этого измеряли оптические плотности трех растворов анестетика A_1 , A_2 , A_3 в среде определенного растворителя. Растворы применяли с постоянной концентрацией вещества и различным значением pH_1 , pH_2 , pH_3 . Расчет константы ионизации проводили по формуле (2.15) [235]:

$$K_6 = \frac{(10^{-pH_1} - 10^{-pH_2}) \cdot (A_1 \cdot 10^{-pH_1} - A_3 \cdot 10^{-pH_3}) - (10^{-pH_1} - 10^{-pH_3}) \cdot (A_1 \cdot 10^{-pH_1} - A_2 \cdot 10^{-pH_2})}{(A_1 - A_2) \cdot (10^{-pH_1} - 10^{-pH_3}) - (A_1 \cdot 10^{-pH_1} - A_2 \cdot 10^{-pH_2}) \cdot (10^{-pH_1} - 10^{-pH_3})} \quad (4.10)$$

Для определения местных анестетиков к 5 см³ водной пробы добавляли карбонат калия до насыщения и 1 см³ смеси изопропиловый спирт:этилацетат (0,3:0,7 мол. д.). После достижения межфазового равновесия экстракт отделяли, отбирали 0,5 см³ и добавляли 4,5 см³ смеси *n*-пропилового спирта и гексана в соотношении 1:20 с добавлением ледяной уксусной кислоты до pH 4,5 и помещали систему в ячейку для титрования. После каждого добавления 0,05 – 0,1 см³ порции титранта

выдерживали 10 – 30 сек для стабилизации сигнала и отмечали показания потенциометра. Титровали до установления практически постоянной ЭДС. Первый скачок на кривой титрования соответствовал лидокаину ($pK_s = 12,37$), второй – анестезину ($pK_s = 9,22$), третий – новокаину ($pK_s = 7,48$), рисунок 4.6 [234].

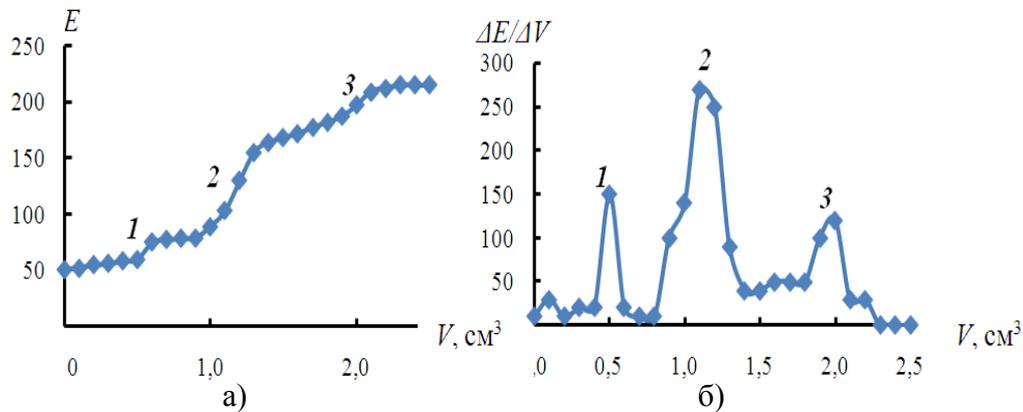


Рисунок 4.6 – Интегральная (а) и Дифференциальная (б) кривые титрования лидокаина (1), анестезина (2) и новокаина (3)

Содержание анестетиков в экстракте (Q , г) рассчитывали по формуле (4.11):

$$Q = K \cdot 0,1 \cdot V \cdot M \cdot 10, \quad (4.11)$$

где K – коэффициент, учитывающий потери анестетика при экстракции (1,01 – анестезин и новокаин; 1,04 – лидокаин); 0,1 – концентрация титранта, моль/ dm^3 ; V – объем титранта, затраченный на титрование, dm^3 ; M – молярная масса анестетика, г/моль; 10 – кратность разбавления экстракта растворителем.

Результаты определения анестетиков приведены в таблице 4.8.

Таблица 4.8 – Экстракционно-потенциометрическое определение местных анестетиков в водных средах методом «введено – найдено»; $n = 3$, $P = 0,95$

Анестетик	Введено, $мкг/см^3$	Найдено, $мкг/см^3$	S_r , %	Δ , %	$F_{рас.}$	$t_{рас.}$
Новокаин	50,00	$47,50 \pm 10,1$	7,8	5,0	2,57	0,03
	25,00	$22,9 \pm 4,8$	7,7	8,4	1,27	0,18
	10,00	$9,46 \pm 2,40$	9,8	10,0	1,91	0,43
Лидокаин	50,00	$46,2 \pm 10,4$	8,3	7,6	2,38	0,80
	25,00	$23,1 \pm 5,4$	8,6	7,6	1,60	0,22
	10,00	$9,40 \pm 2,60$	10,2	6,0	1,50	0,18
Анестезин	50,00	$46,60 \pm 10,6$	8,4	6,8	2,40	0,69
	25,00	$22,8 \pm 5,9$	9,5	8,8	1,43	0,52
	10,00	$9,10 \pm 2,30$	9,3	9,0	1,19	0,28

Методика не требует дорогостоящего оборудования, легковыполнима, экс-

прессна. Погрешность определения не превышает 10 %. Экстракционно-хроматографическая (таблица 4.5) и экстракционно-потенциометрическая методики воспроизводимы, характеризуются одинаковой точностью, расхождения между результатами определения незначимы.

4.4. Определение местных анестетиков в биожидкостях и материале

4.4.1. Разработка способов определения местных анестетиков в биологических жидкостях и материале

Для разработки способов определения местных анестетиков в биообъектах готовили модельные смеси растворов анестетиков с плазмой крови, уриной или с измельченной печенью. После смешивания биомассы со стандартным раствором анестетика смесь выдерживали 1,5 часа при 18-22 °С.

Из полученных биопрепаратов анестетики изолировали водно-солевыми растворами и органическими растворителями [236].

Установлено, что при однократном настаивании диметилкетон обеспечивает наибольшее изолирование новокаина и анестезина из биообъектов; для лидокаина эффективен этилацетат (таблица 4.9).

Таблица 4.9 – Степень однократного изолирования (R' , %) местных анестетиков из плазмы крови; $f^* = 1:1$, $\tau = 5$ мин

Растворитель	Новокаин	Анестезин	Лидокаин
	R' , %		
Диметилкетон	62	67	68
Этилацетат	42	65	74
Ацетонитрил	60	58	65
Н-пропиловый спирт	45	56	36
Изопропиловый спирт	55	52	47
Гексан	48	46	40
Раствор $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 38 мас. %	35	60	51

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

Для выбора условий изолирования местных анестетиков из биожидкости растворителями в зависимости от продолжительности их контакта, а также от

объемного соотношения растворителя и биожидкости применяли методы планирования эксперимента. Математическое описание изолирования получали эмпирически.

Для построения математических моделей изолирования анестетиков применяли композиционные равномер-ротатабельные планы второго порядка 2^2 [230].

Математическая модель изолирования представляет полином второй степени:

$$y = b_0 + b_1 \cdot X_1 + b_2 \cdot X_2 + b_{12} \cdot X_1 \cdot X_2 + b_{11} \cdot X_1^2 + b_{22} \cdot X_2^2, \quad (4.12)$$

где b_0 – свободный член уравнения, равный средней величине отклика на «нулевых» уровнях факторов; X_1, X_2 – масштабированные значения факторов, определяющие функцию отклика; b_1 и b_2 – коэффициенты при линейных членах уравнения; b_{12} – коэффициент двухфакторных взаимодействий, характеризующий изменение одного фактора при изменении другого; b_{11}, b_{22} – коэффициенты квадратичных эффектов, определяющие нелинейность выходного параметра от влияющих факторов.

В качестве основных факторов, влияющих на изолирование анестетиков изучены: x_1 – соотношение объемов биожидкости и растворителя (f^*); x_2 – продолжительность настаивания (τ , мин). Эти факторы совместимы, некоррелируемы между собой, пределы изменения приведены в таблице 4.10.

Таблица 4.10 – Пределы изменения основных факторов

Условия планирования	Пределы изменения факторов	
	x_1	x_2
Основной уровень	2,00	10,00
Интервал варьирования	1,00	5,00
Верхний уровень	3,00	15,00
Нижний уровень	1,00	5,00
Верхняя «звездная точка»	3,41	17,07
Нижняя «звездная точка»	0,59	2,93

Критерием оценки эффективности извлечения (y) принята степень изолирования (R' , %) анестетиков из биообъекта. Матрица планирования представлена в таблице 4.11.

В результате статистической обработки экспериментальных данных получены уравнения регрессии, описывающие процесс изолирования местных анестетиков с учетом влияния оптимизируемых факторов.

Таблица 4.11 – Матрица планирования эксперимента

Номер эксперимента	Кодированные значения факторов	
	X_1	X_2
1	–	–
2	–	+
3	+	–
4	+	+
5	-1,414	0
6	1,414	0
7	0	-1,414
8	0	1,414
9 – 13	0	0

Приводим уравнения регрессии для изолирования анестезина (4.13), новокаина (4.14) и лидокаина (4.15) диметилкетонном из биожидкости:

$$y = 95,20 + 10,53 \cdot X_1 + 6,24 \cdot X_2 - 4,60 \cdot X_1 \cdot X_2 - 7,14 X_1^2 - 4,39 \cdot X_2^2, \quad (4.13)$$

$$y = 93,00 + 14,97 \cdot X_1 + 6,45 \cdot X_2 - 4,75 \cdot X_1 \cdot X_2 - 8,00 \cdot X_1^2 - 8,75 \cdot X_2^2, \quad (4.14)$$

$$y = 94,68 + 6,55 \cdot X_1 + 6,21 \cdot X_2 - 4,00 \cdot X_1 \cdot X_2 - 6,09 \cdot X_1^2 - 4,09 \cdot X_2^2 \quad (4.15)$$

Проверку однородности дисперсий, значимости коэффициентов уравнений регрессии и адекватности уравнений осуществляли как в разделе 4.2. В результате статистической обработки экспериментальных данных получены уравнения регрессии 4.13 – 4.15, в которых коэффициенты b_0 , b_1 , b_2 , b_{12} , b_{11} и b_{22} по абсолютной величине больше соответствующих доверительных интервалов, что свидетельствует о том, что все они являются статистическими значимыми. Уравнения адекватно описывают изолирование местных анестетиков ($F_{\text{рас.}} < F_{\text{табл.}}$, $F_{\text{табл.}}(0,95:3:3) = 9,28$), таблица 4.12.

Таблица 4.12 – Доверительные интервалы коэффициентов b_1 , b_2 , b_{12} , b_{11} и b_{22} в уравнениях регрессий 4.13-4.15 и расчетные значения критерия Фишера [$F_{\text{расч}}(0,95;3:3)$]

Уравнение	Δb_0	$\Delta b_1 = \Delta b_2$	Δb_{12}	$\Delta b_{11} = \Delta b_{22}$	$F_{\text{расч.}}$
4.13	4,04	3,20	4,52	3,43	9,09
4.14	3,32	2,63	3,71	2,82	3,13
4.15	4,33	3,42	4,84	3,68	3,94

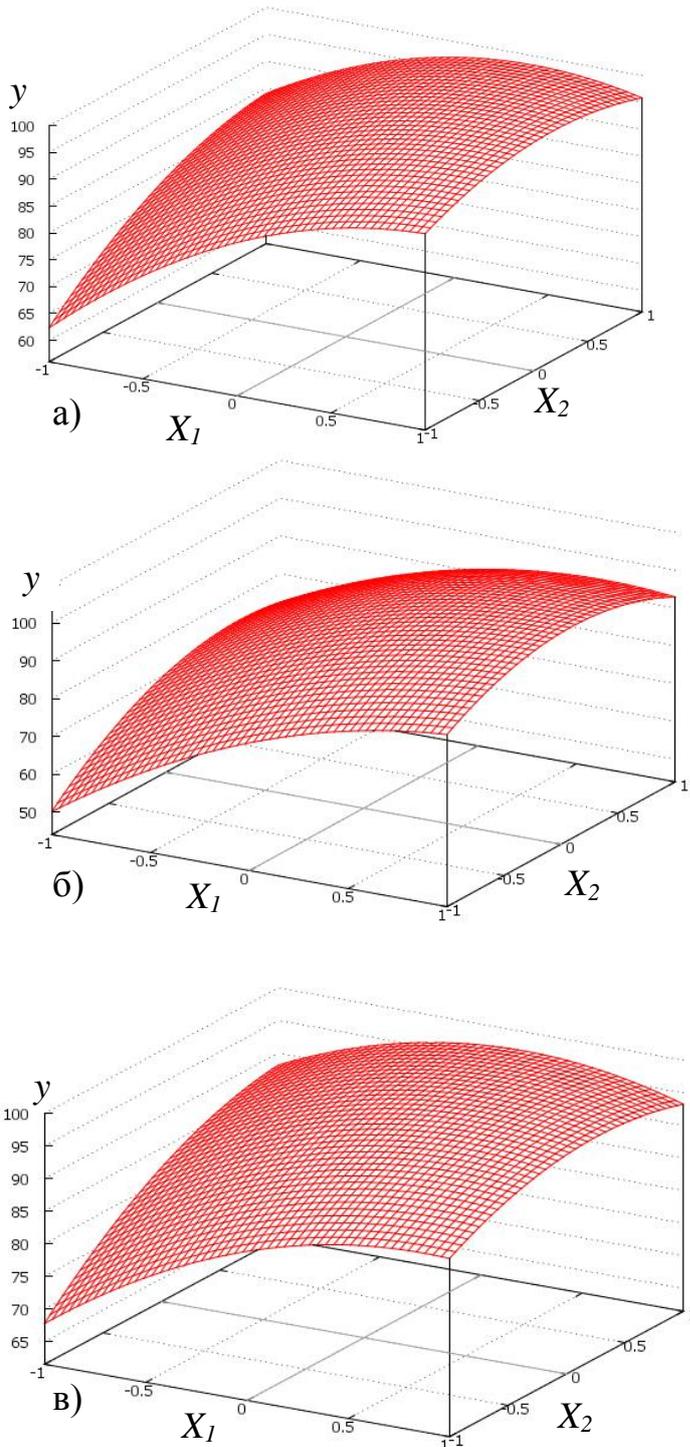


Рисунок 4.7 – Поверхности, описываемые уравнением регрессии: а) 4.12, б) 4.13, и в) 4.14

Математические моде-

ли позволяют прогнозировать степени изолирования местных анестетиков из биообъектов внутри изученных интервалов варьирования факторов.

Оптимальные условия изолирования вычисляли методом неопределенных множителей Лагранжа [230]. Полученные уравнения регрессий (4.12-4.14) описывают поверхности в многомерном пространстве, приводим их графическую интерпретацию (рисунок 4.7).

Координаты центра поверхности X_{IS} находили, решая системы уравнений, полученные при дифференцировании соответствующего уравнения регрессии по X_1 , X_2 , производные приравнивали к нулю. Зная координаты

центра X_{IS} , по исходному уравнению устанавливали параметры оптимизации. Переходили от кодированных значений к натуральным, получая оптимальные значения параметров: соотношение объемов растворителя и биологической жидкости при изолировании новокаина, анестезина и лидокаина составляют соответственно 2,9, 2,6 и 2,3, продолжительность настаивания 10,6, 11,9 и 12,9. В этих условиях изолирование новокаина и анестезина из плазмы крови составляет 100 %, лидокаина – 98 %.

Максимальные расхождения между вычисленными и экспериментально установленными степенями изолирования анестетиков не превышают 6 %.

Для наиболее эффективного изолирования анестетиков из биологического материала, где присутствует большое количество эндогенных и экзогенных веществ, кратность настаивания повторяли. Полное изолирование новокаина, лидокаина и анестезина из печени установлено при трехкратном настаивании при периодическом перемешивании по 45 минут при соотношении объемов растворителя и биоматериала 2:1.

Для концентрирования местных анестетиков из извлечений из биологического материала/жидкости применена жидкостная экстракция.

Применение высаливателей и гидрофильных растворителей способствует также дополнительному освобождению извлечений от соэкстрактивных веществ, в частности отделению белков [85, 201].

4.4.2. Способ определения новокаина в плазме крови

К 5 см³ плазмы крови, содержащей новокаин (0,02-0,50 мг/см³), прибавляли 15 см³ диметилкетона и выдерживали в течение 10 минут при периодическом перемешивании. Смесь фильтровали через бумажный фильтр. Фильтр промывали 10 см³ диметилкетона. Объединенный фильтрат упаривали до 3-4 см³ в токе воздуха при комнатной температуре.

Раствор, оставшийся после выпаривания, разбавляли водой до 10 см³. Добавляли сульфат аммония до насыщения, аммонийный буферный раствор до рН = 8,5-10 и, в качестве экстрагента, 30 % раствор камфоры в этилацетате (соот-

ношение объемов водно-солевой и органической фаз 10:2). Экстрагировали 10 мин до установления межфазного равновесия. Экстракт отделяли, экстракцию повторяли. Концентраты объединяли [236].

Объединенный экстракт ($0,2 \text{ см}^3$ - $1,0 \text{ см}^3$) упаривали до сухого остатка в токе воздуха при комнатной температуре. Остаток растворяли в минимальном объеме этилового спирта и хроматографировали в тонком слое (пластины «Сорбфил») в присутствии веществ-свидетелей (новокаин, камфора). В качестве подвижной фазы применяли смесь дихлорметан:этиловый спирт (1:1). Хроматограмму проявляли в УФ-свете. Разделяемые соединения идентифицировали по коэффициентам смещения ($R_{f \text{ новокаина}} = 0,48 \pm 0,03$; $R_{f \text{ камфоры}} = 0,85 \pm 0,02$).

После идентификации участок хроматограммы с пятном анестетика вырезали, помещали в пробирку с пришлифованной пробкой, добавляли 5 см^3 растворителя и перемешивали 15 мин. Содержание новокаина устанавливали спектрофотометрически и методом ВЭЖХ [236].

При спектрофотометрическом определении новокаин из тонкого слоя сорбента извлекали этиловым спиртом, измеряли оптическую плотность полученного раствора при 298 нм и по градуировочному графику (таблица 4.2), рассчитывали содержание новокаина.

При определении методом ВЭЖХ новокаин извлекали смесью ацетонитрил:метиловый спирт: $0,025 \text{ моль/дм}^3$ раствор KH_2PO_4 (рН 3,0 создавали добавлением H_3PO_4) в соотношении 10:10:90. Полученный раствор ($2 \cdot 10^{-3}$ - $1,6 \cdot 10^{-2} \text{ см}^3$) вводили в хроматограф. Хроматографирование проводили при $20 \text{ }^\circ\text{C}$ в потоке подвижной фазы (ацетонитрил:метиловый спирт: $0,025 \text{ моль/дм}^3$ раствор KH_2PO_4 , рН=3,0). Новокаин идентифицировали по времени удерживания 5,73 мин (рисунок 10 в приложении Д), коэффициент емкости колонки $k' = 2,95$; число теоретических тарелок $N = 836$. Относительное стандартное отклонение времен удерживания находилось в пределах воспроизводимости ($S_r \leq 0,02$, $n = 10$). Количественное содержание новокаина (мг/см^3) определяли при 298 нм по уравнению градуировочного графика $y = 2959,9 \cdot x + 0,1992$; $R^2 = 0,9990$. Минимально определяемое содержание новокаина в хроматографируемой пробе составило $0,02 \text{ мкг}$ [236].

Результаты количественного определения новокаина в плазме крови человека представлены в таблице 4.13.

Таблица 4.13 – 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/см ³	S _r , %	Δ, %	Найдено, мг/см ³	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

Увеличение содержания новокаина в модельных смесях в интервале концентраций 0,1-2,5 мг при постоянном объёме биожидкости (5 см³) сопровождалось изменением среднего значения степени изолирования не более на 0,2 %, т.е. диметилкетон разрушает лабильные связи новокаина с веществами биологической матрицы [236].

Способ позволяет определить в плазме крови до 91 % новокаина. Минимальная определяемая концентрация на уровне 0,25 мкг/см³. Погрешность определения не превышает 15 %.

4.4.3. Определение лидокаина в урине

Водный раствор лидокаина (0,5 см³) с концентрацией (0,1-2,5 мг/см³) вводили в 4,5 см³ урины. К 5 см³ жидкости прибавляли 10 см³ этилацетата и выдерживали при периодическом перемешивании 10 мин. Далее смесь фильтровали, осадок промывали этилацетатом. Фильтрат упаривали до 3-4 см³ при комнатной температуре в токе воздуха, разбавляли дистиллированной водой до 10 см³, добавляли карбонат калия до получения насыщенного водно-солевого раствора и раствор диметилфталата в пропиловом спирте (1:5). Соотношение объемов водно-солевой и органической фаз 10:2. Экстрагировали 10 мин, раствор оставляли для расслаивания системы. Экстракт отделяли. Экстракцию повторяли. Экстракты объединя-

ли и анализировали спектрофотометрически и методом газо-жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектором.

При спектрофотометрическом определении лидокаина в концентрате измерение оптической плотности проводили при $\lambda_{\max} = 289$ нм. Градуировочный график линеен в интервале 5 – 50 мкг/см³ ($A = 6,625 \cdot c$; $R^2 = 0,9990$).

Для хроматографирования 0,2 см³ раствора упаривали до сухого остатка, растворяли его в 10 см³ метилового спирта. Отбирали 1,0 см³ полученного раствора, переносили в мерную колбу вместимостью 25 см³, разбавляли метиловым спиртом до метки. Полученный раствор ($4 \cdot 10^{-3}$ см³) вводили в испаритель хроматографа.

Перед определением хроматограф готовили к работе. В течение 1 мин температуру термостата колонки поддерживали на уровне 80 °С, затем температуру повышали до 200 °С со скоростью 40 °С и далее до 300 °С со скоростью 12,5 °С в минуту и выдерживали при 300 °С не менее 16 минут. Температуру инжектора поддерживали на уровне 200 °С, температура квадруполя 150 °С, интерфейса детектора – 300 °С. Пик на хроматограмме с временем удерживания 7,79 мин соответствует лидокаину. В масс-спектре соединения, полученному по полному ионному току, обнаруживаются сигналы характеристических заряженных частиц с массовыми числами 42, 50, 58, 77, 86, 91, 104, 120, 163, 234. Наибольшая интенсивность соответствует частице с массовым числом 86, интенсивность которой принимается за 100 %, рисунки 11 и 12 в приложении Д.

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 приведены в таблице 4.14.

Таблица 4.14 – Определение лидокаина в урине методом «введено – найдено»; 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 урине 95 % лидокаина. Минимально определяемая концентрация на уровне 0,3 мкг/см³. Погрешность определения не превышает 10 %.

4.4.4. Определение анестезина в ткани печени

Извлечение анестезина (содержание в биообъекте 0,01-0,25 мг/г) из измельченной ткани печени (5 г) проводили трехкратно по 10 см³ диметилкетона при перемешивании по 45 мин. Извлечения отделяли от взвешенных частиц фильтрованием. Фильтрат объединяли упаривали в токе воздуха при 20 °С до удаления растворителя. Остаток растворяли в 10 см³ диэтилового эфира, добавляли 20 см³ гексана. После перемешивания смеси анестетик экстрагировали дважды по 10 см³ 0,1 моль/дм³ раствором HCl. Экстракты отделяли, объединяли, нейтрализовали раствором аммиака, насыщали карбонатом калия. Анестезин двукратно экстрагировали по 5 см³ раствора дифенила в пропиловом спирте (5 мас. %). Отбирали 0,2 см³-1,0 см³ объединённого экстракта и упаривали до сухого остатка. Остаток растворяли в минимальном объёме бензола и количественно переносили на линию старта хроматографической пластины «Сорбфил». Хроматографировали в присутствии веществ-свидетелей (анестезин и дифенил). В качестве подвижной фазы применяли бензол. Для анестезина R_f = 0,18, для дифенила R_f = 0,33 [237, 238].

Участок хроматограммы с пятном анестезина вырезали, помещали в пробирку и 15 мин десорбировали 5 см³ смеси изопропиловый спирт:этилацетат

(0,3:0,7 мол. д.). Полученный раствор фотометрировали при $\lambda_{\max} = 289$ нм или анализировали методом газо-жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектором [236].

Анализ методом газо-жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием проводили как при определении лидокаина. Пик на хроматограмме с временем удерживания 6,07 мин соответствует анестезину. В масс-спектре соединения, полученному по полному ионному току, обнаруживаются сигналы характеристических заряженных частиц с массовыми числами 41, 50, 65, 92, 108, 120, 137, 165. Наибольшая интенсивность соответствует частице с массовым числом 120, интенсивность которой принимается за 100 %, рисунки 13 и 14 в приложении Д.

Количественно анестезин определяли по уравнению градуировочного графика: $S = (3,27 \cdot C + 0,99) \cdot 10^4$, где S – площадь хроматографического пика; C – содержание анестезина в хроматографируемой пробе, нг. График линеен в интервале концентраций $1,0 \cdot 10^{-7} - 1,6 \cdot 10^{-6}$ г.

Результаты количественного определения анестезина в ткани печени представлены в таблице 4.15.

Таблица 4.15 – Результаты определения анестезина в ткани печени (n=3; P=0,95)

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

Разработанный способ позволяет определить до 91 % анестезина в препарате печени. Чувствительность определения составляет 0,5 мкг/г. Погрешность определения не превышает 20 %.

Разработанные методики определения местных анестетиков воспроизводимы, легко выполнимы и могут быть рекомендованы при проведении судебно-медицинской экспертизы.

4.5. Определение новокаина в молоке

Молоко – пищевой продукт, также имеющий многокомпонентную матрицу. Оно содержит жиры и белки, с которыми могут связываться анестетики. Прямая экстракция изучаемых соединений из молока растворителями невозможна вследствие образования стойких эмульсий.

Способ 1.

К 5 см³ молока, содержащего новокаин, добавляли 20 см³ дистиллированной воды и 8 г кристаллического сульфата аммония для осаждения белков, выдерживали на водяной бане при помешивании до створаживания продукта, затем центрифугировали 10 мин (2500 об/мин), осадок отделяли [239]. Надосадочную жидкость отделяли, для более полного выделения белков и жиров подкисляли 0,1 моль/дм³ раствором HCl, снова термостатировали на водяной бане и центрифугировали. Полученный изолят насыщали карбонатом калия, добавляли смесь изопропиловый спирт:этилацетат (0,3:0,7 мол. д.) из расчета соотношения объемов изолята и экстрагента 10:2 и экстрагировали 10 мин. Экстракцию проводили дважды. Концентраты объединяли и спектрофотометрировали при 290 нм [240].

Способ 2.

К 5 см³ молока, содержащего новокаин, дважды прибавляли по 15 см³ ацетонитрила и выдерживали по 10 минут при периодическом перемешивании. Смеси фильтровали через бумажный фильтр, объединяли, фильтр промывали 10 см³ ацетонитрила. Объединенный фильтрат упаривали в токе воздуха при комнатной температуре до удаления ацетонитрила (до объема 3-4 см³).

Раствор, оставшийся после выпаривания объединенного фильтрата, разбавляли водой до 10 см³. Добавляли карбонат калия до насыщения. Экстрагировали 10 мин 30 % раствор камфоры в пропиловом спирте, в соотношении объемов водно-солевой и органической фаз 10:2. Экстракцию проводили дважды. Концентраты объединяли. Экстракт (0,02 см³) хроматографировали в тонком слое

(«Сорбфил») в присутствии вещества-свидетеля (новокаин). Подвижная фаза – смесь дихлорметан:этиловый спирт (1:1). Хроматограмму проявляли реактивом Драгендорфа. Далее анализ выполняли как в разделе 4.2.2. Содержание новокаина в концентрате устанавливали по градуировочному графику (раздел 4.2.2). Результаты количественного определения новокаина в молоке приведены в таблице 4.16.

Таблица 4.16 – Определение новокаина в молоке методом «введено – найдено» (введено 0,2 мг/см³ новокаина); n = 3, P = 0,95

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

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 по разработанным способам не превышает 15 % по первому способу и 9 % по второму. Методики легко выполнимы. Расхождения между результатами, полученными при применении разных вариантов методик незначимы, так как $t_{рас.} < t_{табл.}$, $t_{табл.} (0,95;4) = 2,78$. В связи с тем, что $F_{рас.} < F_{табл.}$, $F_{табл.} (0,95;2:3) = 9,55$, расхождения между дисперсиями незначимо, методики приводят к результатам с одинаковой точностью.

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 С-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 %.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. **Byrne, K.** Toxicity of local anaesthetic agents [Text] / K. Byrne, C. Engelbrecht // Trends in Anaesthesia and Critical Care. – 2013. – V. 3, №1. – P. 25-30.
2. **Карпук, И.Ю.** Аллергические реакции на местные анестетики: диагностика и профилактика [Текст] / И.Ю. Карпук // Вестник Витебского государственного медицинского университета. – 2009. – Т. 8, № 3. – С. 61-68.
3. **Лебедев, К.А.** Аллергические реакции на местные анестетики и методы их диагностики [Текст] / К.А. Лебедев, И.Д. Понякина, А.В. Митронин и др. // Стоматология для всех. – 2005. – № 3. – С. 16-22.
4. **Митронин, А.В.** Оптимизация лабораторной диагностики аллергических реакций на местные анестетики [Текст] / А.В. Митронин, К.А. Лебедев // Эндодонтия Today. – 2004. – № 1 – 2. – С. 71-76.
5. **Никоноров, С.И.** Применение анестезирующих веществ в осетроводстве [Текст] / С.И. Никоноров, В.О. Климонов, Т.С. Голованова // Вопросы рыболовства. – 2005. – Т. 6, № 3-23. – С. 575-598.
6. **Воцинина, Н.А.** Химико-токсикологическое исследование производных п-аминобензойной кислоты (анестезина, новокаина, новокаиамида) [Текст]: автореф. дис...канд. фармацевт. наук / Н. А. Воцинина. – Курск. мед. ун-т. – Курск. – 2000. – 20 с.
7. **Рыбин, Е.В.** Влияние димексида на организм лошадей [Электронный ресурс]: http://www.rusnauka.com/28_OINXXI_2010/Veterenaria/72596.doc.htm
8. **Евстигнеева, В.П.** Химико-токсикологический анализ на группу веществ, изолируемых экстракцией и сорбцией. Наркотические и другие одурманивающие средства [Текст] / В.П. Евстигнеева, И.В. Шкутина, Т.А. Брежнева [и др.]. – Воронеж: Вор. гос. ун-т, 2004. – 47 с.
9. Основы аналитической химии. Общие вопросы. Методы разделения. Т.1. [Текст] / Под. ред. Ю.А. Золотова. – М.: Высш. шк., 1999. – 351 с.
10. **Коренман, Я.И.** Экстракция фенолов [Текст] / Я.И. Коренман. – Горький: Волго-Вятск. изд-во, 1973. – 216 с.

11. **Коренман, И.М.** Экстракция в анализе органических веществ [Текст] / И.М. Коренман. – М.: Химия, 1977. – 200 с.
12. **Коренман, И.М.** Экстракция органических веществ [Текст] / И.М. Коренман. – Горький: изд-во Горьк. гос. ун-та, 1973. –160 с.
13. **Садиков, З.К.** Изолирование, обнаружение и определение новокаина и п-аминобензойной кислоты при судебно-химических исследованиях [Текст]: автореф. дис... канд. фарм. наук / З.К. Садиков. – Москва. – 1990. – 22 с.
14. **Мелентьев, А.Б.** Скрининг лекарственных, наркотических веществ и их метаболитов методом газовой хроматографии с масс-селективным детектором [Текст] / А.Б. Мелентьев // Проблемы экспертизы в медицине. – 2002. – Т.2, №4. – С. 15-21.
15. **Kang, S.** Определение лидокаина в моче жидкофазной микроэкстракцией в сочетании с высокоэффективной жидкостной хроматографией [Текст] / S. Kang, H. Wang, M. Ma // FenxiHuaxue. – 2004. – V. 32, № 11. – P. 1467-1470.
16. **Захарова, А.А.** Спектрофотометрический анализ натрия диклофенака и лидокаина гидрохлорида в новой мягкой лекарственной форме «Диклизоль» [Текст] / А.А. Захарова, Т.А. Кобелева, А.И. Сичко // «Казанская наука». – 2010. – № 3. – С. 236-241.
17. **Адамова, Е.М.** Некоторые подходы к экстракционно-фотометрическому определению местноанестезирующих веществ [Текст] / Е.М. Адамова, Р.К. Чернова // Изв. Саратов. Ун-та. Серия: Химия. Биология. Экология. – 2007. – Т. 7, № 1. – С. 7-10.
18. **Абдуллина, С.Г.** Количественное определение новокаина методом гальваностатической кулонометрии [Текст] / С.Г. Абдуллина, И.К. Петрова // 1 Всерос. конф. «Современные методы химико-аналитического контроля фармацевтической продукции», Москва. – 2009. – С. 7-8.
19. **Столяров, Е.Е.** Высокоэффективная газожидкостная хроматография в химико-токсикологическом анализе местноанестезирующих средств [Текст] / Е.Е. Столяров, Р.М. Булатов, Т.Л. Малкова // Матер. рос. научно-практ. конф.

«Достижения и перспективы в области создания новых лекарственных средств», Пермь. – 2007. – С. 217-219.

20. **Беликов, В.Г.** Фармацевтическая химия [Текст] / В.Г.Беликов. – Пятигорск: Пятигорская гос. фарм. акад., 2003. – 713 с.

21. Государственная фармакопея Российской Федерации / Научный центр экспертизы средств медицинского применения, 2008. – 704 с.

22. **Ермилова, Е.В.** Анализ лекарственных средств: учебное пособие [Текст] / Е.В. Ермилова, Т.В. Кадырова, В.В. Дудко. – Томск: СибГМУ, 2010. – 201 с.

23. **Тыжигирова, В.В.** Анализ лекарственных веществ по функциональным группам. Амиды [Текст] / В.В. Тыжигирова. – Иркутск: Ирк. гос. мед. ун-т Росздрава РФ, 2009. – 46 с.

24. **Sakai, T.** Ion association titration for the determination of local anesthetics in pharmaceuticals with tetrabromophenolphthalein ethyl ester as an indicator [Text] / T. Sakai, N. Teshima, Ya. Takatori // Anal. Sci. – 2001. – V. 17, № 9. – P. 1105-1107.

25. **Фесенко, С.А.** Применение водно-мицеллярных растворов ПАВ в титриметрическом анализе [Текст] / С.А. Фесенко, С.А. Куличенко // Всерос. конф. «Актуальные проблемы аналитической химии», Москва. – 2002. – С. 46-47.

26. **Минаева, Н.Н.** Изучение состава ионных ассоциатов некоторых лекарственных препаратов методом инфракрасной спектроскопии [Текст] / Н.Н. Минаева, Л.П. Павлюченкова // Дальневост. мед. журн. – 2000. – № 4. – С. 51-53.

27. **Беккер, Ю.** Спектроскопия [Текст] / Ю. Беккер. - :Техносфера, 2009. – 528 с.

28. **Блинникова, А.А.** Спектрофотометрия и фотоэлектроколориметрия в анализе лекарственных средств [Текст] / А.А. Блинникова. – Томск: Сибир. гос. мед. ун-т, 2005. – 96 с.

29. **Курешева, А.С.** Физико-химические методы в анализе фармацевтических препаратов [Текст] / А.С. Курешева, М.И. Базанов, В.Е. Калинина // Современ. пробл. теор. и эксперим. химии. – 1999. – С. 131.

30. **Qin, Zong-hui.** Спектрофотометрический метод определения хлоргидрата лидокаина с эозин-метиленовым синим [Текст] / Zong-hui Qin, Li-jun Pu, Rong Tan // Jiangxi shifan daxue хуебао. Ziran kexue ban. – 2007. – V. 31, № 3. – P. 275-277.

31. **Адамова, Е.М.** Изучение хромофорных органических реагентов для экстракционно-фотометрического определения лидокаина [Текст] / Е.М. Адамова, Р.К. Чернова // Рос. молод. науч. конф. «Проблемы теоретической и экспериментальной химии», Екатеринбург. – 2007. – С. 52-53.

32. **Nemcova, I.** Extraction spectrophotometric determination of lidocaine using flow injection analysis [Text] / I. Nemcova, P. Rychlovsky, V. Toankova // Anal. Lett. – 2001. – V. 34, № 14. – P. 2457-2464.

33. **Адамова, Е.М.** Сорбционно-оптическое и цветометрическое определение лидокаина бромтимоловым синим [Текст] / Е.М. Адамова, В.М. Иванов, В.Н. Фигуровская // Матер. III Всеросс. Симпозиума «Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии», Краснодар. – 2011. – С. 218-219.

34. **Рудакова, Л.В.** Цветометрический способ количественного определения лекарственных веществ в растворе с использованием цифровых технологий [Текст] / Л.В. Рудакова, Г.И. Шведов, Е.Н. Ветрова [и др.] // Журнал «Естественные и технические науки» и изд-во «Спутник+», Мат. II Междунар. конф. «Современная медицина и фармацевтика: анализ и перспективы развития». – Москва, 2012. – С.153-156.

35. **Сараева, О.А.** Селективный метод определения лидокаина гидрохлорида [Текст] / О.А. Сараева, Д.Ф. Нохрин // Фармация. – 2006. – № 4. – С. 13-15.

36. **Сараева, О.А.** Селективный метод количественного определения лидокаина гидрохлорида в ампулах 2% - 10 мл [Текст] / О.А. Сараева, Т.П. Чурина, Д.Ф. Нохрин // Матер. межрег. научно-практ. конф. УрФО «Фармацевтическое образование и наука – практической фармации», Тюмень. – 2004. – С. 48-49.

37. **Нохрин, Д.Ф.** Селективный метод количественного определения лидокаина гидрохлорида и дефингидрамина гидрохлорида [Текст] / Д.Ф. Нохрин, Л.С.

Калмакова, О.А.Сараева [и др.] // 7 Конф. «Аналитика Сибири и Дальнего Востока – 2004», Новосибирск. – 2004. – С. 250.

38. Пат. **2293985 РФ** Способ количественного определения лидокаина гидрохлорида [Текст] / Нохрин Д.Ф.; № 2004132640/15; заявл. 27.04.06; опубл. 20.02.07.

39. **Нохрин, Д.Ф.** Применение салицилатного комплекса меди (2+) для количественного определения некоторых органических оснований в присутствии продуктов их разложения [Текст] / Д.Ф. Нохрин, Е.Ю. Жарская // VI Конф. «Аналитика Сибири и Дальнего Востока- 2000», Новосибирск. – 2000. – С. 386.

40. **Власенко, Е.Л.** Метод количественного анализа лидокаина гидрохлорида в некоторых лекарственных формах зарубежных производителей [Текст] / Е.Л. Власенко // 42 Всерос. конф. с междунар. участием молодых ученых «Актуальные проблемы теоретической, экспериментальной, клинической медицины и фармации», Тюмень. – 2008. – С. 33-34.

41. **Крамаренко, В.Ф.** Токсикологическая химия [Текст] / В.Ф. Крамаренко. – К.: Выща шк. Головное изд-во, 1989. – 447 с.

42. **Беликов, В.Г.** Анализ лекарственных веществ фотометрическими методами. Опыт работы отечественных специалистов [Текст] / В.Г. Беликов // Рос. хим. ж. (Ж. рос. хим. об-ва им. Д.И. Менделеева). – 2002. – Т. XLVI, № 4. – С. 52-56.

43. **Денисова, М.Н.** Спектрофотометрическое определение новокаина в магнитных ректальных суппозиториях [Текст] / М.Н. Денисова, О.Г. Черкасова, Ю.Я. Харитонов // Фармация. – 1996. – Т. 45, №3. – С. 22-28.

44. **Donmez, O.A.** Spectrophotometric multicomponent analysis of a mixture of chlorhexidine hydrochloride and lidocaine hydrochloride in pharmaceutical formulation using derivative spectrophotometry and partial least-squares multivariate calibration [Текст] / O.A. Donmez, A. Vozdogan, G. Kunt // Ж. аналит. химии. – 2010. – Т. 65, № 1. – С. 33-38.

45. **Medenica, M.** Simultaneous determination of compounds in septalen pellets by derivative spectrophotometry [Text] / M. Medenica, D. Ivanovic, A. Malenovic // J. Serb. Chem. Soc. – 2000. – V. 65, № 5-6. – P. 339-344.

46. **Medenica, M.** Second-derivative spectrophotometric analysis of lidocaine and hydrocortisone acetate in suppositories [Text] / M. Medenica, D. Ivanovic, S. Markovic // Pharm.Ind. – 2004. – V. 66, № 3. – P. 330-333.

47. **Саушкина, А.С.** Совершенствование количественного анализа препарата «Олазол» [Текст] / А.С. Саушкина, В.А. Карпенко // Хим.-фарм. ж. – 2005. – Т. 39, № 11. – С. 54-56.

48. **Carretero, A.** Fluorimetric determination of procaine in pharmaceutical preparations based on its reaction with fluorescamine [Text] / A. Carretero, C. Blanco, S. Peinado // Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. – 1999. – V. 21, № 5. – P. 969-974.

49. **Илларионова, Е.А.** Флуориметрия. Теоретические основы метода. Практическое применение метода. [Текст] / Е.А.Илларионова, И.П. Сыроватский. – Иркутск: Иркутск. гос. мед. ун-т, 2011. – 63 с.

50. **Mondal, M.** Photophysical study of local anesthetics in reverse micelles and water-ethanol mixtures [Text] / Mousumi Mondal, Abhijit Chakrabarti, Soumen Basak // J. Fluorescence. – 2003. – V. 13, № 4. – P. 307-314.

51. **Sun, Han-wen.** Применение капиллярного электрофореза для определения лидокаина электрохемилюминесцентным методом с использованием трис(2,2-бипиридил)рутения 2+ [Текст] / Han-wen Sun, Hai-fang Wen, M. Su // Hebeidaхueх-uebao. Zirankeхueban. – 2010. – V. 30, № 3 – P. 652-656.

52. **Евгеньев, М.И.** Избирательные проточно-инжекционные определения производных 4-аминобензойной и 4-аминосалициловой кислот в смесях [Текст] / М.И. Евгеньев, С.Ю. Гармонов, Л.Ш. Шакирова // Ж. аналит. химии. – 2000. – Т. 55, № 7. – С. 775-782.

53. **Montero, R.** Indirect atomic absorption spectrometric determination of local anaesthetics in pharmaceutical preparations with a flow-injection precipitation tech-

nique [Text] / R. Montero, M. Gallego, M. Valcarcel // *Analytica Chimica Acta*. – 1988. – V. 215. – P. 241-248.

54. **Noonan, K.Y.** Qualitative and quantitative analysis of illicit drug mixtures on paper currency using Raman microspectroscopy [Text] / K. Y. Noonan, M. Beshire, Ja. Darnell // *Appl. Spectrosc.* – 2005. – V. 59, № 12. – P. 1493-1497.

55. **Карташов, В.С.** Идентификация местно-анестезирующих лекарственных средств методом спектроскопии ЯМР [Текст] / В.С. Карташов // *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. – 2007. – № 2. – С. 18-19.

56. **Giahi, M.** A new lidocaine-selective membrane electrode based on its sulfathiazole ion-pair [Text] / M. Giahi, M. Pournaghdy, R. Rakhshae // *Ж. аналит. химии*. – 2009. – Т. 64, № 2, – С. 210-215.

57. **Koronevich, O.S.** Ion-selective electrodes reversible to physiologically active amine cations: the main ways for controlling potentiometric selectivity [Text] / O.S. Koronevich, A.A. Bolotin, V.V. Egorov // *International Conf. «Analytical Chemistry and Chemical Analysis (AC&CA-05)»*, Kyiv. – 2005. – С. 320.

58. **Шабарин, А.А.** Проточно-инжекционное ионометрическое определение некоторых физиологически активных аминов [Текст] / А.А. Шабарин, Ю.И. Русяева, О.П. Лазарева // *Изв. вузов. Химия и хим. технология* – 2003. – Т. 46, № 8. – С. 141-143.

59. **Бобрешова, О.В.** ПД-сенсор для определения новокаина, лидокаина в водных растворах и лекарственных формах [Текст] / О.В. Бобрешова, К.А. Полуместная, А.В. Паршина [и др.] // *Завод. лаб. Диагностика материалов*. – 2012. – Т. 78, №4. – С. 22-25.

60. **Варыгина, О.В.** Некоторые физико-химические и аналитические характеристики ионселективного электрода на новокаин [Электронный ресурс]: <http://elib.sfu-kras.ru/handle/2311/9123>

61. **Барина, О.В.** Ионометрическое определение физиологически активных аминов [Текст] / О.В. Барина, Е.Г. Кулапина // *Всерос. конф. с междунар. участием «Электроаналитика-2005»*, Екатеринбург. – 2005. – С. 68.

62. **Бобрешова, О.В.** Потенциометрические сенсоры нового типа на основе перфторированных сульфокатионитовых мембран для количественного анализа многокомпонентных водных сред [Текст] / О.В. Бобрешова, А.В. Паршина, К.А. Полуместная [и др.] // Мембраны и мембранные технологии. – 2011. – Т.1, №1. – С. 27-36.

63. **Харитонов, С.В.** Ионоселективные электроды для определения азотсодержащих лекарственных соединений [Текст] / С.В. Харитонов, И.П. Горелов // Всерос. конф. «Химический анализ веществ и материалов», Москва. – 2000. – С. 57.

64. **Баринаова, О.В.** Ионоселективные электроды для определения азотсодержащих лекарственных веществ [Текст] / О.В. Баринаова, Е.Г. Кулапина // Матер. V Всерос. конф. «Электрохимические методы анализа. ЭМА – 99», Москва. – 1999. – С. 9-10.

65. **Кулапина, Е.Г.** Ионселективные электроды для определения азотсодержащих лекарственных веществ [Текст] / Е.Г. Кулапина, О.В. Баринаова // Ж. аналит. химии. – 2001. – Т. 56, № 5. – С. 518-522.

66. **Кулапина, Е.Г.** Сравнительные характеристики электрохимических свойств различных типов ИСЭ, чувствительных к физиологически активным аминам [Текст] / Е.Г. Кулапина, О.В. Баринаова // Проблемы аналитической химии: Мустафин. чтения, Саратов. – 1999. – С. 75-76.

67. **Баринаова, О.В.** Селективные электроды для определения лекарственных веществ [Текст] / О.В. Баринаова, Е.Г. Кулапина // Всерос. конф. «Современные проблемы теоретической и экспериментальной химии», Саратов. – 1997. – С. 208-209.

68. **Koronevich, O.S.** Ion-selective electrodes reversible to physiologically active amine cations: the main ways for controlling potentiometric selectivity [Text] / O.S. Koronevich, A.A. Bolotin, V.V. Egorov // Intern. Conf. «Analytical Chemistry and Chemical Analysis (AC&CA-05)», Kyiv. – 2005. – С. 320.

69. **Полуместная, К.А.** Определение местных анестетиков в сточных водах стоматологических клиник с использованием потенциометрической мультисен-

сорной системы [Текст] / К.А. Полуместная, О.В. Бобрешова, К.Ю. Янкина // Матер. 4-ой Всерос. с междунар. участием научно-метод. конф. «Фармобразование 2010», Воронеж. – 2010. – Часть 1. – С. 315-317.

70. **Полуместная, К.А.** Количественное определение местных анестетиков при совместном присутствии с неорганическими солями с помощью потенциометрической мультисенсорной системы [Текст] / К.А. Полуместная, А.В. Паршина, О.В. Бобрешова [и др.] // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2010. – Т. 10, № 4. – С. 643-644.

71. **Полуместная, К.А.** Потенциометрическая мультисенсорная система для количественного определения местных анестетиков [Текст] / К.А. Полуместная, А.В. Паршина, О.В. Бобрешова // Матер. 4-ой Всерос. с междунар. участием научно-метод. конф. «Фармобразование 2010», Воронеж. – 2010. – Часть 2. – С. 312-314.

72. **Бобрешова, О.В.** Определение аминокислот, витаминов и лекарственных веществ в водных растворах с использованием новых потенциометрических сенсоров, аналитическим сигналом которых является потенциал Доннана [Текст] / О.В. Бобрешова, А.В. Паршина, М.В. Агупова [и др.] // Электрохимия. – 2010. – Т. 46, № 11. – С. 1338-1349.

73. **Бурахта, В.А.** Применение полупроводниковых сенсоров для контроля качества лекарственных препаратов [Текст] / В.А. Бурахта, Л.И. Хасайнова // VI Всерос. конф. по электрохим. методам анализа с междунар. участием «ЭМА – 2004», Уфа. – 2004. – С. 60-62.

74. **Евтухова, Е.Н.** Вольтамперометрическое определение лидокаина гидрохлорида [Текст] / Е.Н. Евтухова, Л.В. Пашкова // Медицина и образование в Сибири. – 2007. – № 3. – С. 19.

75. **Пат. 2348925 РФ.** Вольтамперометрический способ количественного определения лидокаина гидрохлорида [Текст] / Евтухова Е.Н.; № 2007118844/28; заявл. 21.05.07; опубл. 10.03.09. – 2 с.

76. **Полуместная, К.А.** Электрохимические свойства электромембранных систем с водными растворами новокаина и лидокаина [Текст] / К.А. Полуместная,

К.А. Паршина, О.В. Бобрешова [и др.] // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2008. – Т. 8, № 6. – С. 948-955.

77. **Абдуллина, С.Г.** Количественное определение новокаина методом гальваностатической кулонометрии [Текст] / С.Г. Абдуллина, И.К. Петрова // 1 Всерос. конф. «Современные методы химико-аналитического контроля фармацевтической продукции», Москва. – 2009. – С. 7-8.

78. **Абдуллин, И.Ф.** Определение фармпрепаратов - аминопроизводных ароматического ряда методом гальваностатической кулонометрии с помощью электрогенерированного брома [Текст] / И.Ф. Абдуллин, Н.Н. Чернышева, Г.К. Будников // Ж. аналит. химии. – 2002. – Т. 57, № 7. – С. 750-752.

79. **Yin, X.-B.** Short-capillary electrophoresis with electrochemiluminescence detection using porous etched joint for fast analysis of lidocaine and ofloxacin [Text] / X.-B. Yin, J. Kang, L. Fang // J. Chromatogr. A. – 2004. – V. 1055, № 1 – 2. – P. 223-228.

80. **Vera-Candioti, L.** Simultaneous multiresponse optimization applied to epinastine determination in human serum by using capillary electrophoresis [Text] / L. Vera-Candioti, A.C. Olivieri, H.C. Goicoechea // Anal. Chim. Acta. – 2007. – V. 595, № 1 – 2. – P.310-318.

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

82. **Geiser, L.** Capillary electrophoresis-mass spectrometry for the analysis of a pharmaceutical formulation [Text] / L. Geiser, J. Schappler, S. Rudaz // Chimia. – 2003. – V. 57, № 7 – 8. – P. 390.

83. **Моргунова, Т.Г.** Капиллярный электрофорез в фармацевтическом анализе (обзор) [Текст] / Т.Г. Моргунова // Химико-фармацевтический журнал. – 2006. – №3. – С. 39-52.

84. **Gentili, S.** Simultaneous detection of amphetamine-like drugs with headspace solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry [Text] /

S.Gentili, A. Torresi, R. Marsili // J. of Chromatogr. B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences. – 2002. – V.780, № 1. – P. 183-192.

85. **Столяров, Е.Е.** Определение ряда местных анестетиков в биологических жидкостях при химико-токсикологических исследованиях [Текст] / Е.Е. Столяров, Ю.Н. Карпенко, Т.Л. Малкова // Судебно-медицинская экспертиза. – 2009. – № 3. – С. 24-26.

86. **Grouls, R.J.E.** Capillary gas chromatographic method for the determination of N-butyl-P-aminobenzoate and lidocaine in plasma samples [Text] / R.J.E. Grouls, E. Machielsen, H.H.M. Korsten // J. of Chromatogr. B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences. – 1995. – V. 673, № 1. – P. 51-57.

87. **Banicerua, M.** Chromatographic analysis of local anesthetics in biological samples [Text] / M. Banicerua, C. Mandaa, S. Mihaela Popescub // Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. – 2011. – V. 54, № 1. – P. 1-12.

88. **Кирхнер, Ю.** Тонкослойная хроматография, Т. 2. [Текст] / Ю. Кирхнер. – Москва: Мир, 1981. – 524 с.

89. **Тиллаева, Г.У.** Использование тонкослойной хроматографии в анализе препарата комбинированного действия [Текст] / Г.У. Тиллаева, Г.М. Убдуназарова, А.А. Тулаганов // Химия природных соединений – 1999. – С. 147-149.

90. **Карпенко, Ю.Н.** Разработка методик обнаружения и количественного определения ряда местноанестезирующих средств в биологических объектах [Текст]: Дис... канд. фарм. наук / Ю.Н. Карпенко. – Пермь. – 2006. – 149 с.

91. **Абдуваситова, Н.П.** Анализ левомецетина, анестезина и облепихового масла в модельной смеси [Текст] / Н.П. Абдуваситова, Г.У. Тиллаева, А.А. Тулаганов // Матер. научно-прак. конф. «Актуальные проблемы образования, науки и производства в фармации». –Ташкент, 2005. – С. 110.

92. **Садыков, З.К.** Обнаружение новокаина и *n*-аминобензойной кислоты в трупном материале [Текст] / З.К. Садыков, Л.Т. Икрамов // Суд.-мед. экспертиза. – 2000. – № 4. – С. 28-31.

93. **Карташов, В.А.** Применение ацетона в качестве растворителя в химико-токсикологическом анализе амидопирина и новокаина [Текст] / В.А. Карташов,

М.Ю. Боргардт, Т.А. Киселева // Некоторые вопросы химико-токсикологического анализа: сб. науч. тр. – Барнаул, 1989. – С. 79-86.

94. **Schmidt, M.** A convenient TLC method for the identification of local anesthetics [Text] / M. Schmidt, F. Bracher // Pharmazie. – 2006. – Vol. 61, № 1. – P. 15-17.

95. **Поспелова, А.А.** Обращенно-фазный вариант тонкослойной хроматографии в химико-токсикологическом анализе ряда лекарственных средств основного характера [Текст]: автореф. дис... канд. фарм. наук / А.А. Поспелова. – Пермь. – 2012. – 25 с.

96. **Евгеньева, И.И.** Планарная хроматография и анализ органических веществ [Текст] / И.И. Евгеньева // Соросовский образовательный журнал. – 1999. – № 11 – С.50-55.

97. **Пат. 1642372 SU** Реагент для проявления пятен в тонкослойной хроматографии ароматических аминов / Москва Н.А. Евгеньева И.И., Акимова С.А. [Электронный ресурс]: <http://www.findpatent.ru/patent/164/1642372.html>

98. **Дорофеева, С.В.** Изучение хроматографического поведения азотсодержащих лекарственных препаратов в присутствии ПАВ и сильных электролитов [Текст] / С.В. Дорофеева, В.В. Щербакова // Рос. молод. науч. конф. «Современные проблемы теоретической и экспериментальной химии», Екатеринбург. – 2001. – С. 157.

99. **Wang, H.** Study on the systematic optimization of capillary electrophoresis using a controlled weighted centroid variable size simplex algorithm [Text] / H. Wang, J.-L. Gu, H.-F. Hu // Anal. Chem. – 1998. – V. 361, № 5. – P. 419-423.

100. **Шатц, В.Д.** Высокоэффективная жидкостная хроматография: Основы теории. Методология. Применение в лекарственной химии [Текст] / В.Д. Шатц, О.В. Сахартова. – Рига: Зинатие, 1988. – 390 с.

101. **Буланова, А.В.** Хроматография в медицине и биологии: учебное пособие [Текст] / А.В. Буланова, Ю.Л. Полякова. – Самара: Самарский университет, 2006. – 116 с.

102. **Дегтерев, Е.В.** Анализ лекарственных средств в исследованиях, производстве и контроле качества [Текст] / Е.В. Дегтерев // Рос. Хим. журнал. – 2002. – Т. XLVI, №4. – С. 43-51.

103. **Lim, H.K.** Rapid drug metabolite profiling using fast liquid chromatography, automated multiple-stage mass spectrometry and receptor-binding [Text] / H.K. Lim, S. Stellingweif, S. Sisenwine // J. of Chromatogr. A. – 1999. – V. 831, № 2. – P. 227-241.

104. **Manna, L.** Development and validation of a reversed-phase liquid chromatographic method for the assay of lidocaine in aqueous humour samples [Text] / L. Manna, P. Bertocchi, L. Valvo // J. Pharm. and Biomed. Anal. – 2002. – V. 29, № 6. – P. 1121-1126.

105. **Atay, O.** Quantitative determination by using HPLC and GLC methods for cocaine HCl in synthetic binary mixtures with procaine HCl, lidocaine HCl and caffeine [Text] / O. Atay, F. Oztop // Anal. Lett. – 1997. – V. 30, № 3. – P. 565-584.

106. **Youngvises, N.** Simultaneous micellar LC determination of lidocaine and tolperisone [Text] / N. Youngvises, B. Liawruangrath, S. Liawruangrath // J. Pharm. and Biomed. Anal. – 2003. – V.31, № 4. – P. 629-638.

107. **Hu, Yue.** Reversed-phase and cation-exchange mixed-mode retention of basic analytes on polybutadiene-coated zirconia [Text] / Yue Hu, V. Mcneff Clayton, W. Carr Peter // The Pittsburgh Conference on Analytical Chemistry and Applied Spectroscopy «Science for 21st Century», New Orleans, La, March. – 2000. – С. 794.

108. **Fijflek, Z.** Determination of local anaesthetics and their impurities in pharmaceutical preparations using HPLC method with amperometric detection [Text] / Z. FijfLek, E. Baczynski, A. Piwonska // J. Pharm. and Biomed. Anal. – 2005. – V. 37, № 5. – P. 913-918.

109. **Salas, S.** Development and validation of a reverse-phase liquid chromatographic method for the assay of lidocaine hydrochloride in alginate-Gantrez microspheres [Text] / S. Salas, B. Talero, A.M. Rabasco // J. Pharm. and Biomed. Anal. – 2008. – V. 47, № 3. – P. 501-507.

110. **Kokate, A.** HPLC detection of marker compounds during buccal permeation enhancement studies [Text] / A. Kokate, X. Li, B. Jasti // *J. Pharm. and Biomed. Anal.* – 2008. – V. 47, № 1. – P. 190-194.

111. **Cox Sherry, K.** Monoethylglycinexylidide and lidocaine determination in porcine microsomal preparations [Text] / K. Cox Sherry, T. Hammer, J. Bartges // *J. Pharm. and Biomed. Anal.* – 2005. – V.37, № 4. – P. 801-804.

112. **Стрельцов, Д.А.** Разработка методик анализа анестезина в мази бишофита с димексидом и анестезином [Текст] / Д.А.Стрельцов, Е.В. Компанцева // «Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. тр.», Пятигорск. – 2005. – Вып. 60. – С. 287-288.

113. **Стрельцов, Д.А.** Валидационная оценка методик количественного определения анестезина в мази бишофита с димексидом и анестезином [Текст] / Д.А. Стрельцов, Е.В. Компанцева // «Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. тр.», Пятигорск. – 2006. – Вып. 61. – С. 300-302.

114. **Голубицкий, Г.Б.** Удерживание анальгина и анестезина на сорбентах разной полярности. Анализ таблеток «Беллалгин» методом высокоэффективной жидкостной хроматографии [Текст] / Г.Б. Голубицкий, Е.В. Будко, Е.М. Басова [и др.] // *Ж. аналит. химии.* – 2007. – Т. 62, № 2. – С. 170-174.

115. **Ding, Yu-jie.** Быстрое определение составных анестезирующих лекарств с использованием алгоритма вычета чередующейся пригонки совместно с высокоэффективной жидкостной хроматографией и диодным матричным детектором [Текст] / Yu-jie Ding, Hai-long Wu, A-lin Xia // *Hunan daxue xuebao. Ziran kexue ban.* – 2007. – Vol. 34, № 8. – P. 54-56.

116. **Wiberg, K.** Parallel factor analysis of HPLC-DAD data for binary mixtures of lidocaine and prilocaine with different levels of chromatographic separation [Text] / K. Wiberg, P. Ja. Sven // *Anal. Chim. Acta.* – 2004. – V. 514, № 2. – P. 203-209.

117. **Zivanovic, Lj.** Validation of liquid chromatographic method for analysis of lidocaine hydrochloride, dexamethasone acetate, calcium dobesilate, butylhydroxyanisole and degradation product hydroquinone in suppositories and ointment [Text] / Lj. Zi-

vanovic, M. Zecevic, S. Markovic // J. Chromatogr. A. – 2005. – V. 1088, № 1– 2. – P. 182-186.

118. **Harang, V.** Microemulsion electrokinetic chromatography of drugs varying in charge and hydrophobicity [Text] / V. Harang, J. Eriksson, E. Griend Cari // Electrophoresis. – 2004. – V. 25, № 1. – P. 80-93.

119. **Wiberg, K.** Peak purity determination with principal component analysis of high-performance liquid chromatography-diode array detection data [Text] / K. Wiberg, M. Andersson, A. Hagman // J. Chromatogr. A. – 2004. – V. 1029, № 1 – 2. – P. 13-20.

120. **Гайсинович, М.С.** Определение местных анестетиков методом капиллярной хроматографии с использованием аппаратно-программного комплекса «Кристалл 2000 М» [Текст] / М.С. Гайсинович, Е.Е. Столяров, Ю.Н. Карпенко [и др.] // Проблемы экспертизы в медицине. – 2004. – Т. 4, № 15 – 3. – С. 25-27.

121. **Вергейчик, Т.Х.** Токсикологическая химия [Текст] / Т.Х. Вергейчик. – М.: МЕДпресс-информ, 2009. – 400 с.

122. **Мирошниченко, И.И.** Хромато-масс-спектрометрия в фармакокинетических исследованиях [Текст] / И.И. Мирошниченко, Ю.А. Федотов, А.А. Иващенко [и др.] // Качественная клиническая практика. – 2008. – №3. – С. 29-36.

123. **Григорьев, А.М.** Идентификация и определение производных и продуктов метаболизма банкола методами ГЖХ-МС и ВЭЖХ для целей судебно-химического и токсикологического анализа [Текст] / А.М. Григорьев, А.А. Мельник, Л.В. Рудакова // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2008. – Т.8, Вып. 5 – С. 766-778.

124. **Ермаков, А.И.** Хромато-масс-спектрометрический анализ водноспиртовых растворов лекарственных препаратов (Производные ментола и п-аминобензойной кислоты) [Текст] / А.И. Ермаков, Ю.Ю. Хомяков, Л.П. Сошенко // Хим.-фарм. ж. – 2009. – № 8. – С. 53-56.

125. **Савчук, С.А.** Применение метода фиксации времен удерживания при хроматомасс-спектрометрическом и хроматографическом определении наркотических средств [Текст] / С.А. Савчук, Е.А. Симонов, В.И. Сорокин и др. // Ж. аналит. химии. – 2004. – Т. 59, № 10 – С.1059-1069.

126. **Abdel-Rehim, M.** High-performance liquid chromatography-tandem electrospray mass spectrometry for the determination of lidocaine and its metabolites in human plasma and urine [Text] / M. Abdel-Rehim, M. Bielenstein, Y. Askemark // J. of Chromatogr. B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences. – 2000. – V. 741, № 2. – P. 175-188.

127. **Dal Bo, L.** Highly sensitive bioassay of lidocaine in human plasma by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [Text] / L. Dal Bo, P. Mazzucchelli, A. Marzo // J. Chromatogr. A. – 1999. – V. 854, № 1 – 2. – P. 3-11.

128. **Wang, G.** Semi-automated determination of plasma stability of drug discovery compounds using liquid chromatography-tandem mass spectrometry [Text] / G. Wang, Y. Hsieh, Y. Lau // J. of Chromatogr. B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences. – 2002. – V. 780, № 2. – P. 451-457.

129. **Wu, Hui-Qin.** Одновременное определение 10 психотропных лекарственных веществ методом газовой хроматографии - масс-спектрометрии [Текст] / Hui-Qin Wu, Yong-Chun Jin, Ming-Zhao Cai // Fenxi huaxue. – 2007. – V. 35, № 4. – P. 500-504.

130. **Коновалова, О.Ю.** Особенности протекания индикаторной реакции на первичные ароматические амины в желатиновой пленке [Текст] / О.Ю. Коновалова, Л.П. Логинова // Методы и объекты химического анализа. – 2008. – Т. 3, № 2. – С. 147-156.

131. **Иванов, В.М.** Ализариновый красный С как окрашенный реагент для экстракционно-фотометрического и цветометрического определения некоторых местноанестезирующих органических оснований [Текст] / В.М. Иванов, Е.М. Адамова, В.Н. Фигуровская // Ж. аналит. химии. – 2010. – Т. 65, № 9. – С. 934-942.

132. **Иванов, В.М.** Сорбционно-фотометрическое и цветометрическое определение некоторых местноанестезирующих органических оснований с помощью ализаринового красного С [Текст] / В.М. Иванов, Е.М. Адамова, В.Н. Фигуровская // Ж. аналит. химии. – 2012. – Т. 67, № 5. – С. 485.

133. **Иванов, В.М.** Экстракционно-фотометрическое и цветометрическое изучение системы лидокаин – ализариновый красный С [Текст] / В.М. Иванов,

Е.М. Адамова, В.Н. Фигуровская // Тез. докл. II Всерос. конф. с междунар. участием «Аналитика России», Краснодар. – 2009. – С. 391.

134. **Амелин, В.Г.** Целлюлозная бумага с химически иммобилизованным 1-нафтиламином для экспрессного тест-определения нитритов, нитратов и ароматических аминов [Текст] / В.Г. Амелин, И.С. Колодкин // Ж. аналит. химии. – 2001. – Т. 56, № 2. – С. 206-212.

135. **Casas-Hernandez, A.M.** Application of time-resolved luminescence to dry reagent chemical technology [Text] / A. M. Casas-Hernandez, M. Paz Aguilar-Caballos, A. Gomez-Hens // Anal. Chim. Acta. – 2002. – V. 452, № 2. – P. 169-175.

136. **Дмитриенко, С.Г.** Реакции азосочетания с участием пенополиуретанов и их применение в химическом анализе [Текст] / С.Г. Дмитриенко, С.А. Бадакова, Л.Н. Пяткова // Междунар. Форум «Аналитика и аналитики», Воронеж. – 2003. – С. 193.

137. **Чернова, Р.К.** Взаимодействие первичных ароматических аминов с альдегидами в мицеллах анионных ПАВ [Текст] / Р.К. Чернова, С.Ю. Доронин, А.Н. Панкратов // Проблемы анал. химии: Мустафинские чтения, Саратов. – 1999. – С. 37-39.

138. **Доронин, С.Ю.** Некоторые тест-методы определения первичных ароматических аминов [Текст] / С.Ю. Доронин, Р.К. Чернова, Н.Н. Гусакова // Проблемы анал. химии: Мустафинские чтения, Саратов. – 1999. – С. 111-112.

139. **Коновалова, О.Ю.** Индикаторные пленки для обнаружения и определения первичных ароматических аминов [Текст] / О.Ю. Коновалова, Л.П. Логинова // III Міжнар. симпозіум «Методи хімічного аналізу», Севастополь. – 2008. – С.76.

140. **Loginova, L.P.** Test films for test-determinations on the base of reagents, immobilized in gelatinous gel [Text] /L.P. Loginova, O.Yu. Konovalova // Talanta. – 2008. – V. 77, № 2. – P. 915-923.

141. **Логинова, Л.П.** Тест-пленки для обнаружения и полуколичественного определения первичных ароматических аминов [Текст] / Л.П. Логинова, О.Ю. Нестеренко // Вістн. харків. нац. ун-ту. – 2006. – № 731. – С. 112-119.

142. **Доронин, С.Ю.** Аналитические возможности реакций первичных ароматических аминов с *n*-диметиламинокоричным альдегидом в присутствии ионов и мицелл ПАВ [Текст] / С.Ю. Доронин, Р.К. Чернова, Н.Н. Гусакова // Журнал аналитической химии. – 2005. – Т. 60, № 5. – С. 471-478.

143. **Доронин, С.Ю.** *n*-Диметиламинокоричный альдегид как фотометрический реагент на первичные ароматические амины [Текст] / С.Ю. Доронин, Р.К. Чернова, Н.Н. Гусакова // Журнал аналитической химии. – 2004. – Т. 59, № 4. – С. 377-387.

144. **Поспелова, А.А.** Экстракционное вымораживание и твердофазная экстракция в судебно-химическом исследовании ряда антигистаминных средств, нейролептиков, транквилизаторов, опиатов, опиоидов, местных анестетиков [Текст] / А.А. Поспелова, Т.Л. Малкова, Л.Н. Карпова // Токсикология. – 2012. – Т. 13, № 2. – С.94-102.

145. **Рудакова, Л.В.** Экстракционно-хроматографическое и экстракционное фотоколориметрическое определение парацетамола в суспензии «Парацетамол детский» [Текст] / Л.В. Рудакова, Е.А. Хорохордина // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2011. – Т. 11, № 4. – С. 572-574.

146. **Рудакова, Л.В.** Экстракционно-хроматографическое определение синэстрола в лекарственной форме [Текст] / Л.В. Рудакова, Фан Винь Тхинь, Е.А. Подолина [и др.] // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2009. – № 1. – С. 126-130.

147. **Рудакова, Л.В.** Многопараметрическая оптимизация состава смешанных растворителей для экстракции и спектрофотометрического определения аскорбиновой и никотиновой кислот [Текст] / Л.В. Рудакова, Р.В. Савушкин, В.В. Хрипушин [и др.] // Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2008. – № 1. – С. 45-49.

148. **Коренман, Я.И.** Коэффициенты распределения органических соединений: справочник [Текст] / Я.И. Коренман. – Воронеж: Изд-во ВГУ, 1992. – 336 с.

149. **Федорчук, О.И.** Мицеллярно-экстракционное концентрирование ненаркотических анальгетиков модифицированными фазами Triton X – 100 [Текст] /

О.И. Федорчук, С.А. Куличенко, Г.М. Кочетов // Методы и объекты химического анализа. – 2010. – Т.5, №4. – С. 202-210.

150. **Ma, Ming.** Liquid-phase microextraction combined with high-performance liquid chromatography for the determination of local anaesthetics in human urine [Text] / Ming Ma, Shaoying Kang, Qian Zhao // J. Pharm. and Biomed. Anal. – 2006. – V. 40, № 1. – P. 128-135.

151. **Макитра, Р.Г.** Особенности экстракции новокаина из водной фазы [Текст] / Р.Г. Макитра, В.И. Роговик, Н.В. Роговик [и др.] // Ж. общ. химии. – 2007. – Т. 77, № 8. – С. 1247-1250.

152. **Тхи Лонг, До.** Иммуобилизация гидрохлорида новокаина на клиноптилолитовом туфе [Текст] / До Тхи Лонг, Д.Л. Котова, Т.А. Крысанова и др. // Материалы Всерос. конф. с элементами научной школы для молодежи, Белгород. – 2010. – С. 171.

153. **Доронин, С.Ю.** Экстракционное концентрирование органических аналитических форм системами на основе ПАВ [Текст] / С.Ю. Доронин, Р.К. Чернова, А.А. Бурмистрова // Бутлеровские сообщения. – 2011. – Т. 25, № 6. – С. 94-101.

154. **Вишняков, В.В.** Количественное определение новокаина, введенного в кожу человека способом ДЭНС-фореза [Текст] / В.В. Вишняков, П.П. Пурьгин, И.А. Потапова // Вестник Самар. гос. ун-та. – 2005. – № 5. – С. 163-168.

155. **Shen, Y.** On-line microporous membrane liquid-liquid extraction for sample pretreatment combined with capillary gas chromatography applied to local anaesthetics in blood plasma [Text] / Y. Shen, J.A. Jonsson, L. Mathiasson // Anal. Chem. – 1998. – V. 70, № 5. – P. 948-953.

156. **Рогова, Н.В.** Количественное определение метаболита лидокаина моноэтилглицинсилидида в плазме методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с использованием диодно-матричного детектора [Текст] / Н.В. Рогова, К.А. Кузнецов, Л.А. Смирнова [и др.] // Вестник Волгоград. гос. мед. ун-та. – 2007. – № 3. – С. 43-47.

157. **Zientek, K.D.** Quantitation of Procaine in Equine Plasma by Liquid Chromatography – Linear Ion Trap Mass Spectrometry [Text] / K.D. Zientek, D.F. Ander-

son, K. Wegner, C. Cole // *Journal of Analytical Toxycology* . – 2007. – Vol. 31. – P. 87-92.

158. **Toledo Lopez, A.** A Simple Method for Quantification of Lidocaine and Its Metabolite Monoethylglycine Xylidide in Plasma [Text] / Al.Toledolopez, B. P. Guille, G. C. Vieyra // *Chromatographia*. – 2010. – V. 71, № 5– 6. – P. 545-547.

159. **Beaumier, P.** Procaine Determination after Administering Vartous Procaine Formulations to Standard-breds [Text] / P.Beaumier, S. Timmings, J.D. Fenwick, F. Fodi, L.M. Young, T. Yeow, M. Weber, A.J. Stevenson // *Proceedings of the 6 th International Conference of Racing Analysis and Veterinarians*. – Hong Kong, 1985. – P. 209-216.

160. **Маміна, О.О.** Хіміко-токсикологічний аналіз лідокаїну [Текст] / О.О. Маміна, В.В. Болотов, В.С. Бондар // *Фармац. ж.* – 2003. – № 2. – С. 68-72.

161. Фармакопея. USP 32 monographs A-Z Фармакопея США / Washington, D.C.: The United States Pharmacopeial Convention, 2008. – 3577 p.

162. **Беляев, А.В.** Исследование наркотических средств с предварительной пробоподготовкой методом твердофазной экстракции [Электронный ресурс]: <http://www.worklib.ru/laws/ml03/pages/10007446.php>

163. **Abdel-Rehim, M.** New trend in sample preparation: on-line microextraction in packed syringe for liquid and gas chromatography applications [Text] / M. Abdel-Rehim // *J Chromatogr. B*. – 2004. – V. 801, № 2. – P. 317-321.

164. **Baniceru, M.** Determination of some local anesthetics in human serum by gas chromatography with solid-phase extraction [Text] / M. Baniceru, O. Croitoru, S.M. Popescu // *J. Pharm. and Biomed. Anal.* – 2004. – V. 35, № 3. – P. 593-598.

165. **Babic, S.** Determination of multi-class pharmaceuticals in wastewater by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS-MS) [Text] / S. Babic, D. Asperger, M. Perisa // *Anal. and Bioanal. Chem.* – 2010. – V. 398, № 1. – P.1185-1194.

166. **Porra, R.** Development of an HPLC method for the identification and dosage of non-allowed substances in cosmetic products [Text] / R. Porra, S. Berri, L. Gagliardi // *Anal. and Bioanal. Chem.* – 2004. – V.380, № 5 – 6. – P. 767-772.

167. **Altun, Z.** Monolithic methacrylate packed 96-tips for high throughput bioanalysis [Text] / Z. Altun, C. Skoglund, M. Abdel-Rehim // *J. Chromatogr. A.* – 2010. – V. 1217, № 6. – P. 2581-2588.

168. **Шилова, Е.А.** Количественное определение лидокаина в крови методом газовой хроматографии масс-спектрометрии [Текст] / Е.А. Шилова, С.С. Катаев // Матер. Рос. научно-практ. конф. с междунар. уч. «Актуальные вопросы судебно-химических, химико-токсикологических исследований и фармацевтического анализа». – Пермь, 2009. – С. 70-73.

169. **Parissi-Poulou, M.** Determination of hyoscine n-butyl-bromide, lidocaine hydrochloride, and paracetamol in injection forms using solid-phase extraction, high-performance liquid chromatography, and UV-VIS spectrophotometry [Text] / M. Parissi-Poulou, I. Panderi // *J. Liq. Chromatogr. and Relat. Technol.* – 1999. – Vol. 22, № 7. – P. 1055-1068.

170. **Карцова, Л.А.** Использование сверхсшитого полистирола как сорбента для твердофазной экстракции при анализе лекарств в биологических объектах методом высокоэффективной тонкослойной хроматографии (ВЭТСХ) [Текст] / Л.А. Карцова, В.А. Даванков, Е.А. Бессонова [и др.] // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2010. – Т. 10, № 1. – С. 5-14.

171. **Altun, Z.** New trends in sample preparation: on-line microextraction in packed syringe (MEPS) for LC and GC applications [Text] / Z. Altun, M. Abdel-Rehim, G. Blomberg Lars // *J Chromatogr. B.* – 2004. – V. 813, № 1 – 2. – P. 129-135.

172. **Morales-Cid, G.** Direct automatic determination of free and total anesthetic drugs in human plasma by use of a dual (microdialysis-microextraction by packed sorbent) sample treatment coupled at-line to NACE-MS [Text] / G. Morales-Cid, S. Cardenas, M. Simonet-Bartolome // *Electrophoresis.* – 2009. – V. 30, № 10. – P. 1684-1691.

173. **Van Hout, M.W.J.** Coupling device for desorption of drugs from solid-phase extraction-pipette tips and on-line gas chromatographic analysis [Text] / M.W.J. van Hout, R.A. de Zeeuw, G.J. de Jong // *J. Chromatogr. A.* – 1999. – V. 858, № 1. – P. 117-122.

174. **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.

175. **Перельман, Я.М.** Анализ лекарственных форм (практическое руководство) [Текст] / Я.М. Перельман. – Л.: Медгиз, 1961. – 618 с.

176. **Kleemann, Et. Al.** Pharmaceutical Substances [Text] / Et. Al. Kleemann. – Chemistry: Thieme Verlagsgruppe, 2008. – 1800 p.

177. **Seidell, A.** Solubilities of organic compounds. Vol.2. [Text] / A. Seidell. – New York: D. Van Nostrand Company, 1971. – 729 p.

178. **Moffat, A.C.** Clarke's Isolation and Identification of Drugs. In Pharmaceuticals, Body Fluids, and Post-mortem Material [Text] / A.C. Moffat. – London: Pharmaceutical press, 1986. – 1684 p.

179. Свойства органических соединений: справочник [Текст] / Под. ред. А.А. Потехина. – Л.: Химия, 1984. – С. 46-47.

180. **Yalkowsky, S.H.** Handbook of aqueous solubility data [Text] / S.H. Yalkowsky, H. Yan. – CRC Press, 2003. – 579 p.

181. Справочник химика. Т.1. Общие сведения. Строение вещества. Свойства важнейших веществ. Лабораторная техника [Текст] / Под ред. Б.П. Никольского. – М.: Химия, 1966. – 1072 с.

182. Справочник химика. Т.2. Основные свойства неорганических и органических соединений [Текст] / Под ред. Б.П. Никольского. – М.: Химия, 1964. – 1168 с.

183. **Денеш, И.** Титрование в неводных средах [Текст] / И. Денеш. – М.: Мир, 1977. – 413 с.

184. **Бедрик, Б.Г.** Растворители и составы для очистки машин и механизмов: справ. изд. [Текст] / Б.Г. Бедрик, П.В. Чулков, С.И. Калашников. – М.: Химия, 1989. – 176 с.

185. **Тарасевич, Б.Н.** ИК спектры основных классов органических соединений. Справочные материалы [Текст] / Б.Н. Тарасевич. – Москва: МГУ имени М.В. Ломоносова, 2012. – 55 с.

186. **Наканиси, К.** Ифракрасные спектры и строение органических соединений [Текст] / К. Наканиси. – М.: Мир, 1965. – 220 с.

187. **Беллами, Л.** Новые данные по ИК-спектрам сложных молекул [Текст] / Л. Беллами. – М.: ИЛ, 1971. – 318 с.

188. Инфракрасная спектроскопия ионообменных материалов [Текст] / В.А. Углянская [и др.]. – Воронеж: Воронеж. гос. ун-т, 1989. – 208 с.

189. **Колесник, И.В.** Инфракрасная спектроскопия [Текст] / И.В. Колесник, Н.А. Саполетова. – Москва: МГУ, 2011. – 88 с.

190. **Сумина, Е.Г.** Тонкослойная хроматография. Теоретические основы и практическое применение [Текст] / Е.Г. Сумина, С.Н. Штыков, Н.В. Тюрина. – Саратов: изд-во Саратов. гос. ун-та, 2006. – 112 с.

191. **Коренман, И.М.** Фотометрический анализ. Методы определения органических соединений [Текст] / И. М. Коренман. – М.: Химия, 1970. – 342 с.

192. **Ермакова, Т.А.** Методы выделения и очистки органических соединений [Текст] / Т. А. Ермакова, В. В. Акатьев. – Волгоград: ВолГУ, 2007. – 52 с.

193. **Суханов, П.Т.** Экстракция ароматических сульфокислот бинарными смесями растворителей [Текст] / П.Т. Суханов, Я.И. Коренман, А.С. Губин // Журн. физ. химии. – 2005. – Т. 79, № 3. – С. 548-551.

194. **Бусыгина, Н.С.** Экстракционное извлечение и концентрирование галлия и индия фосфорорганическими кислотами и их смесями [Текст]: автореф. дис... канд. хим. наук / Н.С. Бусыгина. – Москва. – 2008. – 19 с.

195. **Вершинин, В.И.** Планирование и математическая обработка результатов химического эксперимента [Текст] / В.И. Вершинин, Н.В. Перцев. – Омск: Изд-во ОмГУ, 2005. – 216 с.

196. **Экспериандова, Л.П.** Еще раз о пределах обнаружения и определения / Л.П. Экспериандова, К.Н. Беликов, С.В. Химченко [и др.] // Журн. аналит. химии. – 2010. – Т. 65, № 3. – С. 229-234.

197. **Гулевич, А.Л.** Сложные химические равновесия [Текст] / А.Л. Гулевич. – Минск: БГУ, 2002. – 102 с.

198. **Другов, Ю.С.** Пробоподготовка в экологическом анализе [Текст] / Ю.С. Другов, А.А. Родин. – Санкт-Петербург: Анатолия, 2002. – 775 с.

199. **Соловкин, А.С.** Высаливание и количественное описание экстракционных равновесий [Текст] / А.С. Соловкин. – М.: Атомиздат, 1969. – 124 с.

200. **Мокшина, Н.Я.** Моделирование процесса экстракции ароматических аминокислот в анализе фармацевтических препаратов [Текст] / Н.Я. Мокшина, С.И. Нифталиев, О.А. Пахомова // *Фундаментальные исследования*. – 2007. – № 2. – С. 21-24.

201. **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.

202. **Сидорычев, Е.В.** Особенности сольватации воды и алифатических спиртов в растворителях различной природы [Текст] / Е.В. Сидорычев, А.Г. Захаров, А.Л. Колов // *Специфика сольватационных процессов в растворах: Межвуз. сб. / Хим.-технол. ин-т. – Иваново, 1991. – С. 59-67.*

203. **Рудаков, О.Б.** Растворитель как средство управления процессом в жидкостной хроматографии [Текст] / О.Б. Рудаков. – Воронеж: Воронеж. гос. ун-т, 2003. – 300 с.

204. **Зыбенко, М.В.** Экстракция анестезина из водных сред спиртами-гомологами [Текст] / М.В. Зыбенко, Т.В. Чибисова, П.Т. Суханов, Я.И. Коренман // *Тез. докл. 79 Междунар. научной конф. молодых ученых, аспирантов и студентов. «Наукові здобутки молоді – вирішенню проблем харчування людства у ХХІ столітті»*, ч.4., Киев. – 2013. – С. 419-420.

205. 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, Monteluco di Roio (Italy), 17 – 18 September, 2014. - L'aquila. – 2014. – P. 36-40.*

206. **Мокшина, Н.Я.** Экстракция и определение ароматических α -аминокислот и водорастворимых витаминов – закономерности и новые аналитические решения [Текст]: дис...док. хим. наук / Н.Я. Мокшина. – Кубан. гос. ун-т. – Краснодар. – 2007. – 328 с.

207. **Березин, Б.Д.** Курс современной органической химии [Текст] / Б.Д. Березин, Д.Б. Березин. – М.: Высш. шк., 1999. – 768 с.

208. Внутримолекулярное взаимодействие нитрильной и С-Н-, О-Н- и S-Н- групп [Текст] / Под ред. Бабичева. – Ф.С.-Киев: Наук. думка, 1985. – 200 с.

209. **Райхардт, К.** Растворители и эффекты среды в органической химии [Текст] / К. Райхардт. – М.: Мир, 1991. – 763 с.

210. **Коренман, Я.И.** Коэффициенты распределения новокаина в системах алифатический спирт (С₃ – С₉) – сольвотропный реагент – высаливатель – вода [Текст] / Я.И. Коренман, Т.В. Чибисова, О.А. Пахомова // Журнал физ. химии. – 2013. – Т.87, №7. – С. 1239-1242.

211. **Чибисова, Т.В.** Извлечение новокаина из водных растворов гидрофобными растворителями в присутствии высаливателя [Текст] / Т.В. Чибисова, Я.И. Коренман, О.А. Пахомова // Тез. докл. VI Всерос. конф. по хим. технологии, Т. 4., Москва. – 2012. – С. 307-308.

212. **Заходяева, Ю.А.** Экстракция монокарбоновых кислот бинарными экстрагентами на основе аминов и ЧАО [Текст] / Ю.А. Заходяева, А.А. Вошкин, В.В. Белова [и др.] // Хим. технология. – 2010. – Т. 11, № 7. – С. 407-411.

213. **Егорова, Н.С.** Экстракция нитрата уранила бинарным экстрагентом на основе четвертичного аммониевого основания и ди(2,4,4-триметилпентил)фосфиновой кислоты [Текст] / Н.С. Егорова, В.В. Белова, А.А. Вошкин [и др.] // Хим. технология. – 2007. – Т.8, №10. – С. 362.

214. **Коренман, Я.И.** Экстракция фруктозы бинарными смесями гидрофильных растворителей [Текст] / Я.И. Коренман, Н.Я. Мокшина, А.А. Бычкова // Изв. вузов. Химия и хим. технология. – 2012. – Т. 55, № 3. – С. 29-31.

215. **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.

216. **Ермолаева, Т.Н.** Экстракция моно- и полифункциональных ароматических соединений гидрофильными растворителями [Текст]: дис...докт. хим. наук / Т.Н. Ермолаева. – Липец. гос. тех. ун-т, Ворон. гос. технол. акад. – Липецк. – 1999. – 294 с.

217. **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., аспирант. и молодых ученых с междунар. участием «Технологии и оборудование химической, биотехнологической и пищевой промышленности», Бийск. – 2013. – С. 216-219.

218. **Пономарев, Д.А.** Основы химии терпенов [Текст] / Д. А. Пономарёв, Э. И. Фёдорова. – Сыктывкар: СЛИ, 2014. – 56 с.

219. **Рудаков, Г.А.** Химия и технология камфары [Текст] / Г.А. Рудаков. – М.: Лесная промышленность, 1976. – 208 с.

220. **Бутырская, Е.В.** Компьютерная химия: основы теории и работа с программами Gaussian GaussView [Текст] / Е.В. Бутырская. – М.: СОЛОН-ПРЕСС, 2011. – 224 с.

221. **Кларк, Т.** Компьютерная химия: Пер. с англ. [Текст] / Т. Кларк. – М.: Мир, 1990. – 383 с.

222. **Шуба, А.А.** Оценка состояния биопроб по результатам детектирования массивом пьезосенсоров легколетучих аминов различного строения и алифатических кислот [Текст]: дис...канд. хим. наук / А.А. Шуба. – Вор. гос. ун-т инж. технол. – Воронеж. – 2013. – 235 с.

223. **Alizaden, R.** Theoretical study of structure, stability and infrared spectra of hydrogen bonding complexes pairing N-nitrosodietanolamine and one to five water molecules [Текст] / Alizaden R., Najafi N. M. // Жур. стр. химии. – 2008. – Т. 49, № 4. – С. 649-654.

224. **Соколов, Н.Д.** Водородная связь [Текст] / Н.Д. Соколов // Успехи физических наук. – 1955. – Т. LVII, № 2. – С. 205-278.

225. **Чибисова, Т.В.** Экстракционно-спектрофотометрическое определение анестезина в лекарственных средствах [Текст] / Т.В. Чибисова, Я.И. Коренман, В.К. Шорманов, П.Т. Суханов // Тез. докл. IX Всеукр. конф. по анал. химии, Донецк. – 2013. – С. 85.

226. 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.

227. **Hille, B.** The pH – dependent rate of action of local anesthetics on the node of Ranvier [Text] / B. Hille // J. General Physiol. – 1977. – V. 69, № 4. – P. 475-496.

228. **Schmidt, M.** A convenient TLC method for the identification of local anesthetics [Text] / M. Schmidt, F. Bracher // Pharmazie. – 2006. – V. 61, № 1. – P. 15-17.

229. **Коренман, Я.И.** Выделение, экстракционное концентрирование и определение кофеина при исследовании плазмы крови [Текст] / Я.И. Коренман, В.К. Шорманов, Н.Я. Мокшина [и др.] // Суд.-мед. экспертиза. – 2012. – № 2. – С. 32-35.

230. **Грачев, Ю.П.** Математические методы планирования эксперимента [Текст] / Ю.П. Грачев. – М.: Пищевая пром-ть, 1979. – 200 с.

231. **Ахназарова, С.Л.** Оптимизация эксперимента в химии и химической технологии [Текст] / С.Л. Ахназарова, В.В. Кафаров. – М.: Высш. шк., 1978. – 319 с.

232. **Коренман, Я.И.** Экстракционно-хроматографическое определение сульфазокрасителей в водных растворах [Текст] / Я.И. Коренман, Санникова Н.Ю., Суханов П.Т. [и др.] // Журн. анал. хим. – 2010. – № 5. – С. 475-480.

233. Денситометр Сорбфил: Руководство пользователя. Сорбполимер: Краснодар, 2006. – 17 с.

234. **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.

235. Спектрофотометрическое исследование химических равновесий. Ч. 1. Определение константы ионизации. Методические разработки [Текст] / В.В. Хасанов [и др.]. – Нальчик: Каб.-Балк. ун-т, 2002. – 28 с.

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

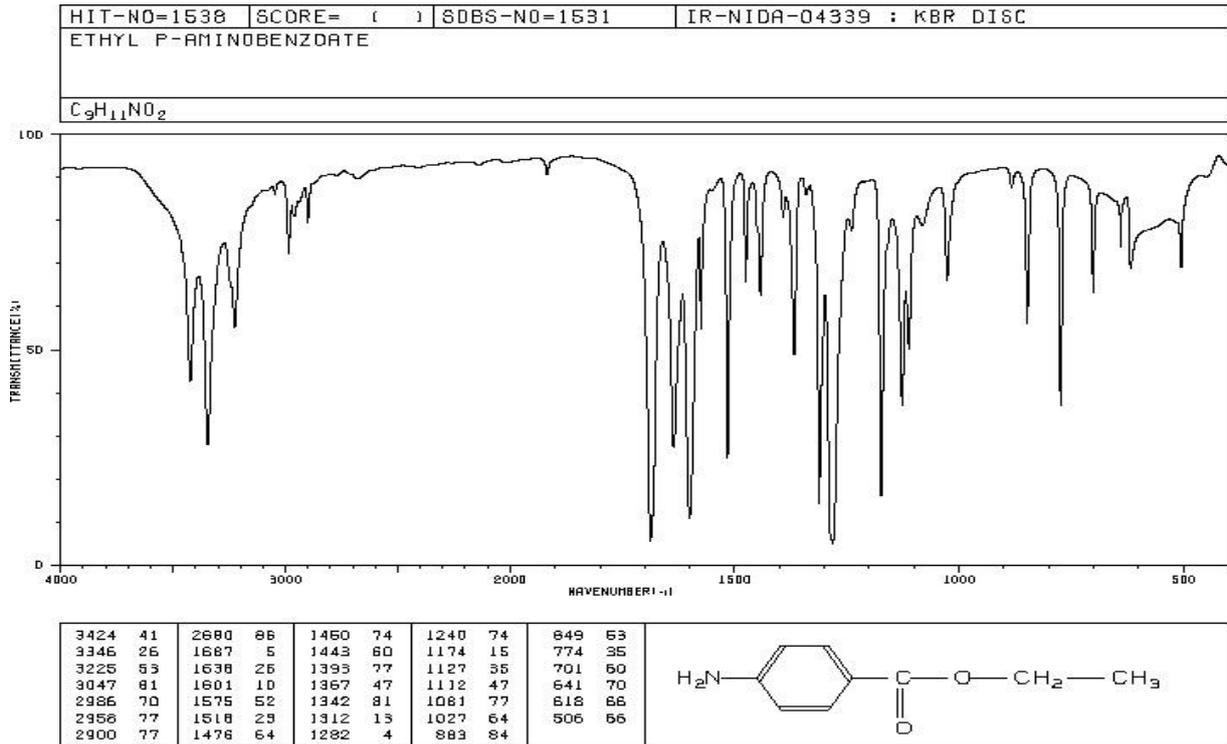
237. **Рожило, Я.К.** Проблема оптимизации процессов разделения в адсорбционной тонкослойной хроматографии [Текст] / Я.К. Рожило, И. Малиновска // Рос. хим. журн. – 2003. – Т. XLVII, № 1. – С. 127-135.

238. **Шаршунова, М.** Тонкослойная хроматография в фармации и клинической биохимии [Текст] / М. Шаршунова, В. Шварц, Ч. Михалец. – М.: Мир. – 1980. – 607 с.

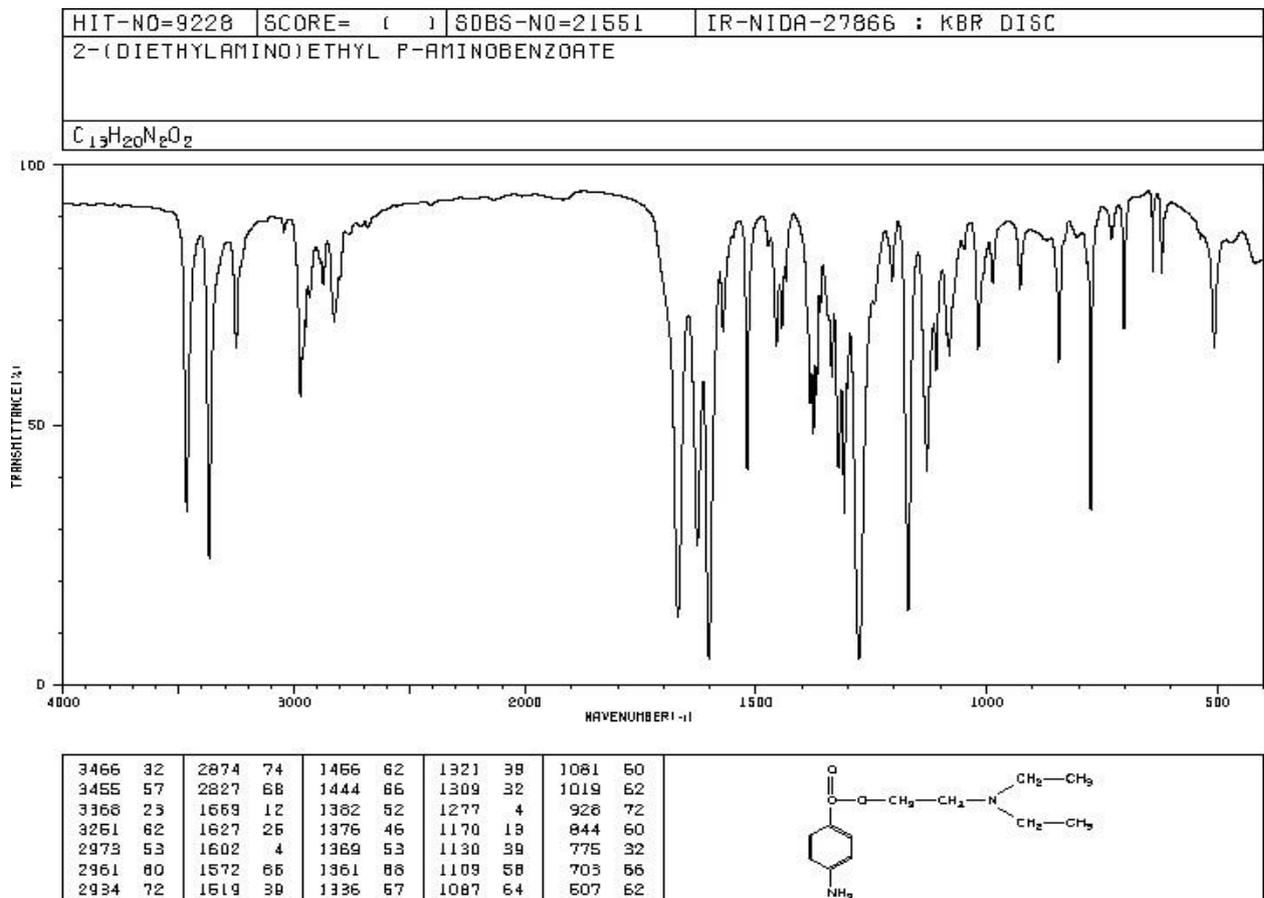
249. **Коренман, Я.И.** Экстракционно-спектрофотометрическое определение новокаина в молоке [Текст] / Я.И. Коренман, Т.В. Чибисова // Матер. III Междунар. межвуз. конф. «Современные методы аналитического контроля качества и безопасности продовольственного сырья и продуктов питания», Москва. – 2012. –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

240. **Коренман, Я.И.** Экстракционное извлечение новокаина из молока при контроле качества готовой продукции [Текст] / Я.И. Коренман, О.А. Пахомова, Т.В. Чибисова // Тез. докл. XII Междунар. конф. молодых ученых «Пищевые технологии и биотехнологии», Казань. – 2012. – С. 276.

ПРИЛОЖЕНИЯ



а)



б)

Рисунок 1 – Стандартные ИК-спектры: а) анестезина, б) новокаина (бромид калия, 400-4000 см⁻¹, база данных «Spectral Data base for Organic Compounds SDBS»)

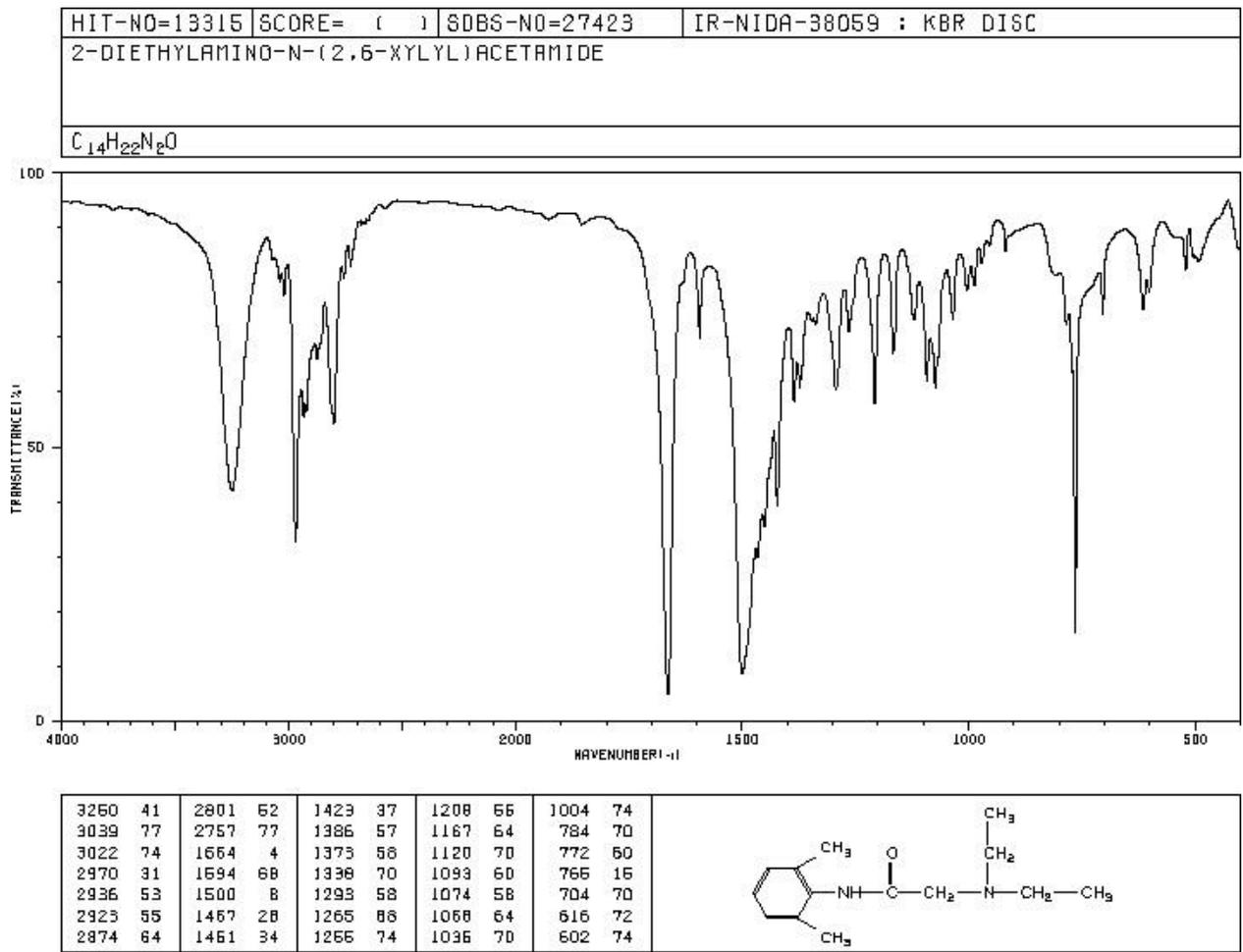
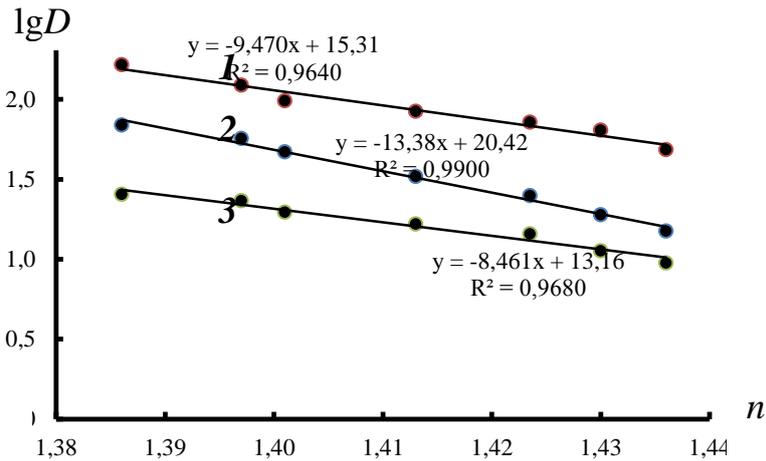
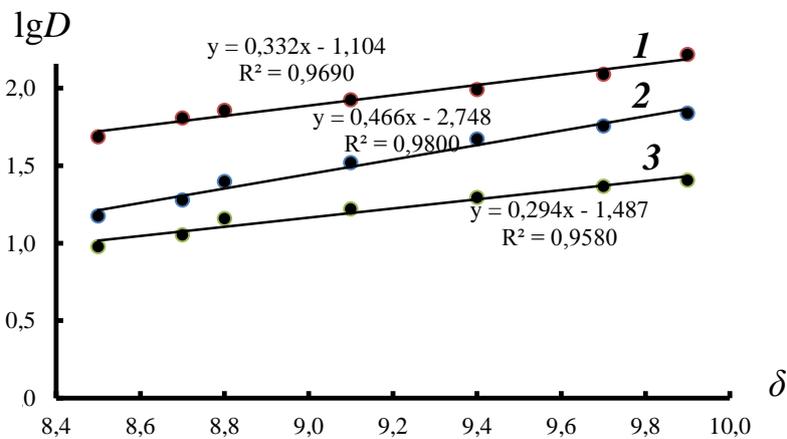


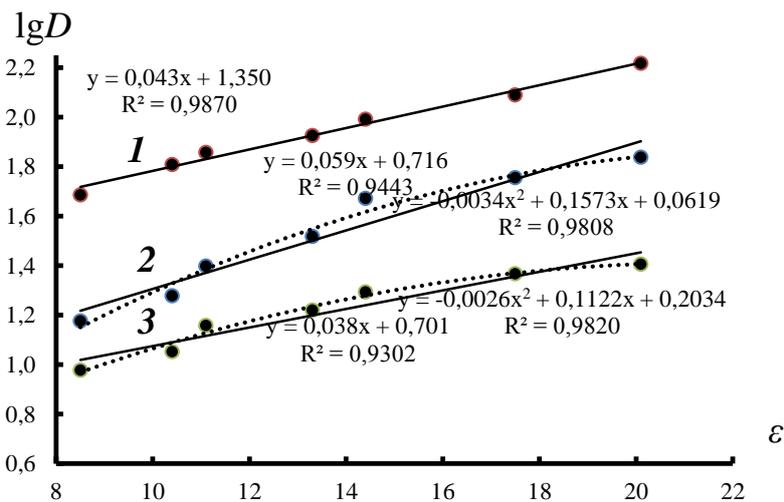
Рисунок 2 – Стандартный ИК-спектр лидокаина (бромид калия, 400-4000 cm^{-1} , база данных «Spectral Data base for Organic Compounds SDBS»)



a)



б)

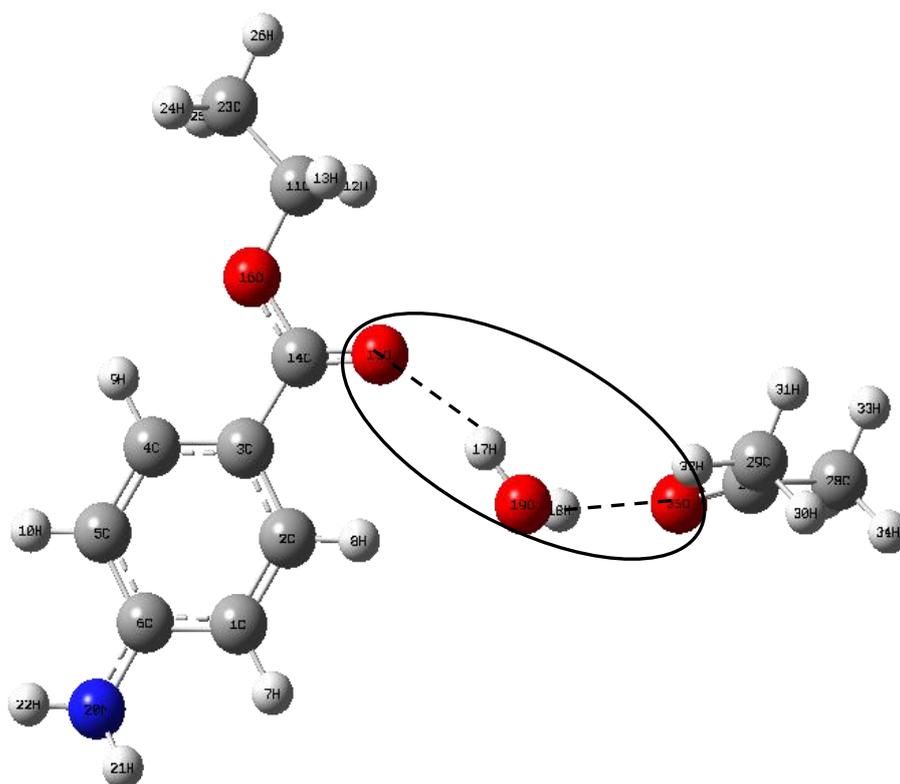


в)

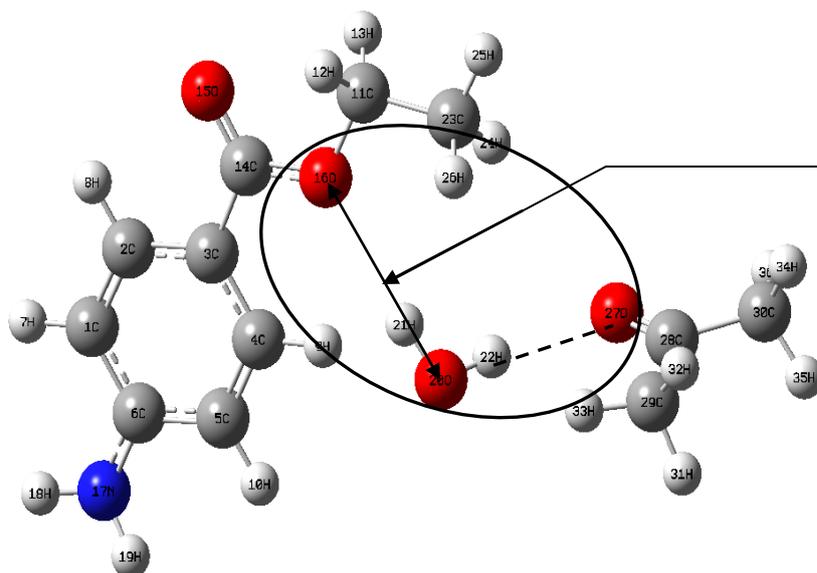
Рисунок 3 – Зависимость $\lg D$ анестезина (1), новокаина (2) и лидокаина (3) от показателя преломления (а), параметра растворимости Гильдебранда (б) и диэлектрической проницаемости (в) спиртов (экстракция из раствора карбоната калия)

Таблица 1 – Коэффициенты распределения (D) и степени извлечения (R , %) новокаина от концентрации камфоры в растворе алкилацетатов ($n = 3$, $P = 0,95$) [236]

Концентрация камфоры в алкилацетате, мас. %	Этилацетат		Бутилацетат		Пентилацетат	
	D	R	D	R	D	R
10	131 ± 11	96	$70,8 \pm 6,3$	93	$46,5 \pm 3,8$	90
15	174 ± 16	97	$95,6 \pm 9,1$	95	$67,8 \pm 6,1$	93
20	219 ± 20	98	115 ± 10	96	$88,3 \pm 8,2$	95
25	270 ± 26	98	133 ± 12	96	104 ± 9	95
30	302 ± 29	98	153 ± 15	97	112 ± 10	96



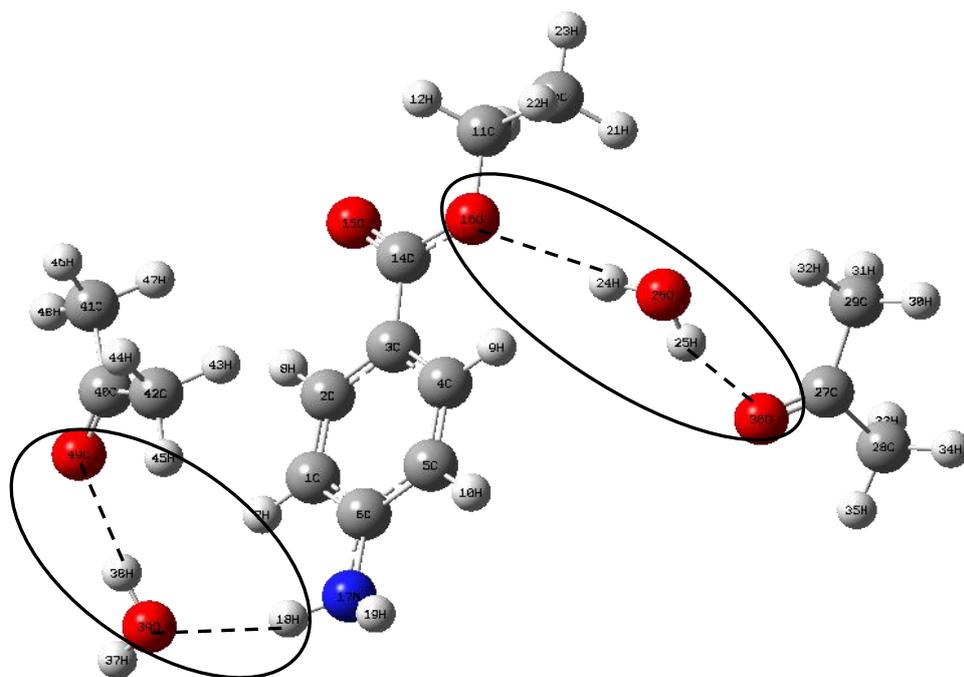
а)



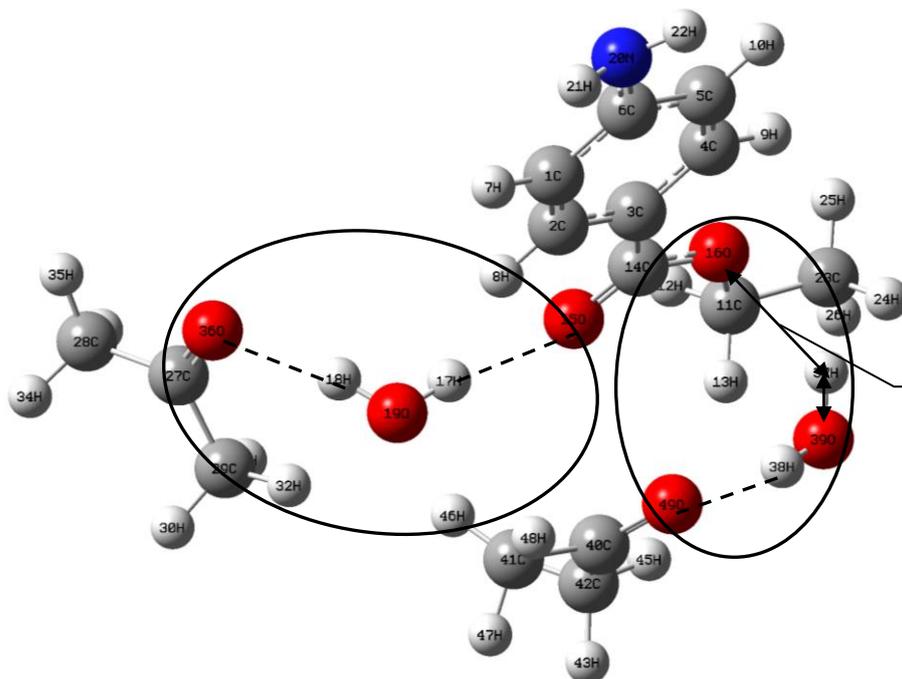
Так как расстояние превышает $3,2 \cdot 10^{-1}$ нм, водородная связь не образуется

б)

Рисунок 4 – Варианты оптимизированных комплексов анестезина с диметилкетонном



а)



Так как
расстояние
превышает
 $3,2 \cdot 10^{-1}$ нм,
водородная
связь не
образуется

б)

Рисунок 5 – Варианты оптимизированных комплексов анестезина с диметилкетонном

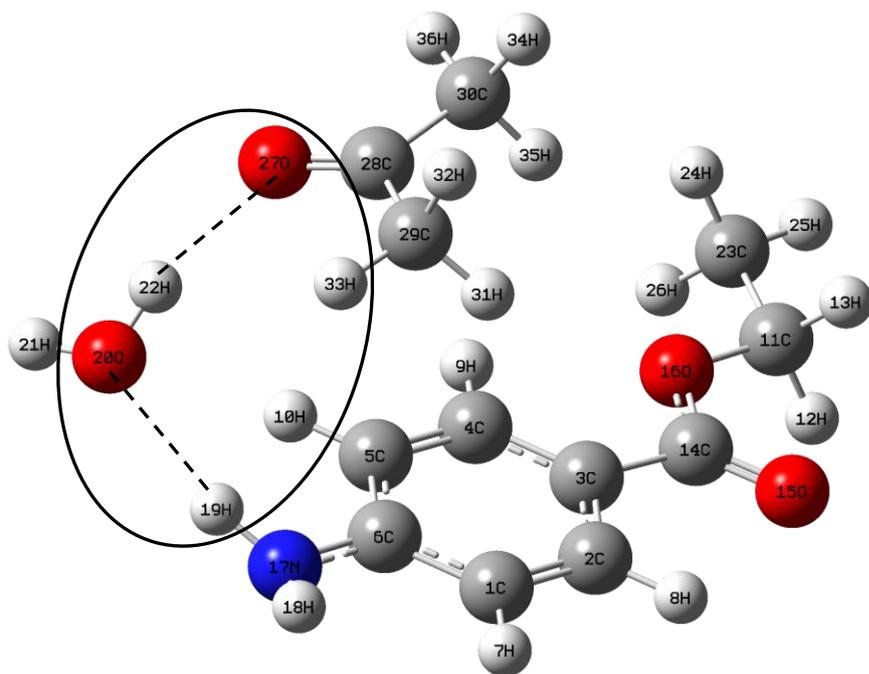


Рисунок 6 – Варианты оптимизированных комплексов анестезина с диметилкетон

Таблица 2 – Характеристики оптимизированных комплексов анестезина с диметилкетонном ($n_{\text{экт}}$)

Комплекс Параметр	Рисунок 4 а)		Рисунок 5а)		Рисунок 6	
$E_{\text{связи}}$, кДж/моль	-39,54		-43,06		-38,51	
Длины связей $\cdot 10^{-1}$, нм	$O_{15}^* \dots H_{17}$	2,0724	$O_{27} \dots H_{22}$	1,9746	$O_{49} \dots H_{38}$	1,9889
	$O_{36} \dots H_{18}$	2,1259	$O_{20} \dots H_{19}$	2,0958	$O_{39} \dots H_{18}$	2,1222
	$O_{19} - H_{17}$	0,9473	$O_{20} - H_{22}$	0,9504	$O_{36} \dots H_{25}$	2,0697
	$O_{19} - H_{18}$	0,9472	$C_{28} = O_{27}$	1,1987	$O_{16} \dots H_{24}$	2,2966
	$C_{14} = O_{15}$	1,1981	$N_{17} - H_{19}$	0,9992	$O_{26} - H_{25}$	0,9481
	$C_{27} - O_{36}$	1,1962			$O_{26} - H_{24}$	0,9439
					$C_{27} = O_{36}$	1,1965
					$O_{16} - C_{11}$	1,4277
					$O_{16} - C_{14}$	1,3315
					$N_{17} - H_{18}$	0,9994
					$N_{17} - H_{19}$	0,9939
					$O_{39} - H_{38}$	0,9504
					$O_{39} - H_{37}$	0,9428
				$C_{40} = O_{49}$	1,1989	
Заряды Малликена, z	O_{15}	-0,632	O_{20}	-0,724	O_{16}	-0,674
	O_{19}	-0,736	O_{27}	-0,568	O_{26}	-0,728
	O_{36}	-0,543	N_{17}	-0,780	O_{36}	-0,545
	H_{17}	0,372	H_{19}	0,356	O_{39}	-0,723
	H_{18}	0,360	H_{22}	0,386	O_{40}	-0,569
					N_{17}	-0,774
					H_{18}	0,352
					H_{19}	0,287
					H_{24}	0,348
					H_{25}	0,369
					H_{37}	0,337
					H_{38}	0,386
Дипольный момент, Д	0,9731		3,6351		1,9331	
$n_{\text{экт}}$	1		1		2	

* - номера атомов указаны на рисунках 4 а), 5 а) и 6 в соответствующих комплексах

Применение компьютерной программы «Денситометр «Сорбфил»
для анализа хроматограмм разделения анестетиков

Сканированное цветное изображение (разрешение 300 dpi) хроматограммы разделения анестетиков загружали в программу «Денситометр «Сорбфил». Устанавливали старт и фронт, а также отмечали границы трека.

Проводили расчет трека, щелкнув мышью по кнопке «Расчет трека» на панели инструментов. В результате получали аналоговую кривую (хроматограмму), пики которой соответствовали пятнам трека (1 – новокаину, 2 – анестезину). Регулировали порог чувствительности (рисунок 4).

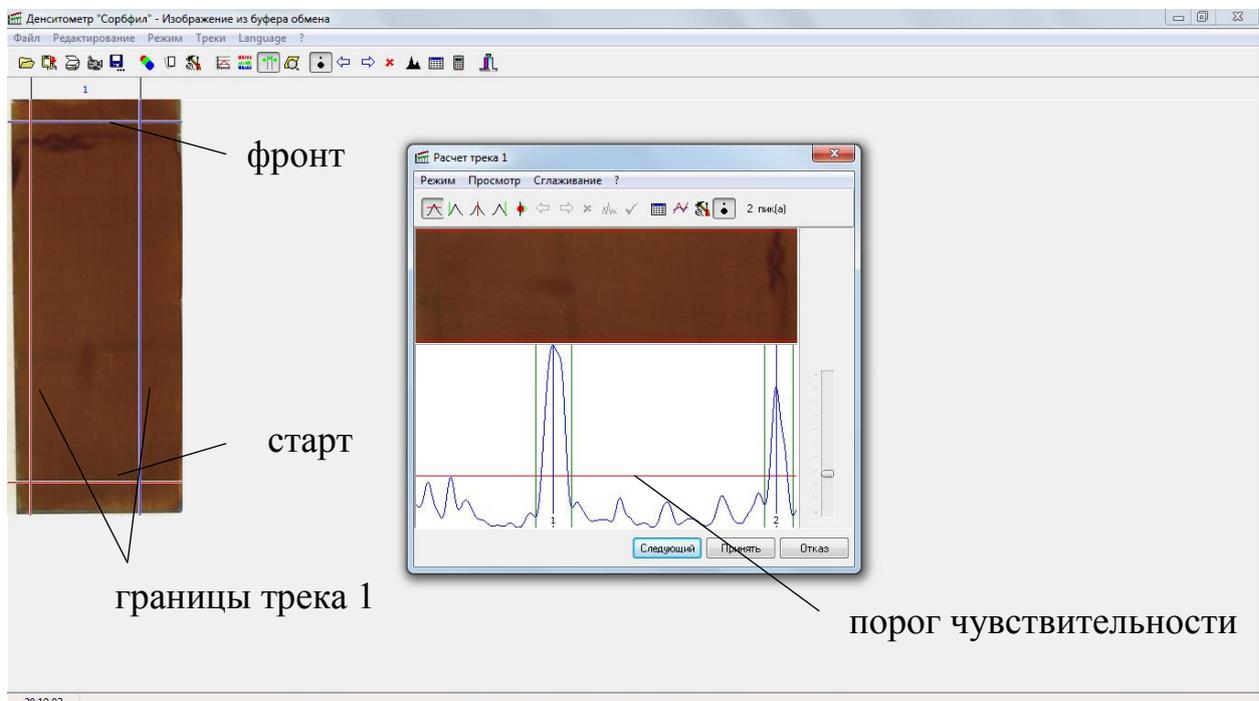


Рисунок 7 – Окно программы «Денситометр «Сорбфил» при расчете трека 1

Результаты расчета трека получали при нажатии на клавишу . Отчет о треке включает в себя результаты R_f , пробег пятна L , площадь пика S , отношение площади пика к сумме площадей всех пиков $\%S$, высота пика H , отношение высоты пика к сумме высот всех пиков $\%H$, NTP – число теоретических тарелок, $uNTP$ – удельное число теоретических тарелок, As – асимметрия пика (рисунок 5). Для построения градуировочного графика для определения концентрации анестетиков в пробе использовали полученные значения площадей пиков при известной концентрации. Увеличенное изображение полученной исходной хроматограммы раз-

деления новокаина и анестезина, а также ее сглаженное изображение по 3, 5, 7, 9 и 11 точкам приведено на рисунке 6.

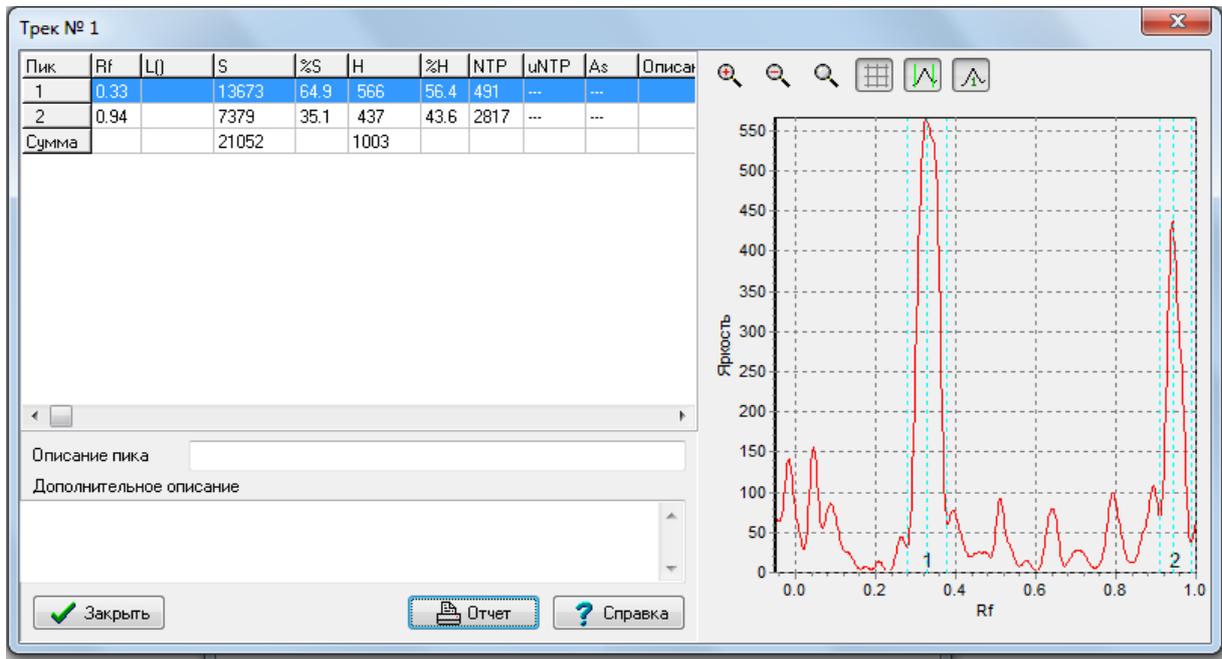


Рисунок 8 – Результаты расчета трека

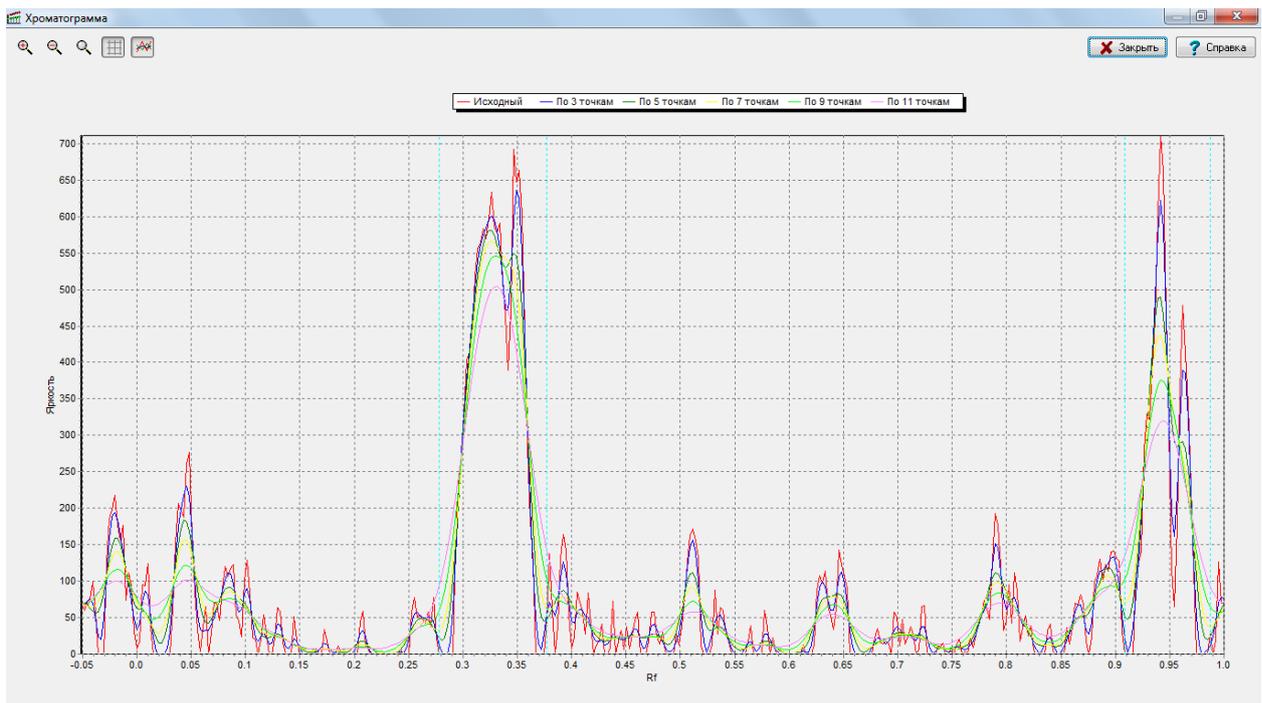
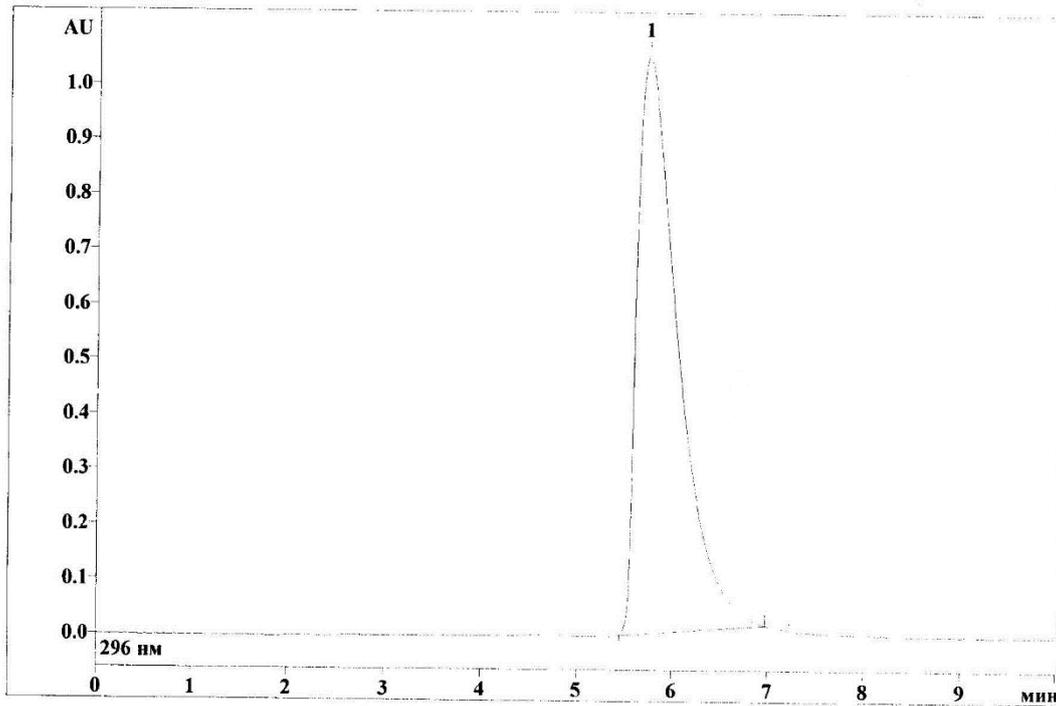


Рисунок 9 – Вид исходной и сглаженной хроматограммы разделения новокаина и анестезина



РЕЗУЛЬТАТЫ РАСЧЕТА

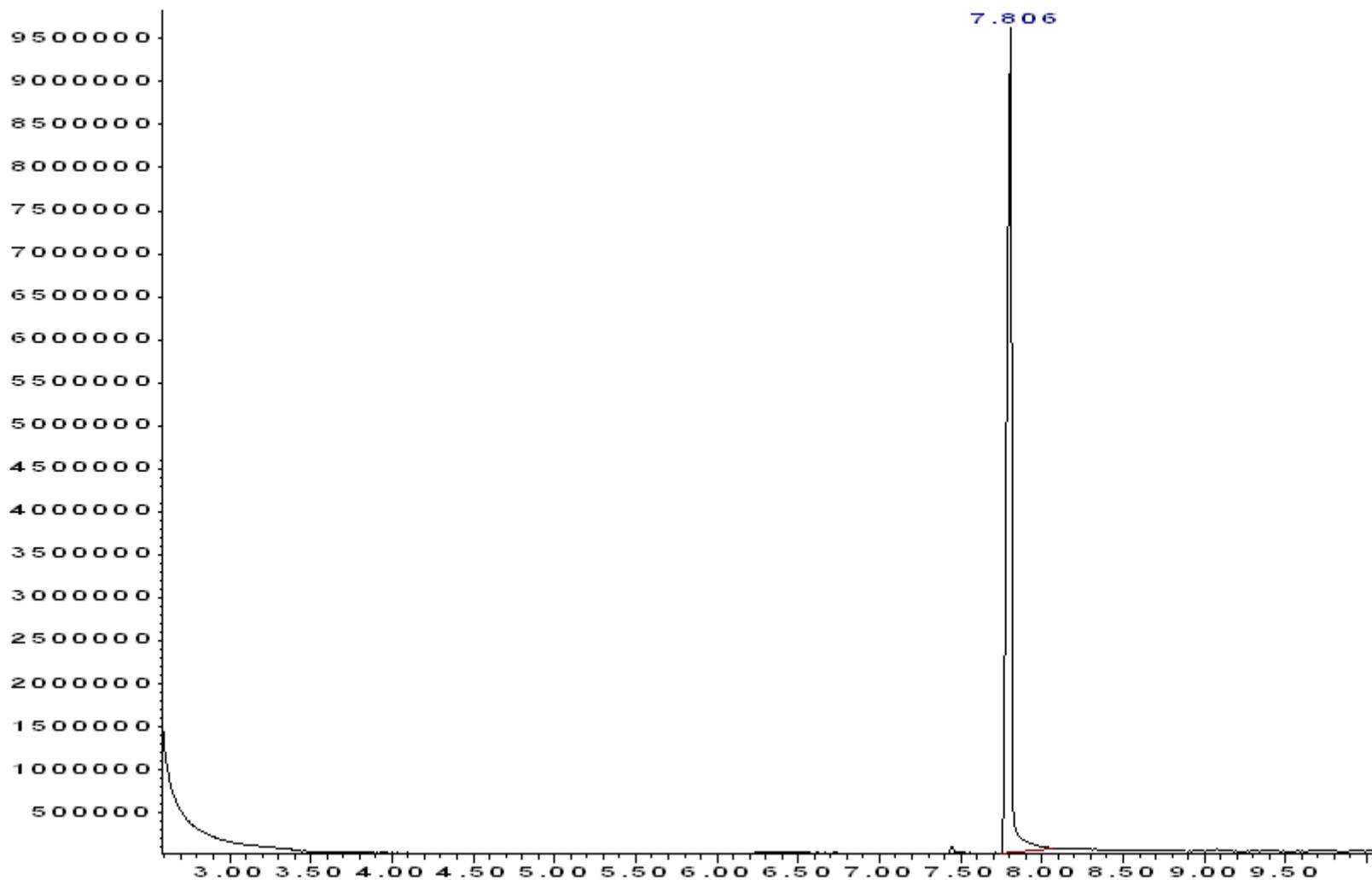
Метод расчета: Заказной
 Стандарт: No

No	Время мин	Высота AU	Площадь AU*сек	ТТ	Асимм.
1	5.733	1.05	31.26	836	3.84

Отчет выдан программой МультиХром для Windows
 © 1993-2002 Ampersand Ltd.

Рисунок 10 – ВЭЖХ-хроматограмма очищенного экстракцией и хроматографией в тонком слое экстракта плазмы крови, содержащего новокаин

Abundance



Time-->

Рисунок 11 – Газовая хроматограмма очищенного экстракцией и хроматографией в тонком слое экстракта мочи, содержащей лидокаин

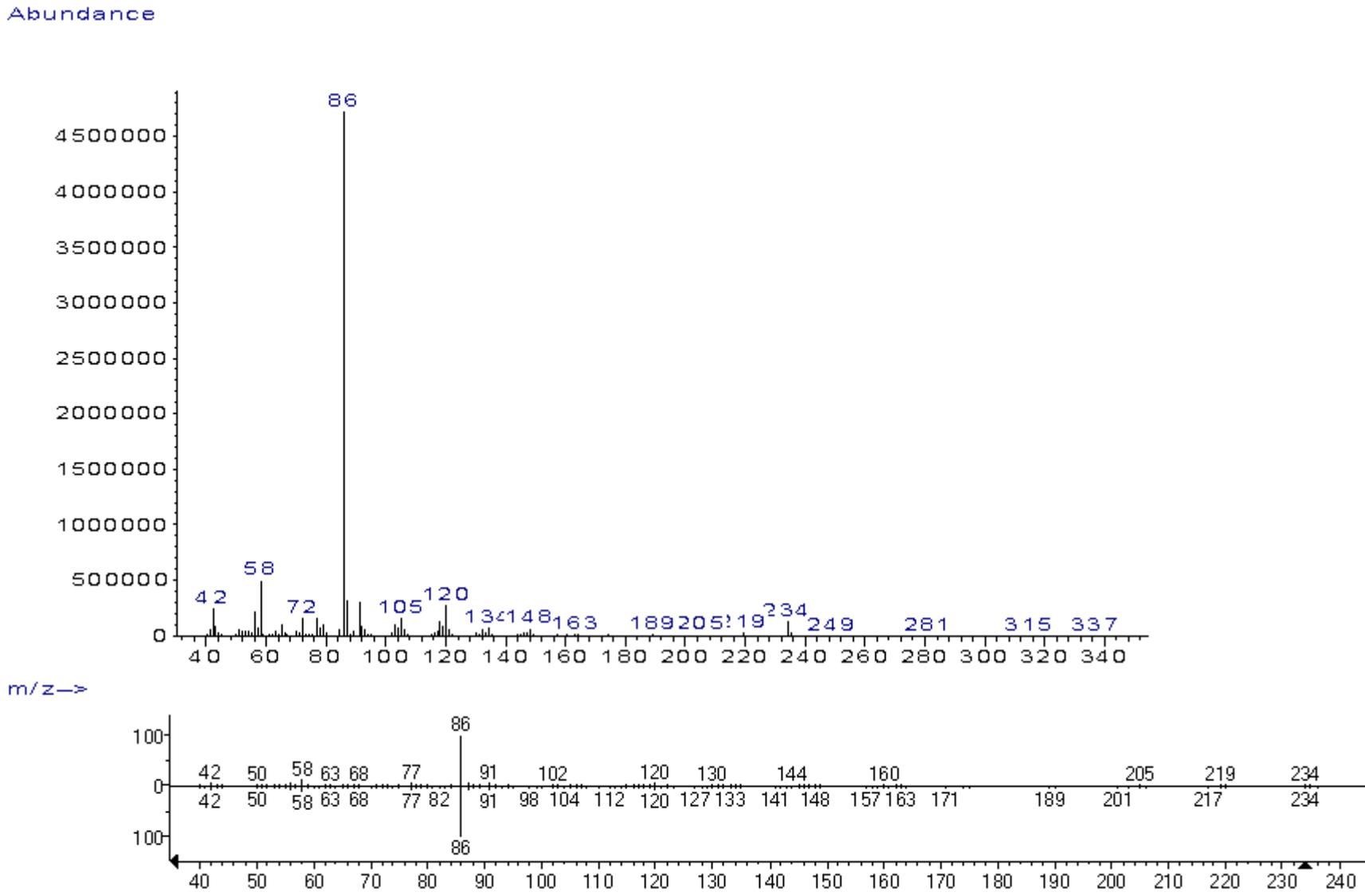
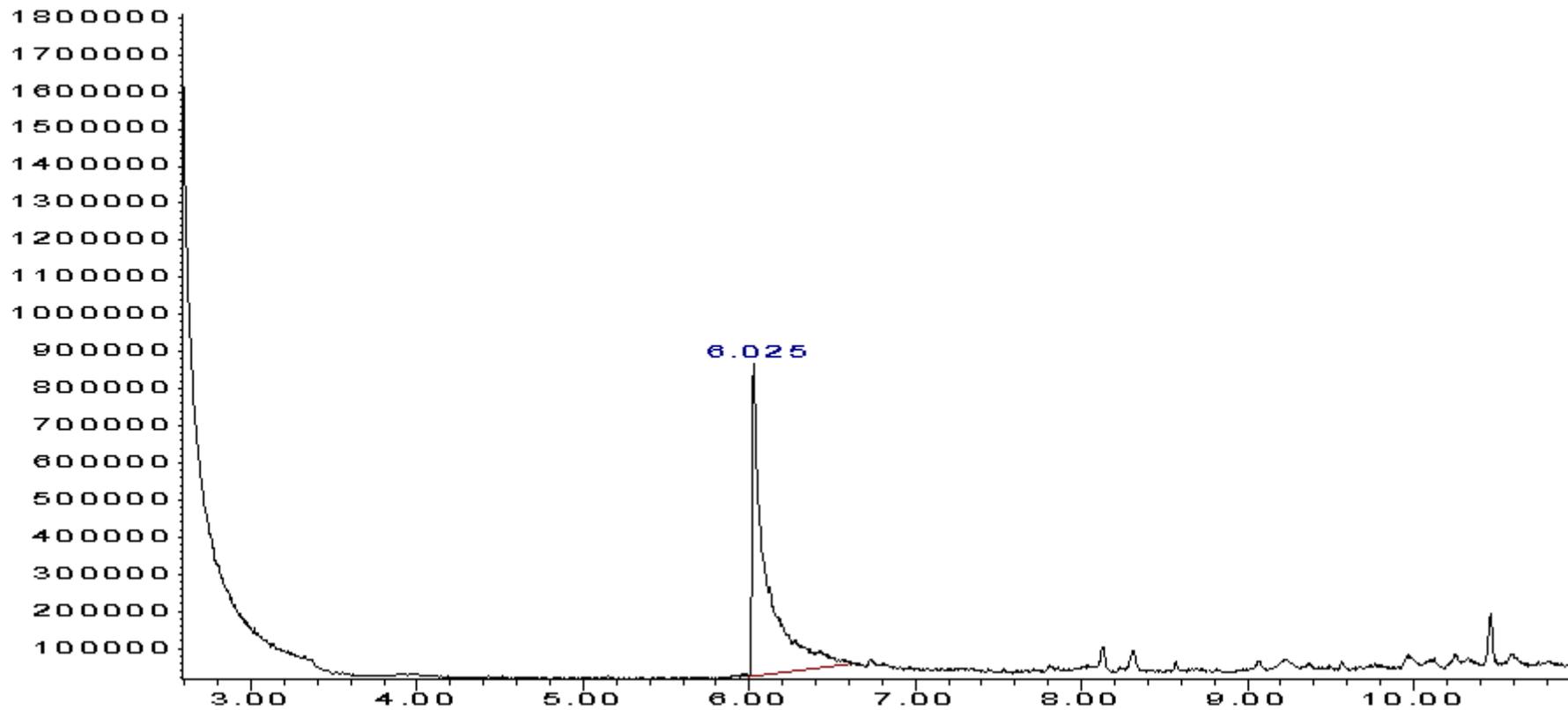


Рисунок 12 – Масс-спектр лидокаина в очищенном экстракцией и хроматографией в тонком слое экстракте мочи

Abundance



Time-->

Рисунок 13 – Газовая хроматограмма очищенного экстракцией и хроматографией в тонком слое экстракта печени, содержащей анестезин

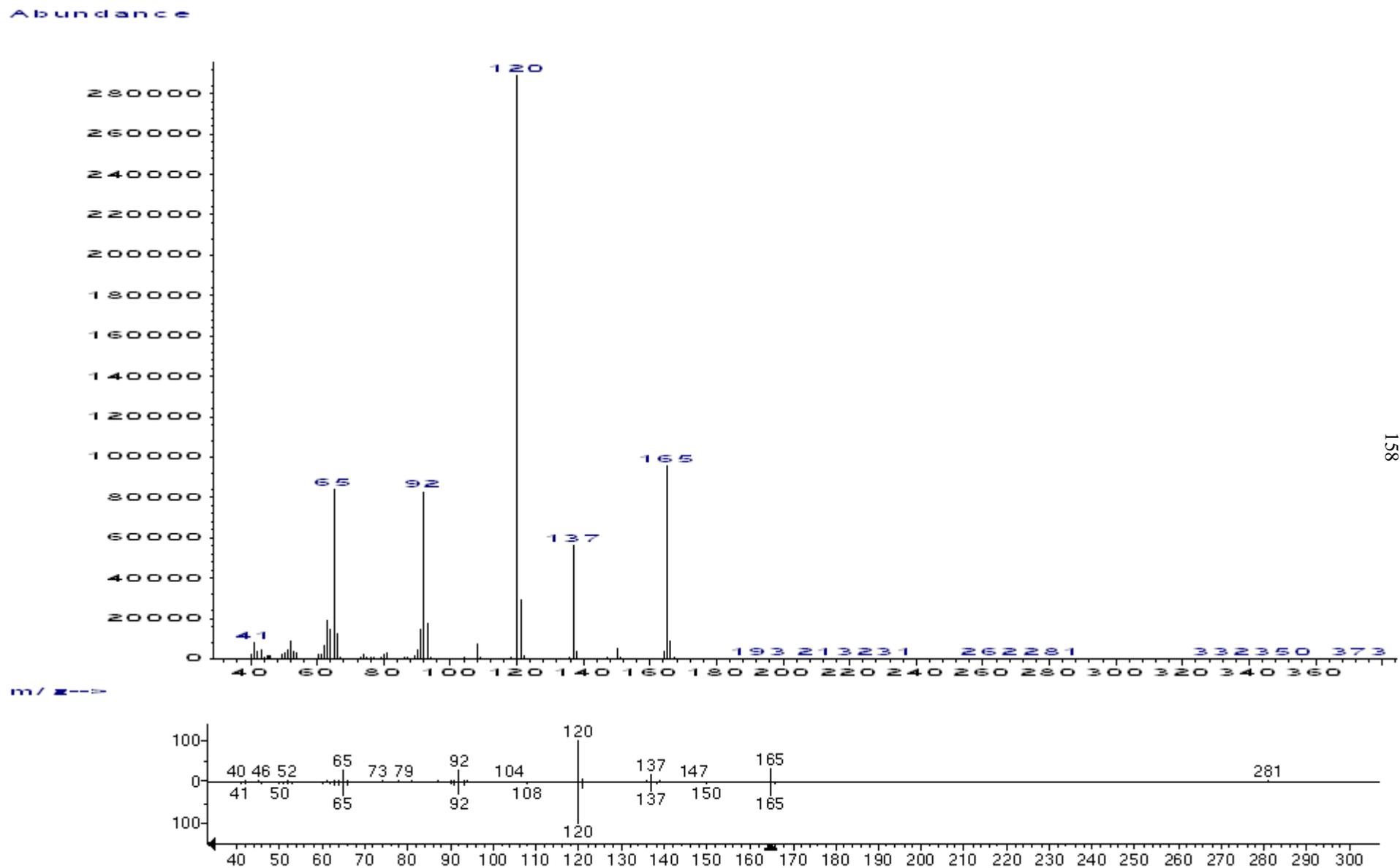


Рисунок 14 – Масс-спектр анестезина в очищенной экстракцией и хроматографией в тонком слое экстракте печени

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2517127

СПОСОБ ЭКСТРАКЦИИ НОВОКАИНА ИЗ ВОДНЫХ СРЕД
СМЕСЬЮ ФЕНЕТОЛА И ЭТИЛАЦЕТАТА

Патентообладатель(ли): *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Воронежский государственный университет инженерных технологий" (ФГБОУ ВПО "ВГУИТ") (RU)*

Автор(ы): *см. на обороте*

Заявка № 2012153942

Приоритет изобретения 14 декабря 2012 г.

Зарегистрировано в Государственном реестре изобретений Российской Федерации 27 марта 2014 г.

Срок действия патента истекает 14 декабря 2032 г.

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Б.П. Симонов



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(19) **RU** (11) **2 517 127** (13) **C1**

(51) МПК
G01N 33/15 (2006.01)
B01D 11/04 (2006.01)

(12) ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

(21)(22) Заявка: 2012153942/15, 14.12.2012

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
14.12.2012

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 14.12.2012

(45) Опубликовано: 27.05.2014 Бюл. № 15

(56) Список документов, цитированных в отчете о
поиске: Okada, S. The Role of Solvent in the
Partition of Procaine and p-Aminobenzoic Acid
between Organic Solvent and Water // Chem.
Pharm. Bull. " 1985. " V. 33, N11. " P.4916 " 4922. SU 57613 A1, 10.10.1940. Садиков З.К.
Изолирование, обнаружение и определение
новокаина и П-аминобензойной кислоты при
судебно-химических исследованиях.
Автореферат (см. прод.)

Адрес для переписки:

394036, обл. Воронежская, г. Воронеж, пр-кт
Революции, д. 19, ФГБОУ ВПО
"Воронежский государственный университет
инженерных технологий" ("ВГУИТ"), отдел
интеллектуальной собственности

(72) Автор(ы):

Коренман Яков Израильевич (RU),
Чибисова Татьяна Викторовна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего
профессионального образования
"Воронежский государственный университет
инженерных технологий" (ФГБОУ ВПО
"ВГУИТ") (RU)

(54) СПОСОБ ЭКСТРАКЦИИ НОВОКАИНА ИЗ ВОДНЫХ СРЕД СМЕСЬЮ ФЕНЕТОЛА И ЭТИЛАЦЕТАТА**(57) Формула изобретения**

Способ экстракции новокаина из водных сред смесью фенетола и этилацетата, характеризующийся тем, что готовят водно-солевой раствор новокаина, для чего водный раствор новокаина с известной концентрацией помещают в мерную колбу, доводят до метки насыщенным раствором высаливателя, в качестве которого используют сульфат аммония, экстрагируют новокаин смесью фенетола и этилацетата, взятых в соотношении 1:1, для этого к полученному водно-солевому раствору новокаина добавляют в качестве экстрагента смесь фенетола и этилацетата (1:1) при соотношении объемов фаз водно-солевого раствора новокаина и экстрагента 5:1, экстрагируют на вибросмесителе до установления межфазного равновесия, после расслаивания системы водно-солевой раствор отделяют от органической фазы и анализируют методом УФ-спектрофотометрии, измеряют оптическую плотность водно-солевого раствора на УФ-спектрофотометре при длине

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

**ПАТЕНТ**

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2537179

СПОСОБ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПРОКАИНА В ПЛАЗМЕ КРОВИ

Патентообладатель(ли): *Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Курский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации" (RU)*

Автор(ы): *см. на обороте*

Заявка № 2013135819

Приоритет изобретения 30 июля 2013 г.

Зарегистрировано в Государственном реестре изобретений Российской Федерации 31 октября 2014 г.

Срок действия патента истекает 30 июля 2033 г.

*Врио руководителя Федеральной службы
по интеллектуальной собственности*

Л.Л. Кирий



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

(19) **RU** (11) **2 537 179** (13) **C1**

(51) МПК
 G01N 33/15 (2006.01)
 G01N 33/50 (2006.01)
 G01N 30/06 (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

(21)(22) Заявка: 2013135819/15, 30.07.2013

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
30.07.2013

Приоритет(ы):
 (22) Дата подачи заявки: 30.07.2013

(45) Опубликовано: 27.12.2014 Бюл. № 36

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: Beaumier P. et al. Procaine determination after administering various procaine formulations to standardbreds // Proceedings of the 6th International Conference of Racing Analysis and Veterinarians. - Hong Kong, 1985. - P.209-216. Мелентьев А.Б. Скрининг лекарственных, наркотических веществ и их метаболитов методом газовой хроматографии с (см. прод.)

Адрес для переписки:
 305041, г.Курск, ул. К. Маркса, 3, КГМУ,
 патентный отдел, Куприковой З.Н.

(72) Автор(ы):

Шорманов Владимир Камбулатович (RU),
 Коренман Яков Израильевич (RU),
 Чибисова Татьяна Викторовна (RU),
 Галушкин Святослав Геннадьевич (RU),
 Ярош Кристина Николаевна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Государственное бюджетное
 образовательное учреждение высшего
 профессионального образования "Курский
 государственный медицинский университет
 Министерства здравоохранения Российской
 Федерации" (RU)

RU
 2 5 3 7 1 7 9
 C 1

(54) СПОСОБ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПРОКАИНА В ПЛАЗМЕ КРОВИ**(57) Формула изобретения**

Способ определения прокаина в плазме крови, состоящий в том, что в анализируемую пробу вводят фторид натрия, образующийся раствор подщелачивают буферным раствором, экстрагируют двукратно порциями органического экстрагента, отдельные экстракты отделяют, объединяют, экстрагент испаряют до сухого остатка, остаток растворяют, хроматографируют методом ВЭЖХ с применением обращеннофазового сорбента, полярной подвижной фазы и УФ-детектора, регистрируют оптическую плотность и вычисляют количество анализируемого соединения по площади хроматографического пика, отличающийся тем, что фторид натрия в анализируемую пробу вводят для создания концентрации 10 мг/мл, после введения фторида натрия полученную смесь обрабатывают ацетоном, извлечение отделяют от выпавшего осадка путем фильтрования, ацетон из фильтрата испаряют в токе воздуха при комнатной температуре, водный остаток разбавляют путем прибавления воды, образующийся раствор обрабатывают сульфатом аммония, подщелачивают аммонийным буферным раствором до pH 9,0-9,5, в качестве органического экстрагента используют 30% раствор камфоры в метилацетате, соотношение водной и органической фаз составляет 1:1 по объему, после испарения экстрагента до сухого остатка остаток хроматографируют в

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2546294

**СПОСОБ ОПРЕДЕЛЕНИЯ НОВОКАИНА В
БИОЛОГИЧЕСКОМ МАТЕРИАЛЕ**

Патентообладатель(и): *Шорманов Владимир Камбулатович (RU),
Коренман Яков Израильевич (RU), Чибисова Татьяна
Викторовна (RU), Галушкин Святослав Геннадьевич (RU)*

Автор(ы): *см. на обороте*

Заявка № 2013156726

Приоритет изобретения 19 декабря 2013 г.

Зарегистрировано в Государственном реестре
изобретений Российской Федерации 02 марта 2015 г.

Срок действия патента истекает 19 декабря 2033 г.

*Врио руководителя Федеральной службы
по интеллектуальной собственности*

Л.Л. Кирий



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 546 294** ⁽¹³⁾ **C1**

(51) МПК
A61K 31/245 (2006.01)
G01N 33/50 (2006.01)
G01N 30/02 (2006.01)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2013156726/15, 19.12.2013
(24) Дата начала отчета срока действия патента:
19.12.2013
Приоритет(ы):
(22) Дата подачи заявки: 19.12.2013
(45) Опубликовано: 10.04.2015 Бюл. № 10
(56) Список документов, цитированных в отчете о
поиске: САДЫКОВ Э.К. Изолирование,
обнаружение и определение новокаина и . n
" аминокбензойной кислоты при судебно-
химических исследованиях: Автореферат
дисс. на соискание ученой степени канд.
фарм. наук. " Московская медицинская
академия им. И.М.Сеченова, М, 1990, . с. 11,
13, 14-16. RU 2463600 C1, 10.10.2012. SU
1529086 A1, 15.12.1989. SU 1415159 A1,
07.08.1988. SU 957076 A1, 07.09.1982. RU
2018113 C1, 15.08.1994

Адрес для переписки:
305045, г.Курск, ул. Менделеева, 63, ка. 74,
Галушкину Святославу Геннадьевичу

(72) Автор(ы):
Шорымов Владимир Камбулатович (RU),
Кореньян Яков Израильевич (RU),
Чибисова Татьяна Викторовна (RU),
Галушкин Святослав Геннадьевич (RU),
Яросл Кристина Николаевна (RU)

(73) Патентообладатель(и):
Шорымов Владимир Камбулатович (RU),
Кореньян Яков Израильевич (RU),
Чибисова Татьяна Викторовна (RU),
Галушкин Святослав Геннадьевич (RU)

RU 2 546 294 C 1

RU 2 546 294 C 1

(54) СПОСОБ ОПРЕДЕЛЕНИЯ НОВОКАИНА В БИОЛОГИЧЕСКОМ МАТЕРИАЛЕ

(57) Реферат:
Изобретение относится к биологии и
токсикологической химии и может быть
использовано в практике химико-
токсикологических, экспертно-
криминалистических и клинических лабораторий.
Способ осуществляется следующим образом:
биологический материал, содержащий новокаин,
измельчают, трижды обрабатывают ацетоном,
содержащим 0,2-0,4% воды, жидкое извлечение
отделяют, ацетон из жидкого извлечения
упаривают вместе с водой в токе воздуха при
температуре 18-22°C до полного удаления
растворителя, остаток, полученный в результате
упаривания, неоднократно обрабатывают
ацетоном, содержащим 0,2-0,4% воды, ацетоновые
извлечения отделяют, объединяют, растворитель
из объединенного извлечения испаряют, остаток

растворяют в диэтиловом эфире, полученный
раствор разбавляют гексаном в соотношении 1:1
по объему, экстрагируют буферным раствором
с pH 1-2, цикло-водный экстракт отделяют,
нейтрализуют 10% раствором аммиака,
подщелачивают аммонийным буферным
раствором до pH 9,0-9,5, образующийся водно-
щелочной раствор насыщают сульфатом
аммония, экстрагируют двукратно порциями
органического экстрагента, в качестве которого
используют 30% раствор камфоры в
метилцеллозате, при соотношении водной и
органической фаз 1:1 по объему, органические
экстракты отделяют, объединяют, растворитель
из объединенного экстракта испаряют в токе
воздуха при температуре 18-22°C до сухого
остатка, остаток растворяют в смеси

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ПО РЕЗУЛЬТАТАМ ЭКСПЕРТИЗЫ

(21) Заявка № 2014117440/15(027595)

(22) Дата подачи заявки 29.04.2014

(24) Дата начала отсчета срока действия патента 29.04.2014

ПРИОРИТЕТ УСТАНОВЛЕН ПО ДАТЕ

(22) подачи заявки 29.04.2014

(72) Автор(ы) Мокшина Н.Я., Цыплухина Ю.В., Коренман Я.И., Чибисова Т.В., Пахомова О.А., RU

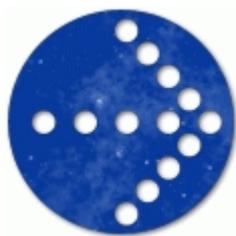
(73) Патентообладатель(и) Российская Федерация, от имени которой выступает Министерство обороны Российской Федерации, RU, Федеральное государственное казенное военное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Военный учебно-научный центр Военно-воздушных сил "Военно-воздушная академия имени профессора Н.Е. Жуковского и Ю.А. Гагарина" (г. Воронеж) Министерства обороны Российской Федерации, RU

(54) Название изобретения Способ извлечения новокаина из водного раствора

(см. на обороте)

01	1	151315
----	---	--------

ВНИМАНИЕ! С целью исключения ошибок просьба проверить сведения, приведенные в заключении, т.к. они без изменения будут внесены в Государственный реестр изобретений Российской Федерации, и незамедлительно сообщить об обнаруженных ошибках.



МИНИСТЕРСТВО ПРОМЫШЛЕННОСТИ И ЭНЕРГЕТИКИ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
РОССИЙСКОЕ ОБЪЕДИНЕНИЕ ИНФОРМАЦИОННЫХ
РЕСУРСОВ НАУЧНО-ТЕХНИЧЕСКОГО РАЗВИТИЯ
(РОСИНФОРМРЕСУРС)

ИНФОРМАЦИОННЫЙ ЛИСТОК
36-060-13

Экстракционно-хроматографическое определение анестезина в таблетках «Павестезин»

УДК

543.635.9

ГРНТИ

31.19 Аналитическая химия

Раздел науки и техники

Аналитическая химия

Классификация технологий

Синтез лекарственных средств и пищевых добавок, 4 технологический уклад

Назначение новшества

Контроль содержания анестезина в таблетках «Павестезин» в фармацевтической промышленности.

Рекомендуемая область применения

Исследование лекарственных средств в медицинской и фармацевтической промышленности

Техническая характеристика

Отсутствует

Описание

Результат выполнения научно-исследовательских работ

Методика основана на экстракции анестезина этилацетатом и хроматографировании концентрата.

Методика анализа. Таблетку измельчали и растворяли при нагревании в 50 см³ дистиллированной воды. Полученную суспензию фильтровали, к 10 см³ фильтрата прибавляли кристаллический карбонат калия до насыщения. Анестезин экстрагировали этилацетатом в течение 10 мин при соотношении объемов водно-солевой и органической фаз 15 : 3. После расслаивания, экстракт отделяли от водной фазы и наносили на линию старта хроматографической пластины типа «Сорбфил» UV - 254 в количестве 0,001 см³. В качестве подвижной фазы применяли систему растворителей гексан - ацетон - ацетонитрил - трихлоруксусная кислота (3:3:3:0.1). Хроматографировали в присутствии стандарта. Проявляли пятна реактивом Драгендорфа, анестезин идентифицировали по величине коэффициента подвижности. Хроматограммы сканировали. Содержание анестезина в мази «Ауробин» рассчитывали с применением компьютерной программы «Денситометр «Сорбфил» по градуировочному графику в координатах: $y = 262 \cdot x + 14,7$, где x - количество вещества, y - площадь пятна.

Преимущества перед известными аналогами

В аналогах при экстракции анестезина из водных сред пентилацетатом степень извлечения составляет 93,2 %, что не обеспечивает его практически полного извлечения.

Сертификат качества

Отсутствует

Стадия освоения

Способ (метод) проверен в лабораторных условиях

Результаты испытаний, внедрения

Технология обеспечивает получение стабильных результатов

Технико-экономический эффект

В органическую фазу переходит 99 % анестезина, что позволяет определять его в таблетках «Павестезин» с погрешностью не более 7 %.

Энергоэффективность

-

Сведения о государственной регистрации

Государственная регистрация отсутствует

Сведения об изобретении

Отсутствует

Шифр документации

ЭСОНВС НО 10081/10

Инновационное предложение

Отсутствует

Формы и условия передачи результатов НТР

По договору, стоимость от 40 тыс. руб.

Возможность передачи за рубеж

Возможна передача за рубеж

Предложения по сотрудничеству

Совместное проведение доработки до промышленного уровня

Организация-разработчик

ВГУИТ
394036, г. Воронеж, пр. Революции, 19
Телефон: (473) 255-07-62
Факс: (473) 255-07-62
Электронная почта: tatya-chibiso@yandex.ru

Организация-консультант

Воронежский ЦНТИ- филиал ФГБУ "РЭА" Минэнерго России
394036, г.Воронеж, пр.Революции, 30
Телефон: (473) 252-72-98
Факс: (473) 252-72-98

Электронная почта: cnti@intercon.ru

Консультант

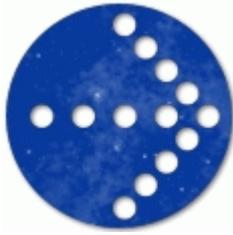
Семенова З.П., начальник отдела генерации баз данных
Телефон: (473) 255-17-12
Факс: (473) 255-17-12
Электронная почта: ntdcnti@mail.ru

Составители

Т.В. Чибисова, аспирант, Я.И. Коренман, профессор, д.х.н., П.Т. Суханов, профессор,
д.х.н. Разрешено к публикации в БД

Дата поступления материала

22.11.2013



МИНИСТЕРСТВО ПРОМЫШЛЕННОСТИ И ЭНЕРГЕТИКИ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
РОССИЙСКОЕ ОБЪЕДИНЕНИЕ ИНФОРМАЦИОННЫХ
РЕСУРСОВ НАУЧНО-ТЕХНИЧЕСКОГО РАЗВИТИЯ
(РОСИНФОРМРЕСУРС)

ИНФОРМАЦИОННЫЙ ЛИСТОК
36-017-14

Экстракционно- спектрофотометрическое определение лидокаина в креме «Долопрокт»

УДК

543.635.9

ГРНТИ

31.19 Аналитическая химия

Раздел науки и техники

Аналитическая химия

Классификация технологий

Синтез лекарственных средств и пищевых добавок, 4 уклад

Назначение новшества

Контроль качества лекарственных средств в фармацевтической промышленности

Рекомендуемая область применения

Медицина, фармацевтическая промышленность

Техническая характеристика

Отсутствует

Описание

Результат научно-исследовательских работ

Методика основана на экстракции лидокаина раствором дибутилфталата в этиловом спирте (1:10 об. д.), хроматографировании концентрата и последующем спектрофотометрировании элюата.

Крем (25 мг) растворяли при нагревании в 50 см³ дистиллированной воды. Полученную суспензию фильтровали, к 10 см³ фильтрата прибавляли

карбонат калия до насыщения. Лидокаин экстрагировали раствором дибутилфталата в этиловом спирте (1:10 об. д.) в течение 10 мин при соотношении объемов водно-солевой и органической фаз 15 : 3. После расслаивания, экстракт отделяли от водной фазы и наносили на линию старта хроматографической пластины типа «Сорбфил» UV - 254 в количестве 0,01 см³. В качестве подвижной фазы применяли систему

растворителей хлороформ : этиловый спирт (1:1). Хроматографировали в присутствии стандарта. Проявляли пятна в УФ-свете, лидокаин идентифицировали по величине коэффициента подвижности.

После хроматографирования методом ТСХ участок хроматограммы с пятном лидокаина вырезали, помещали в пробирку, элюировали исследуемое вещество из сорбента

5 см³этанола в течение 15 мин.

Содержание лидокаина в элюате измеряли на спектрофотометре SHIMADZUUVMINI-1240 (кварцевая кювета, $l = 1$ см, $\lambda_{\max} = 272$ нм).

Для определения количества лидокаина в элюате применяли уравнение градуировочного графика $A = 1,3843 \cdot x + 0,0242$, где A - оптическая плотность элюата, x - концентрация лидокаина, мкг/см³.

Содержание лидокаина в креме «Долопрокт» рассчитывали с учетом разбавления / концентрирования в ходе выполнения анализа.

Преимущества перед известными аналогами

Обычно олеиновый спирт применяется в качестве экстрагента при экстракции лидокаина. Степень извлечения при этом составляет 20 %, что не обеспечивает его полного извлечения

Сертификат качества

Отсутствует

Стадия освоения

Способ (метод) проверен в лабораторных условиях

Результаты испытаний, внедрения

Технология обеспечивает получение стабильных результатов

Технико-экономический эффект

В органическую фазу переходит ~ 98 % лидокаина, что позволяет определять его в креме «Долопрокт» с погрешностью не более 10 %.

Энергоэффективность

-

Сведения о государственной регистрации

Государственная регистрация отсутствует

Сведения об изобретении

Отсутствует

Шифр документации

ЭСОНВС НО 10081

Инновационное предложение

Отсутствует

Формы и условия передачи результатов НТР

По договору, стоимость от 55 тыс. руб

Возможность передачи за рубеж

Возможна передача за рубеж

Предложения по сотрудничеству

Совместное проведение доработки до промышленного уровня

Организация-разработчик

ВГУИТ
394036, г. Воронеж, пр. Революции, 19
Телефон: (473) 255-07-62
Факс: (473) 255-07-62
Электронная почта: tatya-chibiso@yandex.ru

Организация-консультант

Воронежский ЦНТИ- филиал ФГБУ "РЭА" Минэнерго России
394036, г. Воронеж, пр. Революции, 30
Телефон: (473) 252-72-98
Факс: (473) 252-72-98
Электронная почта: cnti@intercon.ru

Консультант

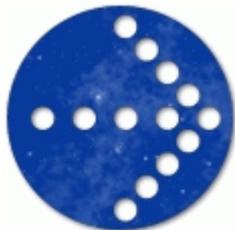
Семенова З.П.
Телефон: (473) 255-17-12
Факс: (473) 255-17-12
Электронная почта: ntdcnti@mail.ru

Составители

Т.В. Чибисова, аспирант, Я.И. Коренман, профессор, д.х.н. , П.Т. Суханов, профессор, д.х.н. Разрешено к публикации в БД

Дата поступления материала

18.04.2014



МИНИСТЕРСТВО ПРОМЫШЛЕННОСТИ И ЭНЕРГЕТИКИ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
РОССИЙСКОЕ ОБЪЕДИНЕНИЕ ИНФОРМАЦИОННЫХ
РЕСУРСОВ НАУЧНО-ТЕХНИЧЕСКОГО РАЗВИТИЯ
(РОСИНФОРМРЕСУРС)

ИНФОРМАЦИОННЫЙ ЛИСТОК
36-018-14

Экстракционное извлечение и определение методом хроматографии в тонком слое лидокаина в геле «Калгель»

УДК

543.635.9

ГРНТИ

31.19 Аналитическая химия

Раздел науки и техники

Аналитическая химия

Классификация технологий

Синтез лекарственных средств и пищевых добавок, 4 технологический уклад

Назначение новшества

Контроль качества лекарств в фармацевтической промышленности

Рекомендуемая область применения

Медицина, фармацевтическая промышленность

Техническая характеристика

Отсутствует

Описание

Результат выполнения научно-исследовательских работ

Методика основана на экстракции лидокаина раствором диэтилфталата в этилацетате (1:5 об. д.) и хроматографировании концентрата.

Гель (25 мг) растворяли при нагревании в 30 см³ дистиллированной воды. Полученную суспензию фильтровали, к 10 см³ фильтрата прибавляли

карбонат калия до насыщения. Лидокаин экстрагировали раствором диэтилфталата в этилацетате (1:5 об. д.) в течение 10 мин при соотношении объемов водно-солевой и органической фаз 15 : 3. После расслаивания, экстракт отделяли от водной фазы и наносили на линию старта хроматографической пластины типа «Сорбфил» UV - 254 в количестве 0,01 см³. В качестве подвижной фазы применяли систему растворителей

хлороформ : этиловый спирт (1:1). Хроматографировали в присутствии стандарта. Проявляли пятна реактивом Драгендорфа, лидокаин идентифицировали по величине коэффициента подвижности. Хроматограммы сканировали. Содержание лидокаина в геле «Калгель» рассчитывали с применением компьютерной программы «Денситометр «Сорбфил» по градуировочному графику в координатах: $y = 8936 \cdot x + 359$, где x - количество вещества, y - площадь пятна.

Преимущества перед известными аналогами

Аналогов нет

Сертификат качества

Отсутствует

Стадия освоения

Способ (метод) проверен в лабораторных условиях

Результаты испытаний, внедрения

Технология обеспечивает получение стабильных результатов

Технико-экономический эффект

В органическую фазу переходит ~ 97 % лидокаина, что позволяет определять его в геле «Калгель» с погрешностью не более 10 %.

Энергоэффективность

-

Сведения о государственной регистрации

Государственная регистрация отсутствует

Сведения об изобретении

Отсутствует

Шифр документации

ЭСОНВС НО 10081

Инновационное предложение

Отсутствует

Формы и условия передачи результатов НТР

По договору, стоимость от 40 тыс. руб

Возможность передачи за рубеж

Возможна передача за рубеж

Предложения по сотрудничеству

Совместное проведение доработки до промышленного уровня

Организация-разработчик

ВГУИТ
394036, г. Воронеж, пр. Революции, 19
Телефон: (473) 255-07-62
Факс: (473) 255-07-62
Электронная почта: tatya-chibiso@yandex.ru

Организация-консультант

Воронежский ЦНТИ- филиал ФГБУ "РЭА" Минэнерго России
394036, г.Воронеж, пр.Революции, 30
Телефон: (473) 252-72-98
Факс: (473) 252-72-98
Электронная почта: cnti@intercon.ru

Консультант

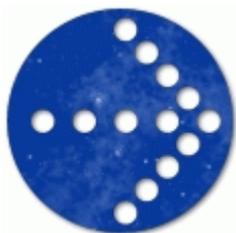
Семенова З.П.
Телефон: (473) 255-17-12
Факс: (473) 255-17-12
Электронная почта: ntdcnti@mail.ru

Составители

Т.В. Чибисова, аспирант , Я.И. Коренман, профессор, д.х.н., П.Т. Суханов, профессор,
д.х.н. Разрешено к публикации в БД

Дата поступления материала

18.04.2014



МИНИСТЕРСТВО ПРОМЫШЛЕННОСТИ И ЭНЕРГЕТИКИ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
РОССИЙСКОЕ ОБЪЕДИНЕНИЕ ИНФОРМАЦИОННЫХ
РЕСУРСОВ НАУЧНО-ТЕХНИЧЕСКОГО РАЗВИТИЯ
(РОСИНФОРМРЕСУРС)

ИНФОРМАЦИОННЫЙ ЛИСТОК
36-010-14

Экстракционно-хроматографическое определение лидокаина в ректальных суппозиториях «Гепазолон»

УДК

543.635.9

ГРНТИ

31.19 Аналитическая химия

Раздел науки и техники

Аналитическая химия

Классификация технологий

Синтез лекарственных средств и пищевых добавок, 4 уклад

Назначение новшества

Контроль содержания лидокаина в ректальных суппозиториях «Гепазолон» в фармацевтической промышленности

Рекомендуемая область применения

Медицина, фармацевтическая промышленность

Техническая характеристика

Отсутствует

Описание

Результат выполнения научно-исследовательских работ

Методика основана на экстракции лидокаина ацетон : этилацетат (0.5:0.5 мол. д.), хроматографировании концентрата и последующем спектрофотометрировании элюата.

Методика анализа.

Суппозиторий ректальный разрезали и растворяли при нагревании в 50 см³ дистиллированной воды. Полученную суспензию фильтровали, к 10 см³ фильтрата прибавляли кристаллический сульфат аммония до насыщения и аммонийный буферный раствор до pH = 7,5 - 8,5. Лидокаин экстрагировали смесью ацетон : этилацетат (0.5:0.5 мол. д.) в течение 10 мин при соотношении объемов водно-солевой и органической фаз 15 : 3. После расслаивания, экстракт отделяли от водной фазы и наносили на линию старта хроматографической пластины типа «Сорбфил» UV - 254 в количестве 0,1 см³. В качестве подвижной фазы применяли систему растворителей гексан - ацетон - ацетонитрил - трихлоруксусная кислота (3:3:3:0.1). Хроматографировали в присутствии стандарта. Проявляли пятна в УФ-свете, лидокаин идентифицировали по

величине коэффициента подвижности.

После хроматографирования методом ТСХ участок хроматограммы с пятном лидокаина вырезали, помещали в пробирку, элюировали исследуемое вещество из сорбента 5 см³ этанола в течение 15 мин. Содержание лидокаина в элюате измеряли на спектрофотометре SHIMADZUUVMINI-1240 (кварцевая кювета, $l = 1$ см, $\lambda_{\max} = 262$ нм). Для определения количества лидокаина в элюате применяли уравнение градуировочного графика $A = 1,3843 \cdot x + 0,0242$, где A - оптическая плотность элюата, x - концентрация лидокаина, мкг/см³. Содержание лидокаина в ректальных суппозиториях «Гепазолон» рассчитывали с учетом разбавления / концентрирования в ходе выполнения анализа.

Преимущества перед известными аналогами

Аналогов нет

Сертификат качества

Отсутствует

Стадия освоения

Способ (метод) проверен в лабораторных условиях

Результаты испытаний, внедрения

Технология обеспечивает получение стабильных результатов

Технико-экономический эффект

В органическую фазу переходит ~ 99 % лидокаина, что позволяет определять его в ректальных суппозиториях «Гепазолон» с погрешностью не более 10 %.

Энергоэффективность

-

Сведения о государственной регистрации

Государственная регистрация отсутствует

Сведения об изобретении

Отсутствует

Шифр документации

ЭСОНВС НО 10081/5

Инновационное предложение

Отсутствует

Формы и условия передачи результатов НТР

По договору, стоимость от 45 тыс. руб.

Возможность передачи за рубеж

Возможна передача за рубеж

Предложения по сотрудничеству

Совместное проведение доработки до промышленного уровня

Организация-разработчик

ВГУИТ

394036, г. Воронеж, пр. Революции, 19
Телефон: (473) 255-07-62
Факс: (473) 255-07-62
Электронная почта: tatya-chibiso@yandex.ru

Организация-консультант

Воронежский ЦНТИ - филиал ФГБУ "РЭА" Минэнерго России
394036, г. Воронеж, пр- Революции, 30
Телефон: (473) 252-72-98
Факс: (473) 252-72-98
Электронная почта: cnti@intercon.ru

Консультант

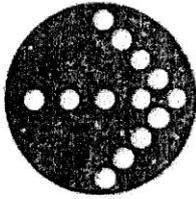
Семенова З.П.
Телефон: (473) 255-17-12
Факс: (473) 255-17-12
Электронная почта: ntdcnti@mail.ru

Составители

Т.В. Чибисова, аспирант, Я.И. Коренман, профессор, д.х.н., П.Т. Суханов, профессор,
д.х.н. Разрешено к публикации в БД

Дата поступления материала

24.02.2014



МИНИСТЕРСТВО ПРОМЫШЛЕННОСТИ И ЭНЕРГЕТИКИ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
РОССИЙСКОЕ ОБЪЕДИНЕНИЕ ИНФОРМАЦИОННЫХ
РЕСУРСОВ НАУЧНО-ТЕХНИЧЕСКОГО РАЗВИТИЯ
(РОСИНФОРМРЕСУРС)

ИНФОРМАЦИОННЫЙ ЛИСТОК
36-046-12

Извлечение местного анестетика новокаина из водного раствора

УДК

543.635.9

ГРНТИ

31.19 Аналитическая химия

Раздел науки и техники

Аналитическая химия

Классификация технологий

Синтез лекарственных средств и пищевых добавок, 4 уклад

Назначение новшества

Для более полного извлечения новокаина с целью определения его количественного содержания

Рекомендуемая область применения

Фармацевтическая промышленность

Техническая характеристика

Отсутствует

Описание

Результат выполнения научно-исследовательских работ

Методика разработана в соответствии с программой научно-исследовательских работ кафедры физической и аналитической химии Воронежского государственного университета инженерных технологий и предназначена для экстракционного извлечения новокаина из водного раствора с целью его последующего количественного определения.

Извлечение новокаина основано на экстракции анестетика смесью этилацетата и изопропилового спирта в объемном соотношении 1:1 в присутствии высаливателя (сульфат аммония).

Методика анализа. Исходный раствор новокаина с концентрацией 5 мкг/см^3 готовят на насыщенном растворе сульфата аммония, поддерживают рН

на уровне 7,5 - 8,5 (аммонийный буферный раствор). Добавляют экстрагент, состоящий из смеси этилацетата и изопропилового спирта, соотношение объемов водно-солевого раствора новокаина и смеси экстрагентов 5:1. Экстрагируют в течение 5 мин на вибросмесителе. После установления межфазного равновесия

водную фазу отделяют от органической, оптическую плотность раствора измеряют на спектрофотометре SHIMADZUUVMINI-1240, $l=1$ см, $\lambda=291$ нм.

Степень извлечения новокаина вычисляют по формуле:

$$R = \frac{D}{D + f} \cdot 100\%$$

где D - коэффициент распределения новокаина между равновесной водной и органической фазами; f - соотношение объемов фаз.

Концентрацию новокаина в водной фазе находят по графику зависимости оптической плотности водно-солевого раствора от концентрации новокаина.

В результате экстракции в органическую фазу переходит ~ 98 % новокаина от его исходного содержания в анализируемом водном растворе. Погрешность определения находится в пределах 2 - 3%.

Преимущества перед известными аналогами

Обеспечивает достаточно полное извлечение новокаина из водного раствора

Сертификат качества

Отсутствует

Стадия освоения

Способ (метод) проверен в лабораторных условиях

Результаты испытаний, внедрения

Технология обеспечивает получение стабильных результатов

Технико-экономический эффект

В органическую фазу переходит ~ 98 % новокаина, что позволяет определять его в водных растворах с погрешностью не более 2 - 3 %.

Энергоэффективность

-

Сведения о государственной регистрации

Государственная регистрация отсутствует

Сведения об изобретении

Отсутствует

Шифр документации

ЭСОНВС НО 10081

Инновационное предложение

Отсутствует

Формы и условия передачи результатов НТР

По договору, стоимость 30 тыс.руб.

Возможность передачи за рубеж

Возможна передача за рубеж

Предложения по сотрудничеству

Совместное проведение доработки до промышленного уровня

Организация-разработчик

ВГУИТ
394036, г. Воронеж, пр. Революции, 19
Телефон: (473) 255-07-62
Факс: (473) 255-07-62
Электронная почта: tatyachibiso@yandex.ru

Организация-консультант

Воронежский ЦНТИ - филиал ФГБУ "РЭА" Минэнерго России
394036, г. Воронеж, пр-т Революции, 30
Телефон: (473) 255-29-63
Факс: (473) 252-72-98
Электронная почта: cnti@intercon.ru

Консультант

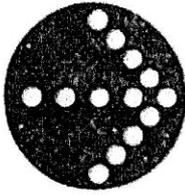
Семенова З.П.
Телефон: (473) 255-18-90
Факс: (473) 255-17-12
Электронная почта: ntdcnti@mail.ru

Составители

Т.В. Чибисова, аспирант, Я.И. Коренман, профессор, д.х.н. Разрешено к публикации в БД

Дата поступления материала

07.11.2012



МИНИСТЕРСТВО ПРОМЫШЛЕННОСТИ И ЭНЕРГЕТИКИ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
РОССИЙСКОЕ ОБЪЕДИНЕНИЕ ИНФОРМАЦИОННЫХ
РЕСУРСОВ НАУЧНО-ТЕХНИЧЕСКОГО РАЗВИТИЯ
(РОСИНФОРМРЕСУРС)

ИНФОРМАЦИОННЫЙ ЛИСТОК
36-060-12

Экстракционно-спектрофотометрическое определение новокаина в водных средах
УДК

543.635.9

ГРНТИ

31.19 Аналитическая химия

Раздел науки и техники

Аналитическая химия

Классификация технологий

Синтез лекарственных средств и пищевых добавок, 4 уклад.

Назначение новшества

Контроль качества лекарственных сред

Рекомендуемая область применения

Фармацевтическая промышленность

Техническая характеристика

Отсутствует

Описание

Данный материал является результатом научно-исследовательских работ кафедры физической и аналитической химии Воронежского государственного университета инженерных технологий и рекомендуется для определения количественного содержания местного анестетика новокаина в водных средах.

Методика основана на экстракции новокаина 1,2 - дихлорэтаном с применением высаливателя (сульфат аммония) и спектрофотометрировании равновесного водного раствора.

Методика анализа. Раствор новокаина на насыщенном сульфате аммония с концентрацией 30 мг/см^3 ($\text{pH}=7,5 - 8,5$ за счет добавления аммонийного буферного

раствора) экстрагируют 1,2 - дихлорэтаном. Соотношение объемов водно-солевого раствора новокаина и экстрагента 5:1. Экстрагируют 5 мин на

вибросмесителе. После установления межфазного равновесия водную фазу отделяют от органической, оптическую плотность раствора измеряют на

спектрофотометре SHIMADZUUVMINI-1240, $l=1 \text{ см}$, $\lambda=291 \text{ нм}$.

Коэффициенты распределения рассчитывают по формуле:

$$D = \frac{c_0}{c_{\text{в}}}$$

где c_0 и $c_{\text{в}}$ - концентрации новокаина в органической и водной фазах.

Концентрацию новокаина в водной фазе находят по градуировочному графику зависимости оптической плотности водного раствора от концентрации новокаина.

Продолжительность анализа 20 мин. Погрешность определения в пределах 2 - 3 %. Коэффициенты распределения новокаина составляет 139. Разработанная

методика позволяет быстро и точно определять содержание новокаина в водных средах.

Преимущества перед известными аналогами

Разработанная методика позволяет быстро и точно определять содержание новокаина в водных средах

Сертификат качества

Отсутствует

Стадия освоения

Способ (метод) проверен в лабораторных условиях

Результаты испытаний, внедрения

Технология обеспечивает получение стабильных результатов

Технико-экономический эффект

Минимально определяемая концентрация новокаина находится на уровне 20 мкг/см³, погрешность определения в пределах 2 - 3 %.

Энергоэффективность

-

Сведения о государственной регистрации

Государственная регистрация отсутствует

Сведения об изобретении

Отсутствует

Шифр документации

ЭСОНВС НО 10081

Инновационное предложение

Отсутствует

Формы и условия передачи результатов НТР

По договору, стоимость от 30 тыс. руб

Возможность передачи за рубеж

Возможна передача за рубеж

Предложения по сотрудничеству

Совместное проведение доработки до промышленного уровня

Организация-разработчик

Воронежский государственный университет инженерных технологий
394036, г. Воронеж, пр. Революции, 19
Телефон: (473) 255-07-62
Факс: (473) 255-07-62
Электронная почта: tatyachibiso@yandex.ru

Организация-консультант

Воронежский ЦНТИ - филиал ФГБУ "РЭА" Минэнерго России
394036, г. Воронеж, пр. Революции, 30
Телефон: (473) 255-29-63
Факс: (473) 252-72-98
Электронная почта: cnti@intercon.ru

Консультант

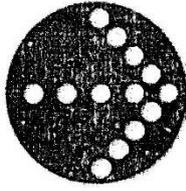
Семенова З.П., начальник отдела генерации баз данных
Телефон: (473) 255-17-12
Факс: (473) 255-17-12
Электронная почта: ntdcnti@mail.ru

Составители

Т.В. Чибисова, аспирант, Я.И. Коренман, профессор, д.х.н. Разрешено к публикации в БД

Дата поступления материала

03.12.2012



МИНИСТЕРСТВО ПРОМЫШЛЕННОСТИ И ЭНЕРГЕТИКИ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
РОССИЙСКОЕ ОБЪЕДИНЕНИЕ ИНФОРМАЦИОННЫХ
РЕСУРСОВ НАУЧНО-ТЕХНИЧЕСКОГО РАЗВИТИЯ
(РОСИНФОРМРЕСУРС)

ИНФОРМАЦИОННЫЙ ЛИСТОК
36-057-12

Спектрофотометрическое определение новокаина в плазме крови

УДК

543:662.212

ГРНТИ

31.19 Аналитическая химия

Раздел науки и техники

Аналитическая химия

Классификация технологий

Синтез лекарственных средств и пищевых добавок, 4 уклад

Назначение новшества

Контроль содержания новокаина в плазме крови при химико-токсикологических анализах. Повышение качества анализа крови.

Рекомендуемая область применения

Медицина, фармацевтическая промышленность.

Техническая характеристика

Отсутствует

Описание

Данный материал является совместным результатом научно-исследовательских работ кафедры физической и аналитической химии Воронежского государственного университета инженерных технологий и кафедры фармацевтической, токсикологической и аналитической химии Курского государственного медицинского университета.

Методика основана на экстракции новокаина раствором камфоры в этилацетате (30 мас. %) с предварительным осаждением белков

ацетоном, хроматографировании концентрата и последующем и спектрофотометрировании элюата.

Методика анализа. 50 мг новокаина растворяли в 10 см³ дистиллированной воды. 0,5 см³ раствора прибавляли к 4,5 см³ плазмы крови. 5 см³ плазмы крови, содержащей определенное количество исследуемого вещества, заливали 10 см³ ацетона и выдерживали в течение 10 мин при периодическом перемешивании.

Смесь фильтровали через бумажный фильтр, который затем промывали 10 см³

ацетона. Объединенный фильтрат упаривали в токе воздуха при комнатной температуре до удаления ацетона (до объема 3-4 см³).

Объем раствора, оставшийся в выпарительной чашке, довели дистиллированной водой до 10 см³, количественно переносили в делительную воронку, добавляли высаливатель (сульфат аммония) до получения насыщенного водно-солевого раствора, аммонийный буферный раствор до pH = 8,5 - 10 и экстрагент - раствор камфоры в этилацетате (30 мас. %). Соотношение объемов фаз - 10:2. Экстрагировали на вибросмесителе 10 мин до установления межфазного равновесия, раствор оставляли на 3 - 5 мин для расслаивания системы.

Экстракт (0,1 см³) наносили на линию старта хроматографической пластины типа «Сорбфил» UV - 254. В качестве подвижной фазы применяли систему растворителей хлористый метилен:этанол (1:1). Хроматографировали в присутствии вещества-свидетеля. Анализируемое вещество идентифицировали по величине R_f.

После хроматографирования методом ТСХ участок хроматограммы с пятном новокаина вырезали, помещали в пробирку, элюировали исследуемое вещество из сорбента 5 см³ этанола в течение 15 мин. Содержание новокаина в элюате измеряли на спектрофотометре SHIMADZUUVMINI-1240 (кварцевая кювета, l = 1 см, λ_{max} = 298 нм).

Количественное содержание новокаина (m, мг) в плазме крови определяли по формуле:

$$m = (A - A_{\text{конт}} - 0,00297) / 0,04245$$

где A - оптическая плотность элюата; A_{конт} - оптическая плотность фона плазмы крови; 0,00297 и 0,04245 - экспериментально найденные коэффициенты.

Преимущества перед известными аналогами

Методика позволяет однократно извлечь до 70 % новокаина

Сертификат качества

Отсутствует

Стадия освоения

Способ (метод) проверен в лабораторных условиях

Результаты испытаний, внедрения

Технология обеспечивает получение стабильных результатов

Технико-экономический эффект

Методика позволяет определять содержание новокаина в плазме крови на уровне и 0,40 мг/см³, время получения концентрата для анализа составляет 10 мин, что в 1,5 раза быстрее известных методов

Энергоэффективность

Сведения о государственной регистрации

Государственная регистрация отсутствует

Сведения об изобретении

Отсутствует

Шифр документации

ЭСОНВС НО 10081

Инновационное предложение

Отсутствует

Формы и условия передачи результатов НТР

По договору, стоимость от 35 тыс.руб.

Возможность передачи за рубеж

Возможна передача за рубеж

Предложения по сотрудничеству

Совместное проведение доработки до промышленного уровня

Организация-разработчик

Воронежский государственный университет инженерных технологий
394000, г. Воронеж, пр. Революции, 19
Телефон: (473) 255-07-62
Факс: (473) 255-07-62
Электронная почта: tatyа-chibiso@yandex.ru

Организация-консультант

Воронежский ЦНТИ - филиал ФГБУ "РЭА" Минэнерго России
394036, г. Воронеж, пр. Революции, 30
Телефон: (473) 255-29-63
Факс: (473) 252-72-98
Электронная почта: cnti@intercon.ru

Консультант

Семенова З.П., начальник отдела генерации баз данных
Телефон: (473) 255-17-12
Факс: (473) 255-17-12
Электронная почта: ntdcnti@mail.ru

Составители

Т.В. Чибисова, аспирант, Я.И. Коренман, профессор, д.х.н, В.К. Шорманов,
профессор, д.фарм.н., Н.Я. Мокшина, профессор, д.х.н Разрешено к публикации
в БД.

Дата поступления материала

03.12.2012

«УТВЕРЖДАЮ»
 Руководитель ИЛЦ
 Главный врач
 ФГБУЗ ЦГ и Э № 97



А.Н. Данилов
 2014 г.

«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор по научной работе и
 инновациям Воронежского
 государственного университета
 инженерных технологий,
 проф.



Т.С. Антипов
 2014 г.

АКТ АПРОБАЦИИ

Настоящий акт составлен представителями Федерального государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Центр гигиены и эпидемиологии № 97 Федерального медико-биологического агентства» химиком-экспертом, к.х.н. Масловой Н.В. с одной стороны и Воронежским государственным университетом инженерных технологий проректором по учебной части, д.х.н., проф. Сухановым П.Т., аспирантом кафедры физической и аналитической химии Чибисовой Т.В. с другой стороны, в том, что в испытательной лаборатории ФГБУЗ ЦГ и Э № 97 внедрена методика «Определение местных анестетиков в фармацевтических препаратах».

от Федерального государственного
 бюджетного учреждения здраво-
 охранения «Центр гигиены и
 эпидемиологии № 97 Федерального
 медико-биологического агентства»
 химик - эксперт, к.х.н.
 Маслова Н.В.

от Воронежского государственного
 университета инженерных
 технологий:

проректор по учебной части,
 д.х.н., проф.
 Суханов П.Т.
 аспирант
 Чибисова Т.В.