

УДК 543.544.943.3

ЭКСТРАКЦИОННО-ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕСТНЫХ АНЕСТЕТИКОВ В ВОДНЫХ СРЕДАХ

Я.И. Коренман, Т.В. Чибисова, П.Т. Суханов, М.В. Зыбенко

*Воронежский государственный университет инженерных технологий,
кафедра физической и аналитической химии
394036, Российская Федерация, Воронеж, пр. Революции, 19
pavel.suhanov@mail.ru*

Поступила в редакцию 30 октября 2013 г.

Изучена экстракция новокаина, лидокаина и анестезина из водных сред индивидуальными органическими растворителями (алифатические спирты нормального и изомерного строения $C_3 - C_9$, алкилацетаты $C_2 - C_5$) и смесями на их основе при применении хлоридов и сульфатов натрия и аммония. Рассчитаны коэффициенты распределения и степени извлечения анестетиков. С увеличением числа углеродных атомов в радикале спиртов и эфиров их экстрагирующая способность снижается, а также спирты-изомеры менее эффективны по сравнению с нормальными. Для наиболее полного извлечения анестетиков применены смеси, состоящие из спиртов изомерного строения и алкилацетатов. Изучены двух- и трехкомпонентные подвижные фазы при хроматографии в тонком слое для разделения местных анестетиков в концентратах, приведены коэффициенты подвижности веществ. Количественная оценка произведена при применении специализированного программного обеспечения. Разработана методика определения исследуемых веществ в водных средах. Диапазон определяемых концентраций от 0.1 до 1 мкг/см³, предел обнаружения – 0.02 мкг/см³. Относительная погрешность определения не превышает 10 %.

Ключевые слова: местные анестетики, экстракция, хроматография в тонком слое.

Коренман Яков Израильевич – заслуженный деятель науки и техники РФ, доктор химических наук, профессор кафедры физической и аналитической химии Воронежского государственного университета инженерных технологий.

Область научных интересов – экстракция и сорбция органических соединений, физико-химические методы анализа концентратов.

Опубликовано более 2500 научных работ, в том числе 170 патентов.

Чибисова Татьяна Викторовна – аспирант кафедры физической и аналитической химии Воронежского государственного университета инженерных технологий.

Область научных интересов – экстракция местных анестетиков и разработка способов их количественного определения.

Суханов Павел Тихонович – доктор химических наук, профессор кафедры физической и аналитической химии Воронежского государственного университета инженерных технологий.

Область научных интересов – распределение гидроксиароматических соединений в системах жидкость – жидкость, жидкость – твердая фаза, экстракция и сорбция полимерами, концентрирование и определение гидроксиароматических соединений в водных средах.

Опубликовано более 300 научных работ, в том числе 30 патентов.

Зыбенко Марина Владимировна – студентка третьего курса Воронежского государственного университета инженерных технологий.

Область научных интересов – экстракция местных анестетиков из водных сред.

ВВЕДЕНИЕ

Местные анестетики широко применяются в медицине, ветеринарии. Они представляют собой слабые основания: новокаин и анестезин – эфиры *n*-аминобензойной кислоты, лидокаин – произво-

дное ацетанилида. Структурные формулы анестетиков представлены на рис. 1.

В повышенных концентрациях анестетики отрицательно воздействуют на организм человека, вплоть до летального исхода. При индивидуальной непереносимости даже терапевтические

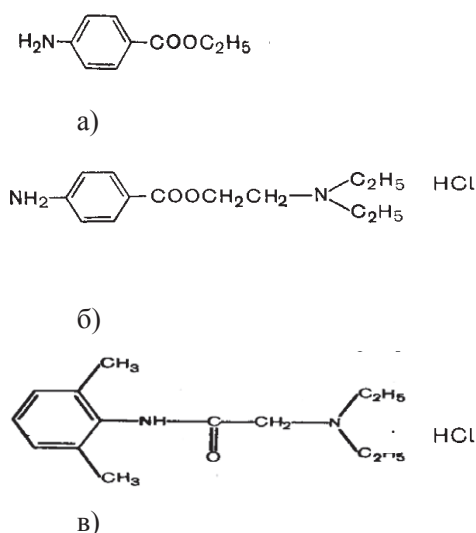


Рис. 1. Структурные формулы анестезина (а), новокаина (б) и лидокаина (в)

дозы препаратов могут вызывать негативные последствия. Максимальная суточная доза составляет, мг/кг: для новокаина – 10, лидокаина – 3 и анестезина – 21. Определение местных анестетиков в водах целесообразно при выполнении серийных анализов в контроле качества готовой продукции и технологических стадий производства фармацевтических препаратов, а также для установления соответствия требованиям ПДК ($2 \cdot 10^{-5}$ М) сточных вод стоматологических клиник. В связи с этим необходима разработка экспрессных и надежных способов извлечения анестетиков и их определения, в том числе селективных, в водных средах, а также в лекарственных средствах и биологических объектах, имеющих сложные многокомпонентные матрицы, затрудняющие выделение целевого компонента. Для извлечения и концентрирования веществ возможно, например, применение жидкостной экстракции, а для разделения – хроматографии в тонком слое [1-3].

В работе В. Hille [4] приведены результаты экстракции анестетиков из клеточных мембран олеиновым спиртом при pH = 6 и соотношении объемов фаз 1 : 11. При этом коэффициенты распределения и степень извлечения анестезина, новокаина и лидокаина составляют 41.0 (79 %); 0.057 (0,5 %) и 2.8 (20 %) соответственно, т.е. практически полное извлечение не достигается [4].

Хроматография в тонком слое применяется для определения местных анестетиков. Предложено разделение 7 локальных анестетиков и антиаритмического препарата прокаинамида с применением пластин, обработанных тиоцианатом кобальта (II) и реагентом Эрлиха [5]. При этом идентифицированы все вещества кроме артикаина и прилокаина, которые определили по реакции с CuSO_4 .

Для анализа смеси парацетамола с новокаином рекомендованы пластины Silufol UV 254, под-

вижные фазы – системы органических растворителей, проявитель – пары йода (при физическом способе проявления зон – облучение УФ-лучами), метод характеризуется относительно высоким пределом обнаружения – 10 мкг [6].

Разработка эффективных экстракционных систем для практически полного извлечения и концентрирования местных анестетиков из водных сред, а также способа их последующего селективного определения в концентратах остается актуальной аналитической проблемой.

Экспериментальная часть

При выполнении эксперимента применяли новокаин, анестезин и лидокаин фармакопейной чистоты. Алифатические спирты нормального и изомерного строения $\text{C}_3 - \text{C}_9$ и алкилацетаты $\text{C}_2 - \text{C}_5$ дважды дистиллировали и идентифицировали по показателям преломления. Ацетон (А), гексан (Г) и ацетонитрил (АЦ) соответствовали квалификации х.ч. для хроматографии, уксусная ледяная кислота – х.ч. Сульфаты и хлориды аммония и натрия перекристаллизовывали из препаратов квалификации ч.д.а., трихлоруксусная кислота (ТХУК) – ч. Для приготовления реактива Драгендорфа применяли нитрат висмута основной и йодид калия фармакопейной чистоты, азотную кислоту квалификации о.с.ч. Все растворы готовили на бидистиллированной воде по ГОСТ 4517 – 87.

Экстракцию анестетиков проводили по известной методике [7]. Коэффициенты распределения (D), степень извлечения (R , %) и коэффициенты концентрирования ($K_{\text{конц}}$) (при $R = 97-99$ %) рассчитывали по формулам [7]:

$$D = c_0 / c_b, R = [D / (D + r)] \cdot 100 \% \text{ и } K_{\text{конц}} = (100 \cdot D / R) - D,$$

где c_0 и c_b – равновесные концентрации анестетиков в органической и водной фазах, мг/см³; r – соотношение равновесных объемов водной и органической фаз.

Содержание анестетиков в экстракте определяли методом хроматографии в тонком слое. Разделение веществ проводили на пластинах «Сорбфил ПТСХ-АФ-А-УФ», которые предварительно активировали в концентрированном растворе аммиака и высушивали при 100 ± 5 °С. В качестве проявителя применяли реактив Драгендорфа, известный для качественного обнаружения алкалоидов и азотистых оснований [9].

Для оценки селективности разделения двух местных анестетиков рассчитывали коэффициент разделения α [8]:

$$\alpha = R_{f1} / R_{f2},$$

где R_{f1} и R_{f2} – коэффициенты подвижности разделяемых анестетиков.

Обсуждение результатов

Концентрирование анестетиков

1. Экстракция индивидуальными растворителями

Для концентрирования местных анестетиков из разбавленных водных растворов применена жидкостная экстракция. Использование гидрофильных экстрагентов возможно при насыщении водного раствора солью. При этом образуется достаточное для анализа количество органической фазы [10].

В качестве высаливателей применены хлориды и сульфаты натрия и аммония. Максимальное извлечение анестетиков достигается в присутствии практически насыщенного (38 % мас.) раствора сульфата аммония (табл. 1 и 2; данные по экстракции новокаина приведены в [7]). Это связано с тем, что, обладая наибольшей растворимостью в воде по сравнению с остальными применяемыми солями, он в большей степени способствует разрушению гидратной оболочки местных анестетиков, в результате чего снижается их растворимость в воде. Затем молекулы распределяемых соединений сольватируются растворителем, что способствует их более легкому переходу в органическую фазу [10].

В качестве экстрагентов применены алифатические спирты нормального и изомерного строения $C_3 - C_9$, алкилацетаты $C_2 - C_5$.

Известно, что анестетики максимально извлекаются из водных растворов этилацетатом в щелочной среде, так как происходит подавление протонирования аминогруппы, нейтральная форма вещества переходит в органическую фазу [7].

Независимо от строения экстрагента с увеличением числа углеродных атомов в радикале экстрагирующая способность снижается, что обусловлено уменьшением относительной доли полярных групп (увеличением неактивной части молекул). Спирты-изомеры менее эффективны по сравнению с нормальными вследствие того, что они в большей степени самоассоциированы [11].

Таблица 1

Коэффициенты распределения (D) и степени извлечения (R , %) анестезина и лидокаина при экстракции спиртами из насыщенного раствора сульфата аммония ($n = 3$, $P = 0.95$)

| Спирт | Анестезин | | Лидокаин | |
|---------------|------------|---------|------------|---------|
| | D | $R, \%$ | D | $R, \%$ |
| н. пропиловый | 259 ± 26 | 98 | 19.8 ± 1.4 | 80 |
| н. бутиловый | 205 ± 19 | 98 | 16.7 ± 1.1 | 77 |
| н. пентиловый | 167 ± 14 | 97 | 13.4 ± 1.0 | 73 |
| н. гексиловый | 132 ± 11 | 96 | 11.1 ± 1.0 | 69 |
| н. гептиловый | 109 ± 8 | 96 | 9.5 ± 0.7 | 66 |
| н. октиловый | 89.4 ± 7.5 | 95 | 7.7 ± 0.5 | 61 |
| н. нониловый | 72.2 ± 6.7 | 94 | 5.4 ± 0.5 | 52 |
| изопропиловый | 111 ± 10 | 96 | 8.3 ± 0.6 | 62 |
| изобутиловый | 85.3 ± 7.4 | 94 | 6.7 ± 0.5 | 57 |
| изопентиловый | 65.6 ± 5.3 | 93 | 5.3 ± 0.5 | 51 |

В системах с индивидуальными растворителями (табл. 1 и 2) из водных сред практически полностью (более 97 %) извлекается только анестезин.

2. Экстракция смесями растворителей

Для увеличения количественных характеристик экстракции применяют синергетические смеси органических растворителей и растворы сольватропных реагентов, либо проводят повторную экстракцию. Для практически полного извлечения анестетиков из водных сред применена экстракция бинарными смесями растворителей на основе алкилацетатов, как наиболее эффективных индивидуальных экстрагентов анестетиков. В качестве второго компонента смеси изучали алифатические спирты нормального и изомерного строения.

Гидрофильные спирты и этилацетат более эффективны, чем, например, гидрофобный н. нониловый спирт и н. пентилацетат. Экстракция смесями описывается синергетическими изотермами, максимум смещен в сторону преобладания более активного растворителя. Синергетический эффект возрастает при замене нормальных спиртов на изомерные, что связано с более компактной пространственной конфигурацией образующихся комплексов.

Таблица 2

Коэффициенты распределения (D) и степени извлечения (R , %) местных анестетиков при экстракции алкилацетатами из насыщенных растворов солей ($n = 3$, $P = 0.95$)

| Анестетик | Экстрагент | Сульфат аммония | | Хлорид натрия | | Сульфат натрия | |
|-----------|--------------|-----------------|---------|---------------|---------|----------------|---------|
| | | D | $R, \%$ | D | $R, \%$ | D | $R, \%$ |
| Анестезин | Этилацетат | 890 ± 80 | 99 | 357 ± 30 | 99 | 100 ± 11 | 95 |
| | Бутилацетат | 428 ± 45 | 99 | 213 ± 18 | 98 | 65.4 ± 6.9 | 93 |
| | Пентилацетат | 355 ± 30 | 98 | 143 ± 13 | 97 | 53.3 ± 5.2 | 91 |
| Лидокаин | Этилацетат | 53.2 ± 5.2 | 91 | 36.3 ± 2.7 | 88 | 27.7 ± 2.0 | 85 |
| | Бутилацетат | 33.2 ± 2.9 | 87 | 22.6 ± 1.9 | 82 | 17.3 ± 1.3 | 78 |
| | Пентилацетат | 27.5 ± 2.0 | 85 | 17.6 ± 1.4 | 78 | 14.4 ± 1.0 | 74 |

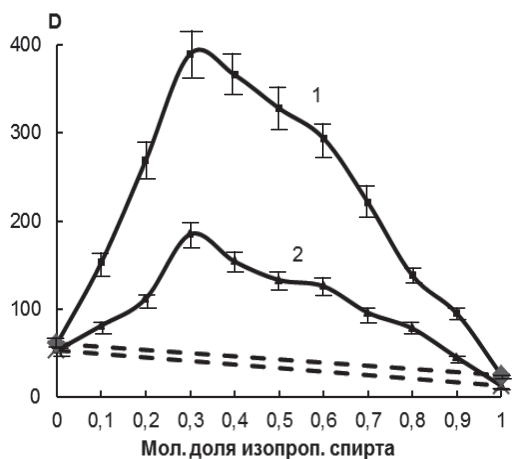


Рис. 2. Зависимость коэффициентов распределения новокаина (1) и лидокаина (2) от мольной доли изопропилового спирта в смеси с этилацетатом; пунктир – линии аддитивности ($n = 3, P = 0.95$)

Синергизм объясняется отклонением свойств смеси растворителей от законов Рауля, изменением степени ассоциации одного из компонентов смеси, взаимодействием компонентов смеси за счет водородных связей с образованием малоустойчивых молекулярных комплексов или смешанных сольватов, характеризующихся повышенной растворяющей способностью по сравнению с индивидуальными растворителями, а также образованием молекулярных комплексов анестетиков с компонентами смеси [12].

Наиболее эффективная экстракционная система для извлечения новокаина и лидокаина изопропиловый спирт – этилацетат (рис. 2). При экстракции смесью изопропиловый спирт – этилацетат в соотношении 0.3 : 0.7 мольных долей достигается степень однократного извлечения 99 и 96 % для новокаина и лидокаина соответственно, $K_{конц} = 5$.

Хроматография в тонком слое для определения анестетиков

Раздельное определение анестетиков возможно с применением хроматографических методов анализа, в частности хроматографии в тонком слое, которому посвящен ряд работ [4, 5, 13]. Приведенные в этих разработках методики характеризуются относительно высокими пределами определения.

Для выбора хроматографической системы с целью разделения местных анестетиков исходили из их природы. 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.

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 [4, 5, 13]. Гидрофильные растворители – ацетон и ацетонитрил, широко применяемые как составляющие подвижных фаз, например, при определении алкалоидов, пестицидов и других веществ [14].

Нами применены двух- и трехкомпонентные смеси, состоящие из А, АЦ и Г. Установлено, что селективное разделение достигается при элюировании смесью Г : А : АЦ, взятых в равных объемных соотношениях.

Анестетики представляют собой слабые основания, поэтому кислотность среды оказывает значительное влияние на коэффициенты подвижности. Максимальное изменение R_f происходит при введении в систему кислоты. Повышение эффективности хроматографирования обусловлено образованием в кислой среде ионных ассоциатов

Таблица 3

Коэффициенты подвижности (R_f) и разделения (α) новокаина (1), лидокаина (2) и анестезина (3) при применении различных подвижных фаз ($n = 3, P = 0.95$)

| Состав подвижной фазы | R_f | | | α | | |
|-------------------------------------|-------------|-------------|-------------|----------|-------|-------|
| | 1 | 2 | 3 | 1 и 2 | 2 и 3 | 3 и 1 |
| Г : А (1 : 9) | 0.04 ± 0.01 | 0.14 ± 0.01 | 0.16 ± 0.01 | 4 | 1 | 4 |
| Г : А (3 : 6) | 0.04 ± 0.01 | 0.26 ± 0.01 | 0.30 ± 0.01 | 7 | 1 | 8 |
| Г : А (9 : 1) | ~0 | 0.06 ± 0.01 | 0.10 ± 0.01 | – | 2 | – |
| Г : АЦ (5 : 5) | 0.18 ± 0.01 | 0.24 ± 0.02 | 0.26 ± 0.02 | 1 | 1 | 1 |
| А : АЦ (5 : 5) | 0.38 ± 0.01 | 0.47 ± 0.02 | 0.53 ± 0.02 | 1 | 1 | 1 |
| А : ТХУК (6 : 4) | 0.88 ± 0.02 | 0.91 ± 0.02 | 0.90 ± 0.02 | 1 | 1 | 1 |
| АЦ : ТХУК (9 : 1) | 0.67 ± 0.02 | 0.71 ± 0.02 | 0.73 ± 0.02 | 1 | 1 | 1 |
| Г : А : АЦ (3 : 4 : 2) | ~0 | 0.15 ± 0.01 | 0.17 ± 0.01 | – | 1 | – |
| Г : А : АЦ (3 : 2 : 4) | 0.03 ± 0.01 | 0.08 ± 0.01 | 0.11 ± 0.01 | 3 | 1 | 4 |
| Г : А : АЦ (3 : 3 : 3) | 0.03 ± 0.01 | 0.51 ± 0.02 | 0.56 ± 0.02 | 17 | 1 | 19 |
| Г : А : АЦ : ТХУК (3 : 3 : 3 : 3) | 0.90 ± 0.02 | 0.91 ± 0.02 | 0.91 ± 0.02 | 1 | 1 | 1 |
| Г : А : АЦ : ТХУК (3 : 3 : 3 : 0.1) | 0.34 ± 0.01 | 0.86 ± 0.02 | 0.94 ± 0.02 | 3 | 1 | 3 |

анестетика – положительно заряженных молекул, которые извлекаются органической фазой более селективно [15].

Введение в подвижную фазу ТХУК позволили получить пятна анестетиков правильной формы, в системах с уксусной кислотой пятна размыты. При увеличении содержания ТХУК в подвижной фазе коэффициенты R_f возрастают, но селективность определения понижается. Резкие отличия при применении ТХУК и уксусной кислоты обусловлены их природой (наличием в молекуле ТХУК сильнополярных атомов хлора). Таким образом, оптимальной является система, состоящая из А, АЦ, Г и ТХУК при объемном соотношении фаз (3 : 3 : 3 : 0.1), которая позволяет полностью разделять исследуемые вещества. Коэффициенты подвижности и разделения местных анестетиков при применении различных подвижных фаз приведены в табл. 3.

Хроматограммы расшифровывали с применением лицензионной компьютерной программы «Sorbfil TLC», используемой в денситометрии. Компьютерная обработка планарных хроматограмм снижает затраты времени и труда на получение информации о составе пробы, улучшает статистические характеристики анализа. Для ввода данных в программу получали изображение хроматографических пятен при помощи планшетного сканера «Epson Perfection V200 Photo», характеризующегося разрешением 4800x9600 dpi (более 200 dpi), что удовлетворяет требованиям к детектору в денситометрии.

Анестетики идентифицировали по коэффициентам подвижности. Принцип работы программы при количественной оценке 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 [16].

Абсолютное количество анестетиков в пробе устанавливали по градуировочным графикам в координатах «количество вещества (x) – площадь пятна (y)». Градуировочные графики построены по стандартным растворам анестетиков и описываются следующими уравнениями: для анестезина $y = 13656 \cdot x + 318$; для новокаина $y = 7364 \cdot x - 9$ и для лидокаина $y = 8936 \cdot x + 359$.

Методика анализа

Разработана методика определения анестетиков в водных растворах. К 5 см³ раствора добавляли сульфат аммония до насыщения, 0.5 см³ аммонийного буферного раствора и смесь изопропиловый спирт : этилацетат (0.3 : 0.7 мольные доли) из расчета объемов водной и органической фаз 5 : 1. В течение 5 мин проводили экстракцию. После расслаивания системы (1-2 мин) микрошприцем отбирали 0.01 см³ экстракта и наносили его на линию старта активированной хроматографической

Таблица 4

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 |
|-----------|------------------------------|------------------------------|-------|
| Новокаин | 50.00 | 48.10 ± 6.65 | 0.05 |
| | 10.00 | 9.65 ± 1.62 | 0.06 |
| | 2.00 | 1.92 ± 0.41 | 0.08 |
| Лидокаин | 50.00 | 47.46 ± 6.82 | 0.05 |
| | 10.00 | 9.30 ± 2.30 | 0.09 |
| | 2.00 | 1.88 ± 0.51 | 0.10 |
| Анестезин | 50.00 | 48.80 ± 6.37 | 0.05 |
| | 10.00 | 9.42 ± 1.93 | 0.08 |
| | 2.00 | 1.93 ± 0.38 | 0.07 |

пластины. Также на пластину наносили по 0.01 см³ водного раствора каждого анестетика с известной концентрацией. На дно хроматографической камеры помещали подвижную фазу – смесь «гексан – ацетон – 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. Хроматограммы сканировали на планшетном сканере, изображение обрабатывали в программе «Sorbfil TLC». Результаты количественного определения анестетиков в водных средах приведены в табл. 4.

Градуировочные графики для количественного определения анестетиков линейны в диапазоне концентраций от 0.1 до 1 мкг/см³; предел обнаружения при объеме экстракта 0.1 см³, рассчитанный по 3s-критерию [17] с учетом яркости окраски пятен и фона - 0.02 мкг/см³. Разработанный способ легко выполним и может быть применен для контроля вод фармацевтических предприятий и стоматологических клиник. Экстракция анестетиков рекомендуется также как пробоподготовка при серийных анализах и при анализе биообъектов. Способ не требует наличия специально подготовленного персонала и дефицитного оборудования, позволяет селективно определять близкие по физико-химическим свойствам анестетики. Относительная погрешность определения не превышает 10 %.

ЛИТЕРАТУРА

- Беликов В.Г. Фармацевтическая химия. Пятигорск: Пятигорская гос. фарм. акад., 2003. 713 с.
- Садыков З.К., Икрамов Л.Т. Обнаружение новокаина и *p*-аминобензойной кислоты в трупном материале // Судебно-медицинская экспертиза. 2000. № 4. С.28-31.
- Полуместная К.А. Определение местных анестетиков в сточных водах стоматологических клиник с использованием потенциометрической мультисенсорной системы // Матер. 4-ой Всерос. с междунар. участием

научно-метод. конф. «Фармобразование 2010». Часть 1. Воронеж, 2010. С. 315-317.

4. Hille B. The pH – dependent rate of action of local anesthetics on the node of Ranvier // *J. General Physiol.* 1977. V. 69, № 4. P. 475-496.
5. Schmidt M., Bracher F. A convenient TLC method for the identification of local anesthetics // *Pharmazie.* 2006. V. 61, № 1. P. 15-17.
6. Тиллаева Г.У., Убдуназарова Г.М., Тулаганов А.А. Использование тонкослойной хроматографии в анализе препарата комбинированного действия // *Химия природных соединений.* 1999. Т. 35, № 3. С. 147-149.
7. Коренман Я.И., Чибисова Т.В. Экстракция новокаина из водных сред алифатическими спиртами с применением высаливателей // *Вестник Воронеж. гос. ун-та инженерных технологий.* 2012. № 4. С. 92-95.
8. Основы аналитической химии. Практическое руководство: под. ред. Ю.А. Золотова. М.: Высш. шк., 2001. 464 с.
9. Кирхнер Ю. Тонкослойная хроматография. Т. 2. М.: Мир, 1981. 524 с.
10. Гулевич А.Л. Сложные химические равновесия. Минск: БГУ, 2002. 102 с.

11. Рудаков О.Б. Растворитель как средство управления процессом в жидкостной хроматографии. Воронеж: Воронеж. гос. ун-т, 2003. 300 с.
12. Суханов П.Т., Коренман Я.И., Губин А.С. Экстракция ароматических сульфокислот бинарными смесями растворителей // *Журн. физ. химии.* 2005. Т. 79, № 3. С. 548-551.
13. Садыков З.К., Икрамов Л.Т. Обнаружение новокаина и п-аминобензойной кислоты в трупном материале // *Суд.-мед. экспертиза.* 2000. № 4. С. 28-31.
14. Выделение, экстракционное концентрирование и определение кофеина при исследовании плазмы крови / Я.И. Коренман [и др.] // *Суд.-мед. экспертиза.* 2012. № 2. С. 32-35.
15. Райхардт К. Растворители и эффекты среды в органической химии. М.: Мир, 1991. 763 с.
16. Денситометр Сорбфил: Руководство пользователя. Сорбполимер: Краснодар, 2006. 17 с.
17. Еще раз о пределах обнаружения и определения / Л.П. Экспериандова [и др.] // *Журн. аналит. химии.* 2010. Т. 65, № 3. С. 229-234.

EXTRACTION-CHROMATOGRAPHIC DETERMINATION OF LOCAL ANESTHETICS IN AQUEOUS MEDIA

Ia.I. Korenman, T.V. Chibisova, P.T. Sukhanov, M.V. Zybenko

*Federal State Budget Educational Institution of Higher Professional Education «Voronezh State University of Engineering Technologies» (FSBEI HPE «VSUET»)
pr. Revoliutsii, 19, Voronezh, 394036, Russian Federation*

The extraction novocaine, lidocaine anestezina are studied from aqueous media by individual organic solvents (aliphatic alcohols, normal and isomeric structure of $C_3 - C_9$ alkylacetates $C_2 - C_5$) and their mixtures using of different salting-out agents (chlorides, sulfates, sodium and ammonium). The coefficients of the distribution and the degree of extraction of anesthetics are calculated. It is shown that with increasing number of carbon atoms in the molecules of alcohols and esters their extractant possibility is decreased and alcohols isomers are less effective than normal ones. For the most complete extraction of the anesthetics the mixtures of alcohols with isomeric structure and alkyl acetates are used. Two and ternary-component mobile phase at chromatography in thin layer are studied for separation of local anesthetics in the concentrates, the mobility coefficients of substances are calculated. Quantitative evaluation are carried out by application of specialized software. The separation coefficients of anesthetics are calculated. The technique of determination of analytes in aqueous media is developed. The results of the extraction- chromatographic determination of novocaine, lidocaine and anaesthesin in aqueous media are proved by method «introduced – found». The range of detectable concentrations is 0.1 – 1 mkg/sm³, detection limit is 0.02 mkg/sm³. The relative error of determination is less than 10 %.

Keywords: local anesthetics, extraction, chromatography in a thin layer.

REFERENCES

1. Belikov V.G. *Farmatsevticheskaja khimiia* [Pharmaceutical Chemistry]. Pyatigorsk: Pyatigorsk State. pharm. Acad., 2003. 713 p. (in Russian).
2. Sadykov Z.K., Ikramov L.T. [Detection of novocaine and p-amino benzoic acid in the human cadaver]. *Sudebno-meditsinskaia ekspertiza* [Forensic medical examination], 2000, no. 4, pp. 28-31 (in Russian).
3. Polumestnaia K.A. [Determination of local anesthetics in the wastewater of dental clinics with the potentiometric multisensor system] *Mater. 4-oi Vseros. s mezhdunar. uchastiem nauchno-metod. konf. «Farmobrazovanie 2010». Chast' 1.* [Proc. 4th All-Russia with Intern. the participation of the

- scientific method. Conf. "Farmobrazovanie 2010". Part 1]. Voronezh, 2010, pp. 315-317 (in Russian).
4. Hille B. The pH – dependent rate of action of local anesthetics on the node of Ranvier. *J. General Physiol.* 1977, vol. 69, no. 4, pp. 475-496.
5. Schmidt M., Bracher F. A convenient TLC method for the identification of local anesthetics. *Pharmazie*, 2006, vol. 61, no. 1, pp. 15-17.
6. Tillaeva G.U., Ubdunazarova G.M., Tulaganov A.A. [Using thin layer chromatography analysis of the combined action of the drug]. *Khimiia prirodnikh soedinenii* [Chemistry of Natural Compounds], 1999, vol. 35, no. 3, pp. 147-149 (in Russian).
7. Korenman Ia.I., Chibisova T.V. [Extraction of novocaine from aqueous media aliphatic alcohols using a salting-out agents]. *Vestnik Voronezh. gos. un-ta inzhenernykh tekhnologii*

- [Herald of Voronezh State University of Engineering Technology], 2012, no. 4, pp. 92-95 (in Russian).
8. *Osnovy analiticheskoi khimii. Prakticheskoe rukovodstvo* [Fundamentals of Analytical Chemistry. Practical guidance] Russ. ed. Yu.A. Zolotov. M.: Vysshiaia shkola, 2001. 464 p. (in Russian).
 9. Kirkhner Iu. *Tonkosloinaia khromatografiia T. 2.* [Thin-layer chromatography, Vol. 2]. Springer-Verlag, 1981. 524 p. (in Russian).
 10. Gulevich A.L. *Slozhnye khimicheskie ravnovesiia* [Complex chemical equilibrium]. Minsk: Belarusian State University, 2002. 102 p. (in Russian).
 11. Rudakov O.B. *Rastvoritel' kak sredstvo upravleniia protsessom v zhidkostnoi khromatografii.* [The solvent as a control process in the liquid chromatography]. Voronezh: Voronezh State University Press, 2003. 300 p. (in Russian).
 12. Sukhanov P.T., Korenman Ia.I., Gubin A.S. [The extraction of aromatic sulfonic acids binary solvent mixtures]. *Zhurnal fizicheskoi khimii* [Journal of Physical Chemistry], 2005, vol. 79, no. 3, pp. 548-551(in Russian).
 13. Sadykov Z.K., Ikramov L.T. [Detection of novocaine and p-amino benzoic acid in the human cadaver]. *Sudebno-meditsinskaia ekspertiza* [Forensic medical examination], 2000, no. 4, pp. 28-31(in Russian).
 14. Korenman Ia.I., Shormanov V.K., Mokshina N.Ia., Krivosheeva O.A., Golubitskii G.B. [Isolation, extraction and concentration determination of caffeine in the study of blood plasma]. *Sudebno-meditsinskaia ekspertiza* [Forensic medical examination], 2012, no. 2, pp. 32-35 (in Russian).
 15. Raikhardt K. *Rastvoriteli i efekty sredy v organicheskoi khimii* [Reichardt Solvent and medium effects in organic chemistry]. Springer-Verlag, 1991. 763 p. (in Russian).
 16. *Densitometr Sorbfil: Rukovodstvo pol'zovatel'ia* [Densitometer Sorbfil: User's Guide]. Sorbpolymer: Krasnodar, 2006. 17 p. (in Russian).
 17. Eksperiandova L.P., Belikov K.N., Khimchenko S.V., Blank T.A. [Once again, the limits of detection and determination]. *Zhurnal analiticheskoi khimii* [Journal of Analytical Chemistry], 2010, vol. 65, no. 3, pp. 229-234 (in Russian).