



УДК 543. 25

ПОЛУЧЕНИЕ И ПРИМЕНЕНИЕ В АНАЛИЗЕ ИОНСЕЛЕКТИВНЫХ ЭЛЕКТРОДОВ НА НЕКОТОРЫЕ МЕСТНЫЕ АНЕСТЕТИКИ

О. В. Варыгина, Р. К. Чернова, О. Е. Коблова

Саратовский государственный университет
E-mail: varigini@mail.ru

Получены сенсоры на основе ионных ассоциатов новокаина, лидокаина с тетрафенилборат-ионом и определены их электрохимические характеристики. Методом бионных потенциалов определены коэффициенты селективности электродов. Разработана методика определения новокаина и лидокаина в смесях с цефтриаксоном и цефазолином; изучена устойчивость смешанных растворов во времени. Проведен анализ жидкости ротовой полости на содержание лидокаина и установлено оптимальное время всасывания анестетика из «Лидоксор геля».

Ключевые слова: новокаин, лидокаин, электрод, мембрана, селективность, функция, ионометрия.

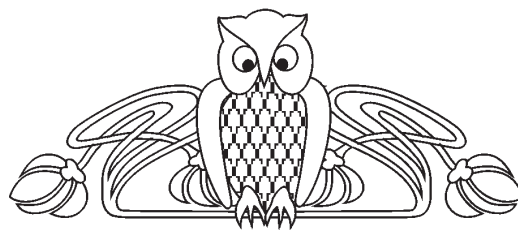
The Receipt and the Application in the Analysis of Ionselectivnyh Electrodes in Some Local Anesthetics

O. V. Varygina, R. K. Chernova, O. E. Koblova

Available sensors based on Ionic Associates novokaina, lidocaine, tetrafenilborat-ion and their electrochemical characteristics. By biionnyh-defined selectivity coefficients of electrodes. A methodology of determining novokaina and lidocaine in mixtures with ceftriaksonom and cefazolinom; examined the sustainability of mixed solutions over time. Analysis of oral liquid on the content of lidocaine and found the optimal time of anesthetic, suction «Lidoksor gel».

Key words: novocainum, lidocaine, electrode, membrane, selectivity, a function ionometria.

Местные анестетики (новокаин, лидокаин, мепивакаин, ультракаин, дикаин, анестезин, пиромекаин, тримекаин, бупивакаин и др.) широко используются в медицинской практике. Как правило, это органические основания, применяемые в виде хорошо растворимых солей. Механизм анестезирующего действия связан с нарушением электрохимических процессов в нервах или нервных волокнах. Считается, что анестетики в виде оснований концентрируются липидным слоем нервной ткани, где и происходит анестезия за счет отключения потока импульсов от болезненного участка к центральной нервной системе [1]. Применение местных анестетиков строго дозировано, так как в ряде случаев имеют место нежелательные побочные эффекты (тошнота, головокружение, аллергические реакции). В связи с этим актуальна разработка доступных, экспрессных и высокочувствительных методов их определения в лекарственных формах и биологических средах.



Классические методы определения местных анестетиков, применяемые в фармацевтике, мало чувствительны, трудоемки и основаны либо на титровании NH-групп в спиртовой среде раствором NaOH с индикатором тимолфталейном, или титрованием в ДМФА, основанным на образовании комплексных соединений ионами двухвалентных *d*-металлов, либо нитрованием концентрированной HNO₃ с последующей обработкой KOH.

В настоящее время для указанных целей применяются различные физико-химические методы: хроматография, спектрофотометрия, вольтамперометрия, ионометрия.

Так, в работе [2] применены разные варианты хроматографии (ТСХ, ВЭЖХ, ГЖХ) для определения лидокаина, тримекаина, артикаина и анилокаина в крови и моче. Оценка правильности результатов проведена сравнением с фармакопейным нитритометрическим методом. Рассмотрены способы извлечения местных анестетиков из биологических жидкостей.

Авторы [3] применили метод инверсионной вольтамперометрии для определения низких концентраций (10⁻⁵ мг/мл) лидокаина гидрохлорида в плазме крови. Правильность методики проверена методом «введено – найдено».

В работе [4] рассмотрены новые подходы к экстракционно- фотометрическому определению местноанестезирующих веществ, не содержащих первичную аминогруппу. Предложен принцип образования ионных пар протонированных анестетиков в кислых средах с анионными формами хромофорных реагентов и последующей экстракцией (резэкстракцией) образующихся ионных пар; продемонстрирована его реализация на примере ионной пары лидокаин – метиловый оранжевый (закон Бугера выполняется в интервале концентраций 1–16 мкг/ мл).

Спектроскопические методы – цветометрия и спектроскопия диффузного отражения – применены в работах [5–7] для определения лидокаина и ультракаина. Сольватно разделенная ионная пара протонированной молекулы лидокаина и аниона бромтимолового синего экстрагируется хлорофор-



мом, сорбируется на оксиде алюминия в среде гидроксида натрия. Диапазон определяемых содержаний составил 1.3–13.3 мкг/мл. Разработана цветовая шкала для тест-определения лидокаина.

В работе [8] для определения микрограммовых концентраций новокаина и анестезина в биологических жидкостях разработаны фотометрические способы определения по реакции конденсации с диметиламинокоричным альдегидом ((растворов ДОС) 0,04 – 5,6 мкг/см³).

Экстракционно-фотометрический метод определения лидокаина описан в [9]. Авторы применили в качестве реагента салицилатный комплекс меди (II) с последующей экстракцией продукта реакции хлороформом. Отмечается селективность метода.

Авторы [10] для колориметрической оценки введенного в кожу человека новокаина с помощью денс-фореза применили реакцию диазотирования тимолом и последующего азосочетания с новокаином. Аналитической формой является азосоединение, поглощающее свет при $\lambda_{\text{макс}} = 490$ нм. Отметим, что аналит определяется по остаточному количеству новокаина в лекарственных прокладках после денс-фореза. Исходная концентрация новокаина в прокладках составляла 2%.

Ионометрия, как метод, позволяющий экспрессно и с достаточной точностью определять концентрацию соединений ионного и неионного типа, нашла широкое применение для решения задач функционального анализа, определения содержания антибиотиков, витаминов, некоторых анестетиков и других биологически активных веществ в лекарственных средствах, биологических жидкостях и промышленных объектах.

Для определения органических соединений применяют твёрдофазные мембранные ион-селективные электроды; электроды на основе жидких ионообменников, содержащие ионные ассоциаты;

электроды на основе комплексов «гость–хозяин» (краун-эфир, каликс-арены, протонированные амины и др.). В последнее время получили распространение ферментные и модифицированные электроды [11].

Настоящая работа посвящена получению и оценке электроаналитических характеристик ион-селективных пленочных электродов на местные анестетики (новокаин и лидокаин), а также практическому применению их для определения субстанций в некоторых фармацевтических препаратах и биологических жидкостях.

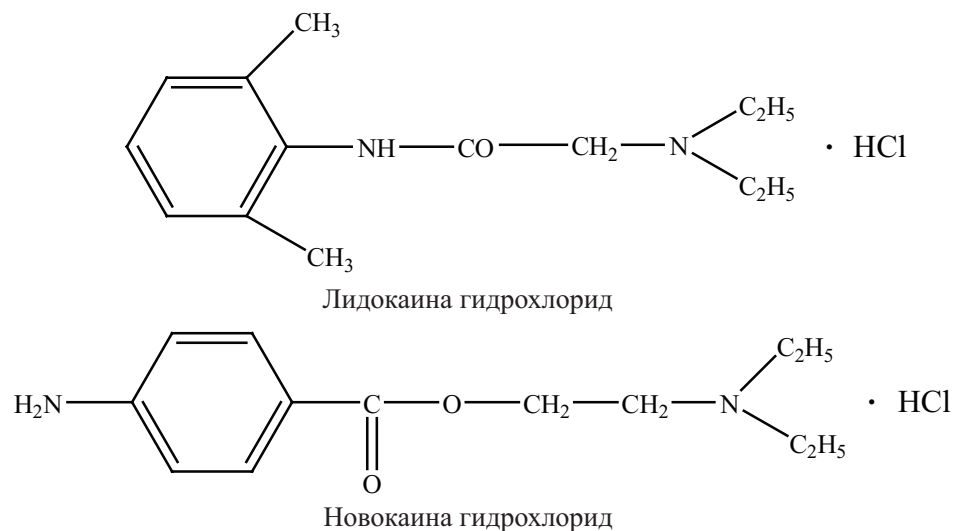
Экспериментальная часть

В работе использовали фармацевтические препараты: лидокаин (2%), новокаин (5%), а также пленочные электроды с пластифицированными мембранами и жидкостным заполнением. Пленочные электроды получали согласно [12,13].

В качестве электродно-активных соединений применяли ионные ассоциаты лидокаин-тетрафенилборат и новокаин-тетрафенилборат, полученные смешиванием 10^{-2} М водных растворов лидокаина (новокаина) с 10^{-2} М раствором тетрафенилбората натрия. Осадки отфильтровывали, промывали дистиллированной водой и доводили до воздушно-сухого состояния при температуре 20 °С.

В качестве инертной матрицы использовали поливинилхлорид (ч.д.а), в качестве растворителя циклогексанон (ч.д.а), растворителем-пластификатором служил дибутилфталат (ч.д.а).

Соотношение поливинилхлорид: дибутилфталат 1:3. Перед измерением электроды кондиционировали в 10^{-3} М растворах соответствующих лекарственных препаратов в течение суток. Электродные свойства мембран изучали, измеряя ЭДС иономером У-160. Электродом сравнения служил хлоридсеребряный электрод ЭВЛ-1М3.





Термогравиметрические исследования полученных ионных ассоциатов и мембран на их основе проводились на дериватографе ОД-130 с программированным нагревом до 1000 °С в атмосфере воздуха и одновременной регистрацией Т – температурной кривой, ТГ – кривой термогравиметрии, ДТГ – кривой дифференциальной термогравиметрии, ДТА – кривой дифференциально-термического анализа. Температура регистрировалась Pt/Pt-Rh термопарой, в качестве эталонного вещества служил прокалённый оксид алюминия. Навеска исследуемых образцов составляла ~ 60–200 мг. Из рис. 1, а следует, что ионный ассоциат лидокаин-тетрафенилборат устойчив до 100 °С, выше которой начинается ступенчатое разложение: 1-я ступень – в интервале температур 100–160 °С

(убыль массы – 20%), 2-я ступень – в интервале температур 160–310 °С, более медленная, общая убыль массы – 84%. Разложение сопровождается размытым экзотермическим эффектом с максимумом по ДТА при 300 °С.

Ионный ассоциат новокаин-тетрафенилборат устойчив до 140 °С (рис. 1, б), о чём свидетельствует горизонтальный ход кривой ТГ. Выше 140 °С начинается разложение, которое протекает в несколько ступеней: 1-я ступень – в интервале температур 140–170 °С (убыль массы 28%), 2-я ступень – в интервале температур 170–200 °С (убыль массы 48%). Эти процессы сопровождаются небольшими экзотермическими эффектами в указанных интервалах температур. Нагревание выше 200 °С приводит к медленному окислению продуктов разложения с экзоэффектом при 500 °С.

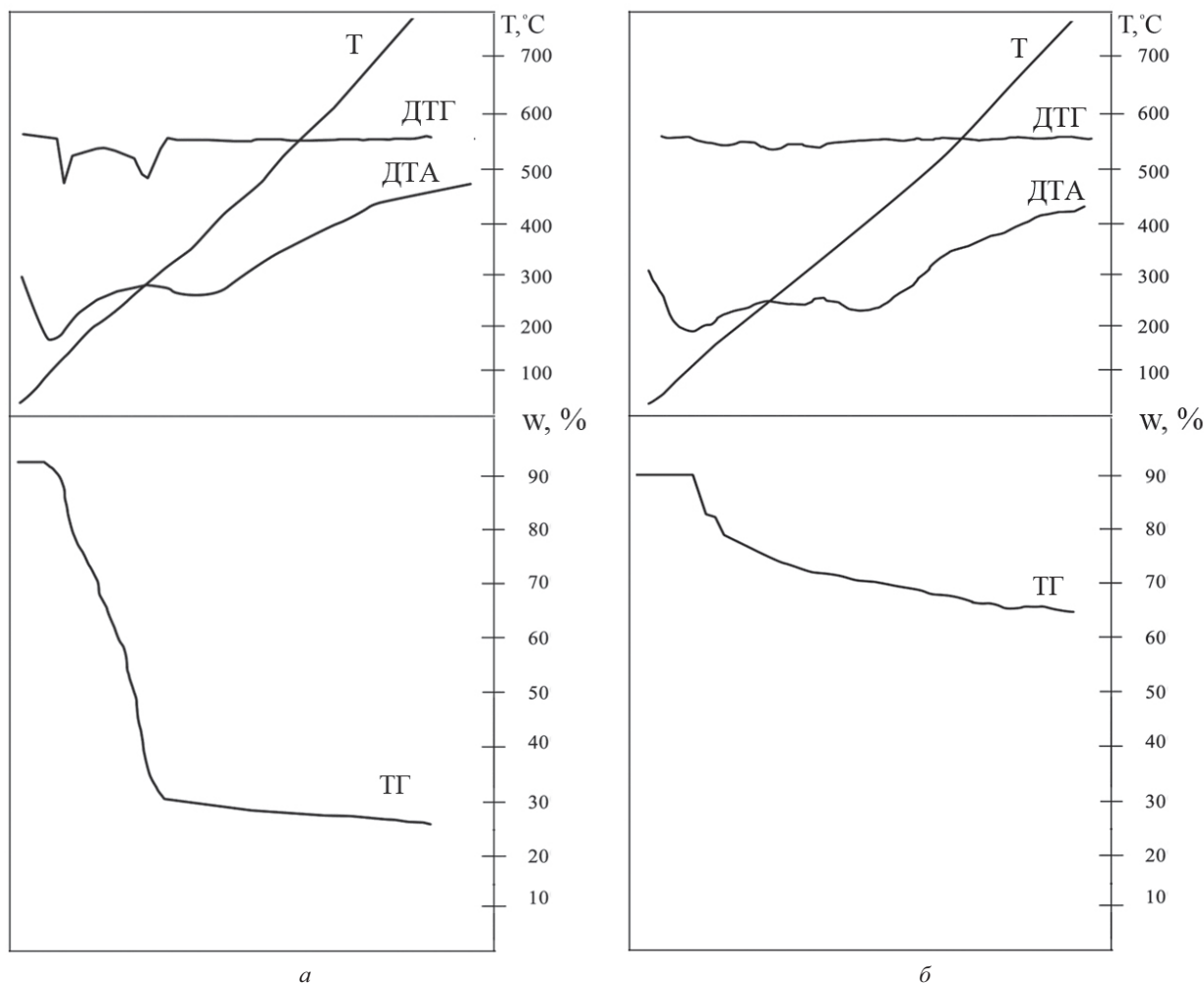


Рис. 1. Термограмма ионного ассоциата: а – лидокаин ТФБ, б – новокаин-ТФБ

Термограммы мембран с электродно-активными ионными ассоциатами лидокаин-ТФБ, новокаин-ТФБ приведены на рис. 2. Кривые ТГ и ДТГ показывают, что интенсивная деструкция

мембран начинается с 200 °С, и сопровождается резкой убылью массы до 85–90% от исходной (рис. 2, а). ТГ указывает на большую скорость разложения. На кривой ДТА этот процесс выра-



жен экзотермическим эффектом с максимумом при 310–330 °С. Начало этого эффекта (отклонение вверх от нулевого положения) находится при температуре 280–300 °С. Разложение мембраны приводит к образованию свободного

углерода, который медленно окисляется. На кривой ДТА процесс выгорания углеродного остатка отражён размытым значительным экзотермическим эффектом с максимумом 560–580 °С (рис. 2, б).

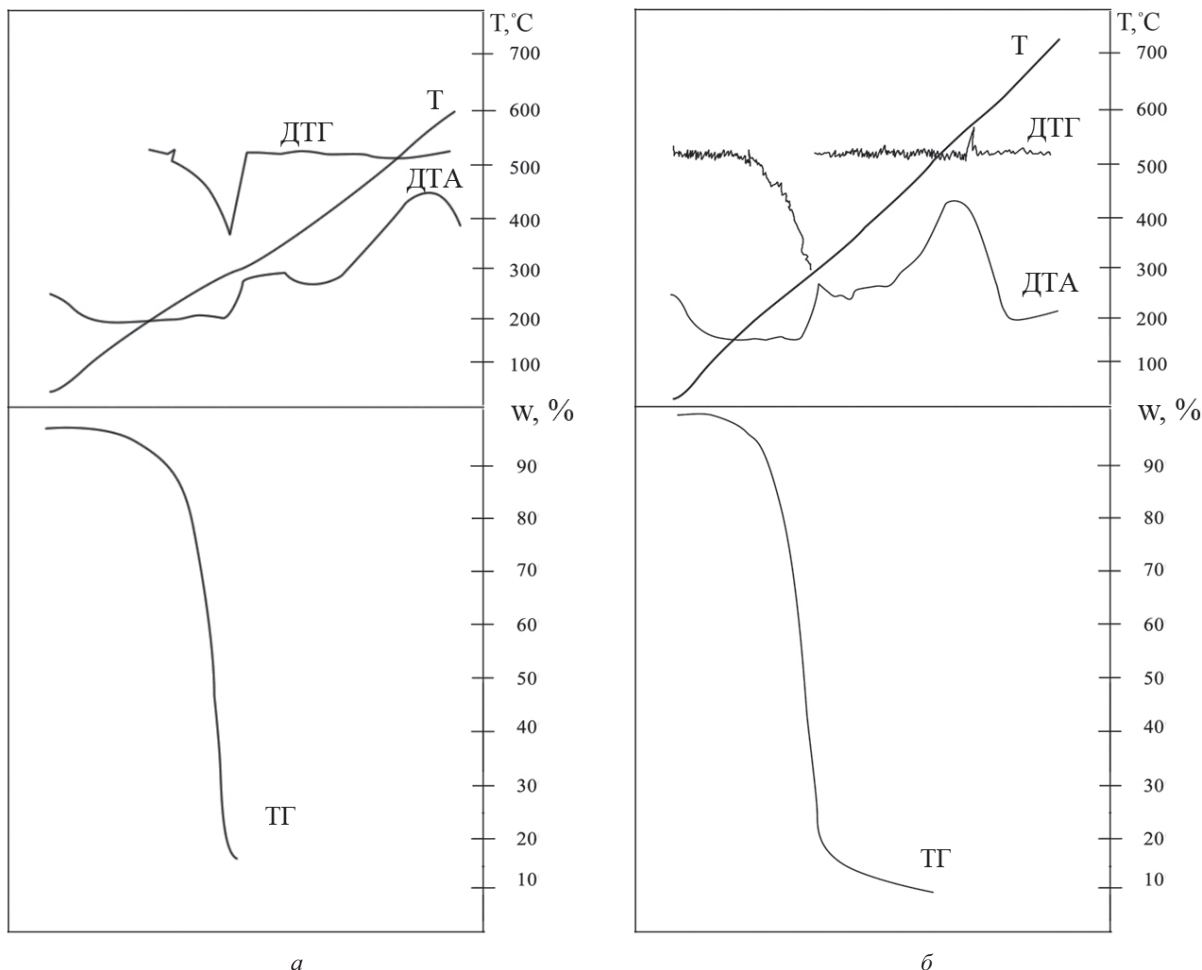


Рис. 2. Термограмма мембран на основе ионного ассоциата: а – лидокаин-ТФБ, б – новокаин-ТФБ

Поскольку аналитическая ценность полученных электродов определяется прежде всего областью линейной зависимости потенциала

электрода от концентрации электродно-активного вещества, нами были определены указанные характеристики (рис. 3).

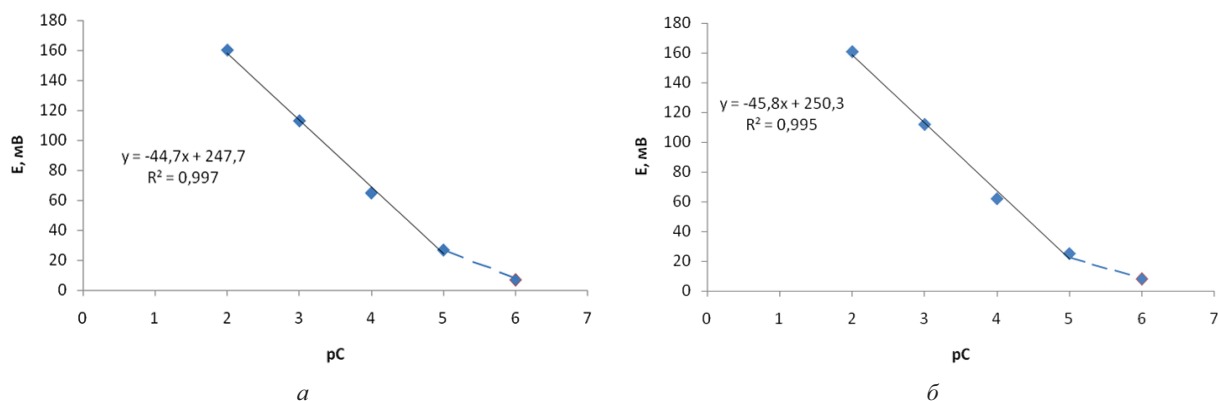


Рис. 3. Электродные функции ионселективных электродов на: а – новокаин; б – лидокаин



Как видно из рис. 3, рабочий линейный интервал концентраций в обоих случаях составляет 10^{-2} – 10^{-5} моль/л. Угол наклона прямой $E = f(pC)$ для новокаина и лидокаина гидрохлорида составляет соответственно 44,6 мВ/С и 48,6 мВ/С.

Для определения времени установления стационарного потенциала электродов были приготовлены серии водных растворов новокаина гидрохлорида и лидокаина в интервале концентраций $1 \cdot 10^{-2}$ – $1 \cdot 10^{-5}$ М и для каждой концентрации измерены значения ЭДС через определённые промежутки времени (рис. 4).

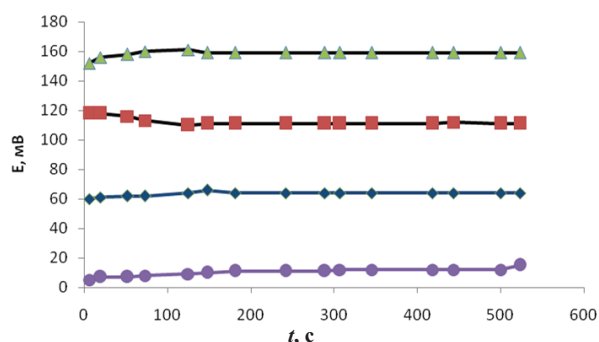
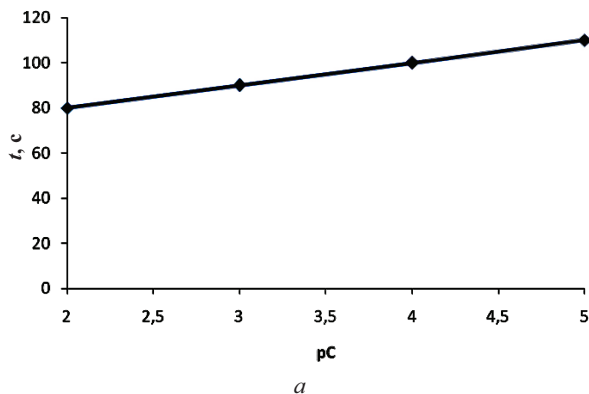


Рис. 4. Время установления стационарного потенциала электрода на новокаин при различной концентрации растворов новокаина



Полученные зависимости для новокаина и лидокаина оказались идентичными и представлены на примере новокаина (см. рис. 4).

Как следует из рис. 4, стационарный потенциал электродов устанавливался в течение 80–110 с. Время оклика электродов уменьшается с увеличением концентрации в растворе новокаина и лидокаина, как это показано на примере новокаина (рис. 5, а), с более интенсивным обменом ионов между мембраной и раствором при увеличении концентрации последнего.

Для установления дрейфа потенциала снимались электродные функции сенсоров в растворах новокаина и лидокаина в течение недели. Дрейф потенциала во времени для новокаина составил $\pm 3,2$ мВ при $C = 10^{-3}$ М и $t = 24 \pm 1$ °С (рис. 5, б). Аналогичная зависимость получена для ион-селективного электрода на лидокаин.

Для определения срока службы электродов снимались электродные функции сенсоров в растворах новокаина гидрохлорида и лидокаина на протяжении длительного времени (около 1,5 месяца) и по изменению тангенса угла наклона электродной функции судили о чувствительности данного электрода к соответствующему лекарственному препарату. Срок службы жидкостных электродов составил более месяца.

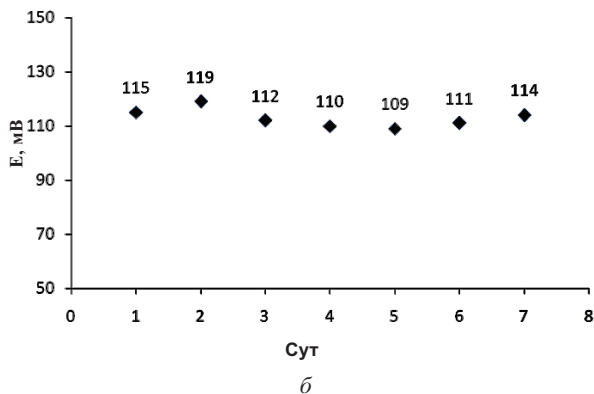


Рис. 5. а – влияние концентрации новокаина в растворе на время установления потенциала электрода, б – дрейф потенциала полученного ион-селективного электрода на новокаин ($C = 10^{-3}$ моль/л)

Константа селективности $K_{A/B}$ электрода по отношению к мешающим ионам является также одним из основных параметров, характеризующих качество мембранного электрода. Селективность электрода зависит от отношения активностей определяемых и мешающих ионов (a_A/a_B). С уменьшением $K_{A/B}$ повышается селективность электрода по отношению к определяемому иону. Если, например, коэффициент селективности 10^{-3} , то электрод в 1000 раз чувствительнее по отношению к определяемому иону, чем к ме-

шающему. Если $K_{a/b} > 1$, то электрод селективен к мешающему иону. Если $K_{a/b} = 1$, то электрод селективен одинаково как к определяемому иону, так и к мешающему.

Определения проводили по методу бионных потенциалов. Измерялся потенциал электрода во внешних растворах, которые содержали либо основной ион – новокаин (лидокаин) либо только мешающий, с переменной концентрацией последнего. Значения $K_{a/b}$ вычисляли по уравнению:



$$K_{A/B} = 10^{\frac{(E_1 - E_2) nF}{2,3 RT}}, \text{ если } a_a = a_b, \text{ то } K_{a/b} \text{ вычисляется по формуле}$$

$$K_{A/B} = 10^{\frac{(E_1 - E_2) nF}{2,3 RT}}, \text{ в случае } E_1 = E_2 \quad K_{a/b} = a_a / a_b.$$

Для проведения эксперимента готовили серии растворов 10^{-5} – 10^{-2} моль/л новокаина, лидокаина, ультракаина, витамина В₆, антибиотиков. Снимали электродные функции но-

вокаин-селективного электрода в указанных растворах. На рис. 6 представлены примеры зависимости ЭДС от концентрации некоторых мешающих ионов.

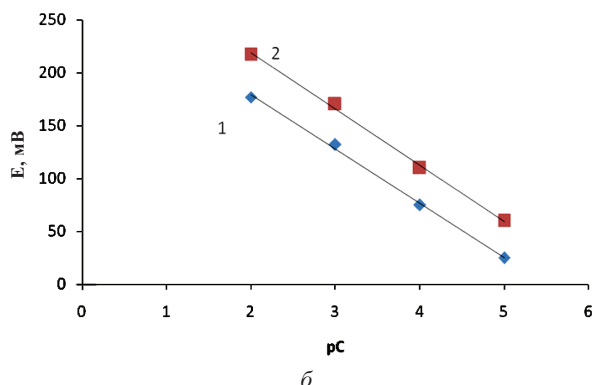
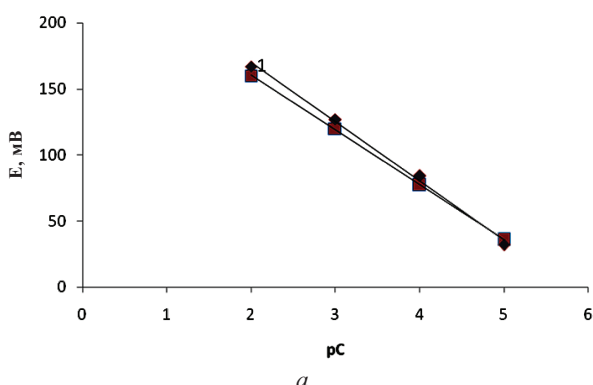


Рис. 6. а – зависимость ЭДС от концентрации новокаина-1 и лидокаина-2, б – новокаина-1 и ультракаина-2

Полученные коэффициенты селективности при $E_1 = E_2$ $K_{a/b} = a_a / a_b$ составили следующие величины: $K_{\text{новок/лидок}} = 1$, $K_{\text{новок/ультр}} = 6,82$.

Были также оценены коэффициенты потенциометрической селективности новокаина по отношению к цефтриаксону, цефазолину, витамину В₆: $K_{\text{новок/витам.В6}} = 0,011$, $K_{\text{лидок/витам.В6}} = 0,01$, $K_{\text{новок(лидок)/цефаз,цефтр}} \ll 10^{-5}$.

Анализ полученных значений $K_{a/a}$ позволяет заключить, что лидокаин, ультракаин мешают определению новокаина; витамин В₆ и антибиотики определению новокаина и лидокаина не мешают.

Установлено что в интервале температур 5–55 °С электрод сохраняет постоянное значение потенциала (≈ 115 мВ) при $C_{\text{нов.}} = 10^{-3}$ моль/л.

Для определения рабочего интервала рН ионселективных электродов готовили серию растворов местных анестетиков с различными значениями рН, измеряли ЭДС каждого раствора. По полученным данным строили зависимости E-рН (рис. 7).

Как следует из рис. 7, плато рН новокаин-селективного электрода лежит в интервале 2–7, для лидокаин-селективного электрода рабочий интервал рН составляет 5–7 (табл. 1).

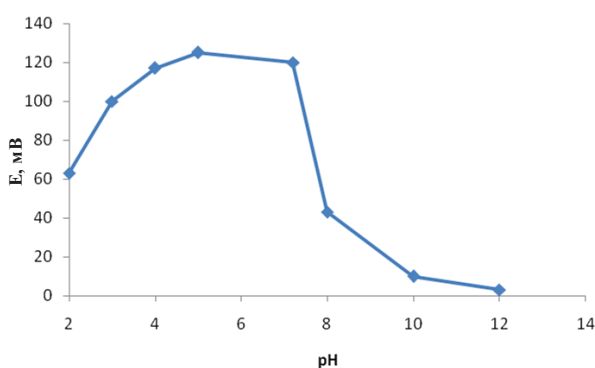


Рис. 7. Зависимость потенциала новокаин-селективного электрода от рН ($C_{\text{новок.}} = 10^{-3}$ моль/л)

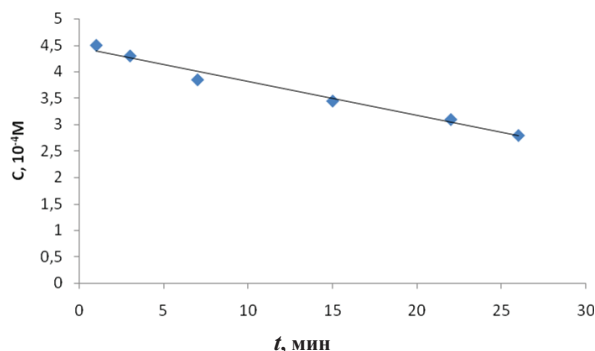


Рис. 8. Зависимость количества всасывания лидокаина от времени удерживания геля в ротовой полости (нанесено 45,5 мг с содержанием лидокаина 7,2 мг)



Сравнительная характеристика определенных нами основных параметров функционирования

полученных электродов представлена в табл. 1.

Таблица 1

Некоторые параметры функционирования полученных плёночных ионселективных электродов

Параметры	Электродноактивное соединение	
	Лидокаин-ТФБ	Новокаин-ТФБ
$E = f(-\lg c)$ моль/л	$10^{-5}-10^{-2}$	$10^{-5}-10^{-2}$
Рабочий интервал рН	2–7	5–7
Время отклика, с	60–80	90–110
Угловой коэффициент мВ/рС	48 ± 2	45 ± 2
Селективность $K_{a/v}$	$K_{\text{лидок/вита.В6}}=0,01$	$K_{\text{новок/лидок}}=1$

Изученные электроды применены для определения анестетиков в смесях с антибиотиками. Данные приведены в табл. 2.

Таблица 2

Результаты ионометрического определения новокаина и лидокаина в смешанных растворах с антибиотиками
Снов.= Цефаз = Цефтриакс = 10^{-3} моль/л ($n=3, P=0,95$)

Введено анестетик+антибиотик, мг/25мл	Найден анестетик в смесях, мг/25мл	Мера правильности, %	Sr
Новокаин 6,80 + цефазолин 11,45	$6,73 \pm 0,15$	98,9	0,01
Новокаин 6,80 + цефтриаксон 16,54	$6,70 \pm 0,5$	98,9	0,02
Лидокаин 7,20 + цефазолин 11,45	$7,20 \pm 0,10$	100	0,01
Лидокаин 7,20 + цефтриаксон 16,54	$7,10 \pm 0,30$	98,6	0,02

Как видно из табл. 2, погрешность определения не превышает 2%.

Определялась также устойчивость растворов новокаина и лидокаина в смесях с антибиотиками во времени. Для этого измеряли значения потенциалов новокаин (лидокаин)-селективных электродов в смешанных растворах новокаина с цефазолином (1:1) и цефтриаксоном (1:1) в течение 7 дней. Полученные смеси хранили в холодильнике. Растворы новокаина (лидокаина) с антибиотиками устойчивы более 7 суток.

Проводились фармакокинетические исследования, для чего определялась также зависимость количества всасывания лидокаина от времени удерживания геля «Лидоксор» в ротовой полости.

«Лидоксор» гель (Россия), содержащий лидокаин (производитель ОМЕГА-ДЕНТ) – аппликационный гелеобразный анестетик. Предназначен для наружного применения при местной анесте-

зии слизистой оболочки десны до инъекции; поверхностной анестезии при удалении молочных зубов; удалении подвижных зубов; вскрытии абсцессов; удалении зубного камня.

В подготовленную для стоматологических процедур ротовую полость на участок десны наносили 45,5 мг анестезирующего геля, который находился на десне заданное время (от 1 до 25 мин). Затем гель тщательно ополаскивали дистиллированной водой ($v = 30$ мл) в несколько приёмов и вместе с жидкостью ротовой полости помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводили дистиллированной водой до метки. Полученный раствор перемешивали, фильтровали через вату. В фильтрате определяли содержание лидокаина. Контроль всасывания проводился через 1, 3, 7, 15, 22, 25 мин. Как видно из рис. 8, время всасывания лидокаина за 7 мин составило 24,4%, за 25 мин – 38%. Снижение чувствительности слизистой десны наблюдалось



уже через 2 мин. Онемение десны длилось в течение 15 мин. За это время происходило всасывание до 32% лидокаина из введенного геля. Полученные результаты применены в стоматологической практике.

Выводы

Рассмотрены современные методы определения местных анестетиков.

Получены ионные ассоциаты новокаина, лидокаина с тетрафенилборат-ионом и определена термическая устойчивость электродноактивных соединений и мембран на их основе.

Определены электрохимические характеристики изготовленных электродов: время установления потенциала; угловой коэффициент наклона прямой электродной функции $E = f(pC)$; дрейф потенциала; срок службы. Найден рабочий интервал рН электродов; оценено влияние температурного фактора на работу электродов.

Методом бионных потенциалов определены коэффициенты селективности электродов по отношению к другим местным анестетикам, антибиотикам, витамину В₆.

Показано, что местные анестетики мешают определению друг друга, антибиотики определению анестетиков не мешают.

Изучена кинетика всасывания лидокаина в жидкости ротовой полости при использовании «Лидоксор» геля в стоматологической практике.

Разработана методика определения новокаина и лидокаина в смесях с антибиотиками (цефтриаксоном и цефазолином), изучена устойчивость смешанных растворов во времени.

Список литературы

1. Граник В. Г. Лекарства. Фармакологический, биохимический и химический аспекты. М., 2001. С. 407.
2. Столяров Е. Е., Карпенко Ю. Н., Малкова Т. Л. Определение ряда местных анестетиков в биологических жидкостях при химико-токсикологических исследованиях // Суд.-мед. экспертиза. 2009. № 3. С. 26.
3. Евтухова Е. Н., Пащикова Л. В. Вольтамперометрическое определение лидокаина гидрохлорида // Медицина и образование в Сибири. 2007. № 3. URL: www.ngmu.ru/cozo/mos/article/text_full.php?id=150.
4. Адамова Е. М., Чернова Р. К. Некоторые подходы к экстракционно-фотометрическому определению местноанестезирующих веществ // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. 2007. Т. 7. Сер. Химия. Биология. Экология, вып. 1. С. 7–10.
5. Адамова Е. М., Иванов В. М., Фигуровская В. Н. Сорбционно-оптическое и цветометрическое определение лидокаина бромтимоловым синим // Материалы III Всерос. симп. по аналит. химии. Краснодар, 2011. С. 218–219.
6. Адамова Е. М., Иванов В. М., Фигуровская В. Н. Оптическое и цветометрическое определение ультракаина с ализариновым красным С // Аналитическая химия – новые методы и возможности. Съезд аналитиков России : тез. докл. М., 2010. С. 21.
7. Иванов В. М., Адамова Е. М., Фигуровская В. Н. Экстракционно-фотометрическое и цветометрическое изучение системы лидокаин-ализариновый красный С // Аналитика России 2009 : материалы III Всерос. конф. с междунар. участием. Краснодар, 2009. С. 391.
8. Гусакова Н. Н. Теоретические и прикладные аспекты применения в фотометрическом анализе систем первичные ароматические амины – ароматические амальдегиды – аПАВ / под ред. Р. К. Черновой. Саратов, 2002. С. 136.
9. Нохрин Д. Ф., Калмакова Л. С., Сараева О. А., Чурина Т. П. Селективный метод количественного определения лидокаина гидрохлорида и дифенгидрамина гидрохлорида // Аналитика Сибири и Дальнего Востока : тез. докл. VII конф. Стендовые доклады. Секция I. Химические и физико-химические методы. Омск, 2004. С. 78.
10. Воробьев Д. В., Вишняков В. В., Пурыгин П. П., Потапова И. А. Количественное определение новокаина, введенного в кожу человека способом денс-фореза // Вестн. СамГУ. Естественнонауч. сер. 2005. № 5(39). С. 163–167.
11. Будников Г. К., Евтюгин Г. А., Майстренко В. Н. Модифицированные электроды для вольтамперометрии в химии, биологии и медицине. М., 2010. С. 416.
12. Кулапина Е. Г., Чернова Р. К., Кулапин А. И. Потенциометрические сенсоры для определения синтетических поверхностно-активных веществ. Саратов, 2008. С. 179.
13. Чернова Р. К., Баринаова О. В., Кулапина Е. Г., Матерова Е. А. Твёрдоконтактные электроды для определения некоторых азотсодержащих лекарственных препаратов // Журн. аналит. химии. 1995. Т. 50, № 7. С. 774–777.