

УДК 543.552:543.632.562

## ПОРІВНЯННЯ ОКИСНИКІВ ЯК РЕАГЕНТІВ ДЛЯ ПОЛЯРОГРАФІЧНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ЛІДОКАЇНУ

Л. Дубенська<sup>1</sup>, С. Плотиця<sup>1</sup>, М. Блажесвський<sup>2</sup>, В. Демелько<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Львівський національний університет імені Івана Франка,  
вул. Кирила і Мефодія, 6, 79005 Львів, Україна  
e-mail: dubenskyu@gmail.com;

<sup>2</sup>Національний фармацевтичний університет,  
вул. Блюхера, 4, 61168 Харків, Україна  
e-mail: blazejowski@ukr.net

Порівняно окисники кислоти Каро, Оксон, *m*-хлорпероксибензенкарбонову кислоту і пероксифталеву кислоту, які окиснюють лідокаїн до його N-оксиду. Метрологічні характеристики полярографічного визначення лідокаїну у формі його N-оксиду з використанням усіх досліджених окисників є приблизно однаковими. Однак для дериватизації лідокаїну доцільніше використовувати пероксимонсульфат: високочистий комерційний Оксон або кислоту Каро.

*Ключові слова:* лідокаїн, анестетики, полярографія, окисники, дериватизація.

Для ефективної місцевої анестезії вже більше ніж сто років використовують анестетики групи амідів. Кількісне визначення місцевих анестетиків у фармпрепаратах, у крові та інших біологічних матеріалах є важливим [1]. Існує чимало методів визначення місцевих анестетиків [2–9]. Найбільше використовують високоефективну рідинну хроматографію і твердофазну екстракцію у поєднанні з газовою хроматографією [3–6]. Однак хроматографічні методи є високоартістичними, потребують складного обладнання і кваліфікованого оператора. Розроблено високо-чутливу вольтамперметричну методику визначення лідокаїну за струмом окиснення на алмазному електроді, легованому бором [8]. Державна фармакопея України [2] регламентує визначення лідокаїну гідрохлориду в розчинах для ін'єкцій методом алкаліметрії. У [9] до розчину лідокаїну додають 30 % розчину гідроген пероксиду і нагрівають 30 хв за 40 °С. Утворюється N-оксид лідокаїну, який відновлюється з  $E_{1/2}$  від –0,25 до –0,78 В залежно від рН. Точність методу  $\pm 1$ –2 %, проте визначення дуже тривале – одну пробу треба готувати щонайменше 40–45 хв. Крім того, надлишок  $H_2O_2$  обов'язково треба руйнувати після закінчення реакції оксидування.

Ми розробили нову полярографічну методику визначення місцевих анестетиків (лідокаїну, тримекаїну, мепівакаїну) [10] і валідували її для визначення лідокаїну у розчинах для ін'єкцій [11]. Методика ґрунтується на окисненні нітрогену третинного аміну до полярографічно активного N-оксиду за допомогою комерційної потрійної солі кислоти Каро – Оксону. Розроблена методика вирізняється низькою

межею виявлення ( $C_{\min}$  у межах  $1 \cdot 10^{-6}$ – $2 \cdot 10^{-6}$  М залежно від анестетика), простотою, економічністю. Головною особливістю методики є можливість прямого визначення метаболітів анестетиків – їхніх N-оксидів.

Очевидно, що полярографічно активний N-оксид можна одержати використовуючи й інші окисники. Тому мета нашої праці – порівняти ефективність використання різних окисників для одержання N-оксиду. Для дослідження використали один з найуживаніших у фармації місцевих анестетиків – лідокаїн (рис. 1).

**Експериментальна частина.** У роботі використовували субстанцію лідокаїну гідрохлориду виробництва Societa Italiana Medicinali (Італія) з кількісним вмістом діючої речовини 99 %. Для приготування робочого розчину стандартного зразка лідокаїну точну наважку субстанції (розрахована наважка 144 мг) кількісно переносили в мірну колбу ємністю 100 мл, розчиняли у 70 мл дистильованої води, доводили об'єм до позначки за 20 °С і ретельно перемішували. Відбирали аліквоту 10,00 мл одержаного розчину, переносили у мірну колбу ємністю 100 мл, доводили до позначки водою і ретельно перемішували. У такому разі концентрація робочого розчину лідокаїну становила  $10^{-3}$  моль/л.

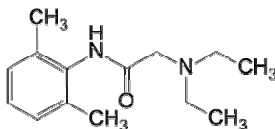


Рис. 1. Структурна формула лідокаїну (Lidocaine, код CAS 137-58-6)

Як реагенти, використовували такі окисники:

1. Комерційну потрійну сіль кислоти Каро–Оксон– $2\text{KHSO}_5 \cdot \text{KHSO}_4 \cdot \text{K}_2\text{SO}_4$  (“extra pure”, ACROS ORGANICS). Активною речовиною є калій гідрогенпероксимоносульфат ( $\text{KHSO}_5$ , ПМС). Для приготування  $10^{-2}$  М розчину ПМС наважку (розрахована наважка 307 мг) Оксону кількісно переносили в мірну колбу на 100 мл, розчиняли у 70 мл дистильованої води, перемішуючи, і доводили об'єм дистильованою водою до позначки.
2. Кислоту Каро, синтезовану за реакцією калій пероксисульфату з сульфатною кислотою [12].
3. Метаклорпероксибензенкарбонову кислоту (МХПК) (ACROS ORGANICS). Уміст основної речовини (згідно зі сертифікатом якості) становить 70,2 %; 10,9 % – 3-хлоробензенова кислота, 18,4 % – кристалізаційна вода. Для приготування  $2 \cdot 10^{-3}$  М розчину МХПК наважку (розрахована наважка 48 мг) препарату переносили в мірну колбу на 100 мл, розчиняли у 20 мл етанолу, перемішуючи, і доводили об'єм дистильованою водою до позначки.
4. Пероксифталеву кислоту (ПФК) (SIGMA ALDRICH). Для приготування  $2 \cdot 10^{-3}$  М розчину ПФК наважку (розрахована наважка 50 мг) препарату переносили в мірну колбу на 100 мл, розчиняли у 70 мл дистильованої води, перемішуючи, і доводили об'єм дистильованою водою до позначки.

Робочі розчини кислоти Каро, МХПК і ПФК стандартизували йодометрично.

Для титрування відбирали аліквоту розчину, додавали 2,0 мл 5 % розчину KI. Йод, який виділився, відтитровували стандартизованим розчином натрій тіосульфату за наявності крохмалю. Уміст основної речовини становив 80 % кислоти Каро, 72 % МХПК і 98 % ПФК, що брали до уваги під час обчислення маси наважки окисників.

Для приготування фосфатного буферного розчину розчиняли 15,0 г  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (ч.д.а.) у 100–150 мл дистильованої води, за допомогою 2,5 моль/л розчину натрій гідроксиду доводили рН розчину до потрібного значення (за рН-метром), об'єм розчину доводили до 250 мл дистильованою водою.

Використовували цифрову вольтамперметричну установку [13] з триелектродною електролітичною коміркою (робочий ртутний краплинний електрод (р.к.е.), насичений каломелевий електрод порівняння (н.к.е.), платиновий допоміжний електрод). Характеристики р.к.е.:  $m = 5,9 \cdot 10^{-4}$  г/с,  $\tau_k = 10$  с у 0,2 М розчині  $\text{NH}_4\text{Cl}$  без накладання напруги поляризації. Потенціал накладали зі швидкістю  $V = 0,5$  В/с. Згідно з паспортом приладу точність вимірювання потенціалу становить 1 мВ. Невизначеність вимірювання струму – 0,1 %.

Розчинений кисень з електролітичної комірки усували очищеним аргонном упродовж 10–15 хв.

Значення рН контролювали потенціометрично рН-метром MV 870 DIGITAL-pH-MESSGERÄT з аргентумхлоридним електродом порівняння.

**Результати експерименту.** Амоній або калій персульфат не окиснюють лідокаїн до N-оксиду: на одержаних полярограмах характерний пік відновлення N-оксиду не простежувався.

N-оксиди третинних амінів утворюються у лужному середовищі. Підкисленням реакційної суміші процес окисування зупиняють. Визначили, що оптимальним для окисування є середовище фосфатного буферного розчину з рН=8 для МХПБ і ПФК (рис. 2). Для кислоти Каро залежність струму піка відновлення N-оксиду лідокаїну повністю збігається з аналогічною залежністю для Оксону [10], оскільки в лужному середовищі окисники перебувають у формі пероксимоносульфат-аніона ( $\text{SO}_5^{2-}$ , ПМС).

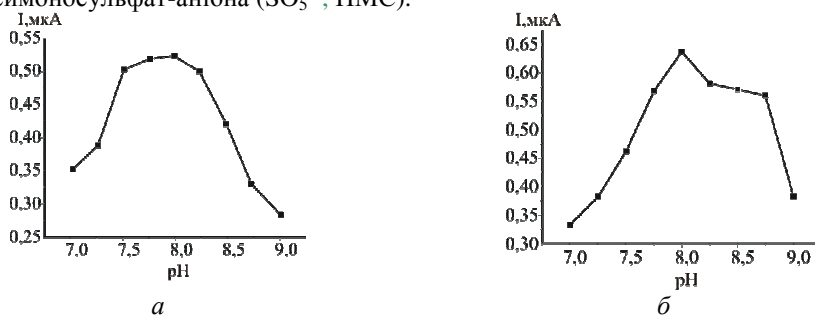


Рис. 2. Залежність струму у піку відновлення N-оксиду лідокаїну від рН окисування,  $C_{\text{лідок}} = 5 \cdot 10^{-5}$  М,  $C_{\text{окисн}} = 10^{-4}$  М, час окисування 10 хв. Полярограми одержані за рН 3 і  $V = 0,5$  В/с, окисники МХПБ (а) і ПФК (б)

Полярографувати N-оксиди, одержані за допомогою ПМС або МХПБ, краще у кислому середовищі (рис. 3). Однак під час використання ПФК значення струму досягає максимуму за рН 6,5 і не зменшується в слаболужній ділянці (рис. 3). Потенціал відновлення N-оксиду також залежить від рН (рис. 3).

Для забезпечення відповідного рН для полярографування (для підкислення розчину від рН 8–9 до рН 3–7) використовували фосфатну кислоту.

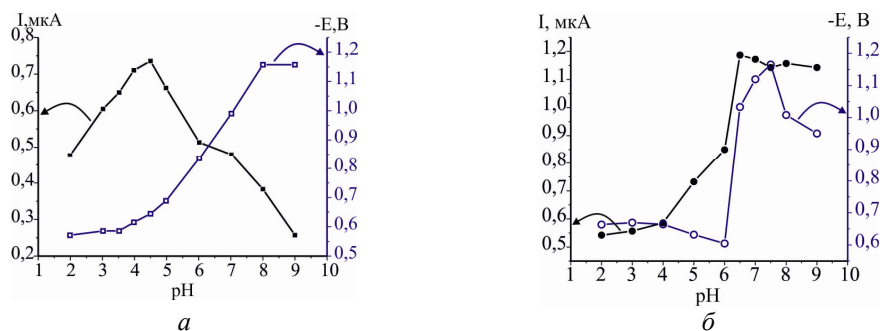


Рис. 3. Залежності струму і потенціалу у піку відновлення N-оксиду лідокаїну від рН полярографування  $C_{\text{лідок}} = 5 \cdot 10^{-5}$  М,  $C_{\text{окисн}} = 10^{-4}$  М, час окисдування 10 хв, фон – фосфатний буферний розчин, окисники МХПК (а) і ПФК (б)

Надлишок реагента є важливим чинником, який впливає на вихід продукту окиснення (рис. 4, а), швидкість окиснення (рис. 4, б), а також на полярографічні характеристики відновлення N-оксиду (рис. 5). Збільшення концентрації (молярного надлишку) МХПК і ПФК у розчині дещо збільшує фоновий струм і змінює фонову лінію. Зауважимо, що на струм відновлення найбільше впливає ПФК, однак на вигляд фонові лінії і на полярограму відновлення N-оксиду лідокаїну загалом суттєво впливає МХПК (рис. 5).

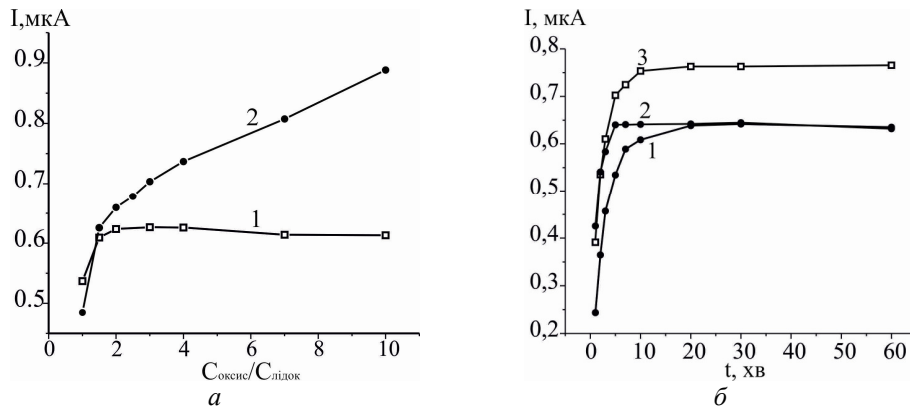


Рис. 4. Залежність струму у піку відновлення N-оксиду лідокаїну від молярного надлишку МХПК (1) і ПФК (2) за час окисдування 10 хв (а) і від часу окисдування (б) за  $C_{\text{МХПК}} = 10^{-4}$  М (1);  $C_{\text{МХПК}} = 2 \cdot 10^{-4}$  М (2),  $C_{\text{ПФК}} = 2 \cdot 10^{-4}$  М (3). Полярографували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

У разі малого надлишку окисника час окисдування повинен становити не до 20 хв (рис. 4, б). Зі збільшенням молярного надлишку окисника час окисдування зменшується: у разі чотирикратного надлишку МХПК для кількісного виходу N-оксиду достатньо 5 хв. ПФК окиснює лідокаїн повільніше: час окисдування повинен бути не меншим, ніж 10 хв (рис. 4, б, крива 3).

Щоб переконатися у тому, що природа і концентрація окисника впливає тільки на полярографічні характеристики відновлення N-оксиду лідокаїну, а продукт окиснення в усіх випадках є однаковий, ми виконали такий експеримент. За відомою методикою [14] одержали очищений від залишку окисника N-оксид лідокаїну: N-оксид вилучили трьома порціями хлороформу по 5 мл, далі реекстрагували трьома порціями по 5 мл розчину  $10^{-3}$  М НСІ. Потім до реекстракту додали 2 мл фосфатного буфера з рН 3, довели до позначки у мірній колбі на 25 мл і полярографували. До інших порцій аналогічно одержаного N-оксиду лідокаїну додавали окисники до їхньої концентрації  $2 \cdot 10^{-4}$  М в кінцевому об'ємі 25 мл. Отримані полярограми наведено на рис. 5. Отже, надлишок органічних пероксикислот впливає тільки на вигляд полярограм, оскільки за наявності різних пероксикислот фонові лінії відрізняються.

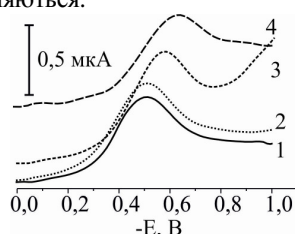


Рис. 5. Полярограми на фоні фосфатного буфера з рН 3,0 у розчинах реекстракту N-оксиду за відсутності окисника (1); за наявності ПМС (2),  $C_{\text{ПМС}} = 10^{-4}$  М; ПФК (3),  $C_{\text{ПФК}} = 2 \cdot 10^{-4}$  М; МХПК,  $C_{\text{МХПК}} = 2 \cdot 10^{-4}$  М.

На підставі досліджень визначили оптимальні умови виконання аналізу з використанням різних окисників (табл. 1).

Таблиця 1

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

| Умови окисдування (одержання N-оксиду)                   | ПМС (Оксон або кислота Каро)   | ПХПК                                 | ПФК                                  |
|--|--------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| Фосфатний буферний розчин (приготування див. вище)       | $C_{\text{зар}} = 0,2$ М, рН 9 | $C_{\text{зар}} = 0,2$ М, рН 8       | $C_{\text{зар}} = 0,2$ М, рН 8       |
| Концентрація окисника                                    | $C_{\text{ПМС}} = 10^{-4}$ М   | $C_{\text{ПМС}} = 2 \cdot 10^{-4}$ М | $C_{\text{ПМС}} = 2 \cdot 10^{-4}$ М |
| Мінімальний молярний надлишок окисника                   | 2                              | 4                                    | 4                                    |
| Час окисдування  | 5 хв                           | 5 хв                                 | 10 хв                                |
| Потенціал $-E, \text{В}$ , за якого вимірювали струм $I$ | 0,51                           | 0,60                                 | 0,56                                 |

У вибраних оптимальних умовах одержали градувальні графіки для визначення лідокаїну з використанням різних окисників.

**Методика одержання градувальних розчинів.** У мірну колбу на 25,0 мл послідовно вносили аліквоти стандартного  $1 \cdot 10^{-3}$  М розчину лідокаїну для одержання розчину заданої концентрації від  $1 \cdot 10^{-6}$  М до  $10^{-4}$  М, у кожену колбу додавали по 2 мл 1,25 М фосфатного буферного розчину (з рН 8,0 у разі використання МХПК або ПФК і рН 9,0 для ПМС) і 2,5 мл вихідного розчину окисника, перемішуючи. Суміш витримували 5 хв для ПМС і МХПК або 10 хв для ПФК, доводили рН до 3, додаючи 1,25 мл 2,5 М розчину  $\text{H}_3\text{PO}_4$ , та доводили об'єм дистильованою водою до позначки. Перенесли розчин до електролізера та знімали полярограми в інтервалі потенціалів від 0 до  $-1,0$  В.

На підставі одержаних результатів обчислено метрологічні характеристики полярографічного визначення лідокаїну у формі його N-оксиду з використанням синтезованої кислоти Каро, МХПК і ПФК (табл. 2). У табл. 2 також зазначено деякі аналітичні характеристики розроблених методик, зокрема стабільність розчину окисника. Концентрацію розчинів контролювали методом йодометричного титрування.

Таблиця 2  
 Характеристика визначення лідокаїну з використанням різних окисників

|   | <b>кислота Каро</b>                              | <b>ПФК</b>                          | <b>МХПК</b>                         |
|---|--|-------------------------------------|-------------------------------------|
| Розчинність окисника у воді   | висока   | низька                              | низька                              |
| Стабільність водного розчину окисника (зменшення концентрації вдвічі) | стійка (не змінюється впродовж чотирьох місяців) | 24 год                              | 24 год                              |
| Межі лінійності   | $1,8 \cdot 10^{-6} - 5 \cdot 10^{-5}$            | $4 \cdot 10^{-6} - 6 \cdot 10^{-5}$ | $4 \cdot 10^{-6} - 8 \cdot 10^{-5}$ |
| R   | 0,9993   | 0,9995                              | 0,9993                              |
| b   | $1,30 \cdot 10^4$                                | $1,29 \cdot 10^4$                   | $1,12 \cdot 10^4$                   |
| a   | $4 \cdot 10^{-2}$                                | 0,13                                | $6 \cdot 10^{-2}$                   |
| RSD (%)   | 1,13   | 0,89                                | 1,24                                |
| C <sub>мін</sub>  | $1,4 \cdot 10^{-6}$                              | $1,2 \cdot 10^{-6}$                 | $1,9 \cdot 10^{-6}$                 |
| C <sub>н</sub>  | $4,2 \cdot 10^{-6}$                              | $3,8 \cdot 10^{-6}$                 | $5,7 \cdot 10^{-6}$                 |

Отже, окисники кислот Каро, Оксон, МХПК і ПФК окиснюють лідокаїн до його N-оксиду – оксидують. Метрологічні характеристики визначення лідокаїну у формі його N-оксиду з використанням усіх досліджених окисників є приблизно однаковими. Проте наявність у розчині надлишку органічних пероксикислот впливає на вигляд фонові лінії і збільшує фоновий струм. Крім того, водні розчини органічних пероксикислот менш стабільні у часі (їхня концентрація зменшується внаслідок розкладання), а оксидування відбувається повільніше. Тому для дериватизації лідокаїну доцільніше використовувати калій пероксимоносульфат: високочистий комерційний Оксон або кислоту Каро, яку легко синтезувати в лабораторних умовах з доступних реактивів.

1. Suzuki O., Watanabe K. Drugs and poisons in humans // A Handbook of Practical Analysis. Springer-Verlag Berlin; Heidelberg New York, 2005. P. 378–389.
2. Державна Фармакопея України. Доп. 4. Державне підприємство Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів. – Харків: 2011. 540 с.
3. Mohammad M. A-A. LC Determination of Lidocaine and Prilocaine Containing Potential Risky Impurities and Application to Pharmaceuticals // Chromatographia. 2009. Vol. 70. N 3–4. P. 563–568.
4. Pendela M., Kahsay G., Simultaneous determination of lidocaine hydrochloride, hydrocortisone and nystatin in a pharmaceutical preparation by RP-LC // J. Pharm. Biomed. 2011. Vol. 56. P. 641–644.
5. ter Weijden E., van den Broek M. P. H., Ververs F. F. T. Easy and fast LC–MS/MS determination of lidocaine and MEGX in plasma for therapeutic drug monitoring in neonates with seizures // J. Chromatogr. B. 2012. Vol. 881–882. P. 111–114.

6. *Pérez-Guaita D., Sánchez-Illana Á.* Determination of lidocaine in urine at low ppm levels using dispersive microextraction and attenuated total reflectance–Fourier transform infrared measurements of dry films // *Microchem. J.* 2015. Vol. 121. P. 178–183.
7. *Блажеєвський М. Є., Анацька Я. Ю.* Кількісне визначення лідокаїну та тримекаїну за реакцією N-оксидування пероксомоносульфатною кислотою // *Фармац. часопис.* 2009. № 2. С. 46–52.
8. *Oliveira R. T. S., Salazar-Banda G. R., Ferreira V. S. et al.* Electroanalytical Determination of Lidocaine in Pharmaceutical Preparations Using Boron-Doped Diamond Electrodes // *Electroanal.* 2007. Vol. 19. N 11. P. 1189–1194.
9. *Oelschläger H., Hoffmann H.* Polarographische Bestimmung des Lidocains in Injektionslösungen // *Arch. Pharmaz.* 1966. Vol. 299. N 12. P. 1025–1030.
10. *Plotycya S., Dubenska L., Blazhejevskij M., Pysarevska S., Sarahman O.* Determination of local anesthetics of amide group in pharmaceutical preparations by cyclic voltammetry // *Electroanal.* 2016. Vol. 28. N 10. P. 2575–2581.
11. *Плотиця С., Дубенська Л., Блажеєвський М., Сарахман О.* Валідація методики полярографічного визначення лідокаїну в розчині для ін'єкцій // *Вісник Львівського університету. Серія хімічна.* 2016. № 57. Ч. 1. С. 203–211.
12. *Карякин Ю. В., Ангелов И. И.* Чистые химические вещества // М.: Химия, 1974. с 178–179.
13. <http://chem.lnu.edu.ua/mtech/mtech.htm>
14. *Крамаренко В. Ф.* Токсикологическая химия // Киев: Вища школа, 1989. 447 с.

## COMPARISON OF OXIDIZING AGENTS AS REAGENTS FOR POLAROGRAPHIC DETERMINATION OF LIDOCAINE

L. Dubenska<sup>1</sup>, S. Plotycya<sup>1</sup>, M. Blazhejevskiy<sup>2</sup>, V. Demel'ko<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Ivan Franko National University of Lviv,  
Kyryla & Mefodija Str., 6, 79005 Lviv, Ukraine  
e-mail: dubensky@gmail.com;*

<sup>2</sup>*National Pharmaceutical University,  
Bljuhera Str., 4, 61168 Kharkiv, Ukraine  
e-mail: blazejowski@ukr.net*

This article presents a comparison of oxidizing agents, such as Caro's acid, Oxon, meta-chloroperoxybenzoic acid (MCPA), and peroxy phthalic acid (PPA), which oxidize lidocaine to its N-oxide. No peaks of reduction of lidocaine N-oxide were obtained when ammonium and potassium persulfates were used as oxidizing agents. When utilizing other investigated oxidants it has been proved that the reduction product of lidocaine is N-oxide. In this case the nature and concentration of these oxidants effected only on polarographic

characteristics of lidocaine N-oxide reduction. Increase of concentration (molar excess) of MCPA and PPA in solution leads to slight increase of background current and change of background line. The greatest effect on reduction current has PPA; however the shape of background line and reduction polarogram of lidocaine N-oxide is generally and sufficiently influenced by MCPA. In addition water solutions of organic peroxy acids are less stable over time (their concentration decreases as a result of decomposition), and oxidation occurs more slowly. Metrological characteristics of polarographic lidocaine determination in the form of its N-oxide with using of all investigated oxidants are nearly the same: linear range –  $n_1 \cdot 10^{-6} - n_2 \cdot 10^{-4}$  M, detection limit –  $1 \cdot 10^{-6}$  M and RSD  $\approx 1$  %.

However the derivatization of lidocaine is more advisable to carry out using peroxymonosulfate: highly pure commercial Oxon or Caro's acid which is easily synthesized in laboratory using available reagents. These reagents are well soluble in water, obtained water solutions are stable for a long time and in addition the excess of oxidant is not necessary to remove.

*Key words:* lidocaine, anesthetics, polarography, oxidant, derivatization.

Стаття надійшла до редколегії 01.11.2016  
Прийнята до друку 04.01.2017