



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21), (22) Заявка: 2007118844/28, 21.05.2007

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
21.05.2007

(45) Опубликовано: 10.03.2009 Бюл. № 7

(56) Список документов, цитированных в отчете о
поиске: SU 1539640 A1, 30.01.1990. RU 2293985
C2, 20.02.2007. JP 2004301775 A, 28.10.2004.
JP 62017655 A, 26.01.1987.Адрес для переписки:
630091, г.Новосибирск, Красный пр-кт, 52,
НГМУ, патентоведу С.Н. Никаноровой

(72) Автор(ы):

Евтухова Елена Николаевна (RU),
Ивановская Елена Алексеевна (RU),
Бадажкова Инна Евгеньевна (RU),
Пашкова Леся Владимировна (RU),
Вовченко Ирина Алексеевна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Государственное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
Новосибирский государственный медицинский
университет Федерального агентства по
здравоохранению и социальному развитию (ГОУ
ВПО НГМУ Росздрава) (RU)(54) ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКИЙ СПОСОБ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ
ЛИДОКАИНА ГИДРОХЛОРИДА

(57) Реферат:

Изобретение относится к области
аналитической химии, в частности к
вольтамперометрическим способам
количественного определения лекарственных
препаратов. Предлагаемый
вольтамперометрический способ определения
лидокаина гидрохлорида [(2-диэтиламино)-N(2,6-
диметилфенил)ацетамид в виде гидрохлорида]
заключается в том, что проводят
электрохимическое концентрирование лидокаина
гидрохлорида на поверхности ртутно-пленочного

электрода в течение 32 с при потенциале
электролиза (-1,3) В на фоне 0,01 моль/л калия
гидроксида, затем регистрируют анодные
вольтамперные кривые при постоянноточковой
скорости развертки потенциала 55 мВ/с и
определяют концентрацию лидокаина
гидрохлорида по высоте пика при потенциале (-0,6)
В относительно хлор-серебряного электрода.
Предлагаемый способ увеличивает
чувствительность (10^{-5} - 10^{-9} мг/мл) и
экспрессность определения (единичное
определение занимает не более 10 мин). 6 табл.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY,
PATENTS AND TRADEMARKS

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**(21), (22) Application: **2007118844/28, 21.05.2007**(24) Effective date for property rights: **21.05.2007**(45) Date of publication: **10.03.2009 Bull. 7**

Mail address:

**630091, g.Novosibirsk, Krasnyj pr-kt, 52,
NGMU, patentovedu S.N. Nikanorovoj**

(72) Inventor(s):

**Evtukhova Elena Nikolaevna (RU),
Ivanovskaja Elena Alekseevna (RU),
Badazhkova Inna Evgen'evna (RU),
Pashkova Lesja Vladimirovna (RU),
Vovchenko Irina Alekseevna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Gosudarstvennoe obrazovatel'noe uchrezhdenie
vysshego professional'nogo obrazovaniya
Novosibirskij gosudarstvennyj meditsinskij
universitet Federal'nogo agentstva po
zdravookhraneniu i sotsial'nomu razvitiju
(GOU VPO NGMU Roszdrava) (RU)**

(54) **VOLTAMPEROMETRIC METHOD FOR QUANTITATIVE LIDOCAINE HYDROCHLORIDE ASSAY**

(57) Abstract:

FIELD: chemistry.

SUBSTANCE: invention concerns analytical chemistry, particularly voltamperometric methods for medicine assay. Claimed voltamperic method of lidocaine hydrochloride [(2-diethylamine)-N(2,6-dimethylphenyl)acetamide in hydrochloride form] assay involves electrochemical concentration of lidocaine hydrochloride on the surface of mercury film electrode for 32 s at electrolysis potential of (-1.3)V in 0.01 mol/l of potassium hydroxide

solution, followed by registration of anode voltamperic curves at direct current potential scan speed of 55 mV/s and determination of lidocaine hydrochloride concentration by peak height at (-0.6)V potential against silver chloride electrode. Claimed method enhances assay sensitivity (10^{-5} - 10^{-9} mg/ml) and rapidity (single assay takes not more than 10 minutes).

EFFECT: enhanced assay sensitivity and rapidity.
2 ex, 6 tbl

Изобретение относится к области аналитической химии, в частности, к вольтамперометрическим способам количественного определения лекарственных препаратов.

Количественное определение лидокаина гидрохлорида [(2-диэтиламино)-N(2,6-
5 диметилфенил)ацетамид в виде гидрохлорида] (ЛГ) является актуальным при оценке эффективности анестезиологического обеспечения в хирургии, акушерстве, гинекологии, стоматологии, в том числе при операциях на сердце.

Известен спектрофотометрический способ количественного определения ЛГ, взятый за прототип [Фармакопейная статья С 42-3180-95. Раствор лидокаина гидрохлорида 1%, 2%,
10 10% для инъекций].

Спектрофотометрический метод основан на способности вещества поглощать ультрафиолетовое излучение определенной длины волны.

При спектрофотометрическом способе количественного определения ЛГ в водном растворе в последний добавляют 95% спирт и 0,1 М хлороводородную кислоту. Измерение
15 оптической плотности проводят в кювете с толщиной слоя раствора 10 мм при длине волны 262,5 нм, где ЛГ имеет максимум поглощения. Измерение проводят относительно 0,1 моль/л водно-спиртового раствора кислоты хлористоводородной (Харитонов Ю.Я. Аналитическая химия. Аналитика 2 (количественный анализ. М.: Высшая школа. - 2001, с.348). Чувствительность спектрофотометрического метода определения ЛГ в модельном
20 растворе составляет 10^{-4} мг/мл, в биологических жидкостях (например, в сыворотке крови) она меньше. Время, необходимое для проведения одного определения вместе с пробоподготовкой, составляет около 60 мин.

Раскрытие изобретения

Предлагаемый способ увеличивает чувствительность способа определения ЛГ и
25 уменьшает время, необходимое для проведения одного количественного определения ЛГ.

Суть предлагаемого вольтамперометрического способа определения ЛГ состоит в том, что проводят электрохимическое концентрирование ЛГ на поверхности ртутно-пленочного электрода в течение 32 сек (при 20°C) при потенциале электролиза (-1,3) В на фоне 0,01
30 моль/л калия гидроксида с последующей регистрацией анодных вольтамперных кривых при постоянноточковой скорости развертки потенциала 55 мВ/с, а концентрацию ЛГ определяют по высоте пика при потенциале (-0,6) В относительно хлорсеребряного электрода.

Определение ЛГ проводят на вольтамперометрическом анализаторе ТА-4.

Для электрохимического концентрирования ЛГ на поверхности ртутно-пленочного (игольчатого) электрода через раствор при перемешивании пропускают газообразный азот с содержанием кислорода менее 0,001% в течение 70 сек и, не прекращая подачи азота и перемешивания раствора, проводят электролиз раствора при потенциале (-1,3) В в течение 32 с.

Все условия определения ЛГ подобраны экспериментально. Приготовление фоновых и стандартных растворов органического вещества в воде является общепринятым.

40 В процессе поиска оптимальных условий вольтамперометрического определения ЛГ было изучено влияние ряда факторов на высоту аналитического сигнала: индикаторного электрода; фонового электролита, его концентрация и pH; времени и потенциала электролиза; скорости и варианта развертки потенциала.

В качестве индикаторного (рабочего) электрода были исследованы стеклоуглеродный,
45 графитовый и ртутно-пленочный электроды. Для осуществления предлагаемого способа был выбран последний, представляющий собой пленку ртути на серебряной проволоке, упакованной во фторопластовый пакет (игольчатый электрод). Преимуществом такого электрода является возможность получения более узких и высоких пиков ЛГ, служащих аналитической характеристикой определяемого вещества, что повышает разрешающую
50 способность метода. Органические вещества способны образовывать с ртутью устойчивые комплексы или трудно растворимые соли.

В качестве фоновых электролитов были исследованы растворы Бриттена-Робинсона; гидроксидов натрия, калия; хлоридов натрия, кальция; сульфатов и нитратов натрия,

калия, алюминия, аммония. Исходя из полученных результатов, в качестве фонового электролита был выбран раствор калия гидроксида, так как на нем наблюдалась четкая волна восстановления ЛГ. Кроме того, данный раствор обеспечивал широкую рабочую область, хорошую электропроводность и необходимую площадь для обработки сигнала,

5 был прост в приготовлении и имел продолжительный срок годности.

Оптимальная концентрация раствора калия гидроксида составила 0,01 моль/л. В более концентрированных растворах не наблюдали прироста величины пика от добавки стандартного раствора ЛГ, тогда как более разбавленный раствор был неустойчив во времени.

10 Диапазон возможных значений pH фонового электролита составил 11,0-12,0. В нейтральной среде при подобранных условиях сигнал ЛГ отсутствовал, а в кислой - резко сужалась рабочая область и возрастала величина остаточного тока, при этом невозможно было зафиксировать пик ЛГ. Результаты эксперимента показали, что оптимальным решением является электролиз без добавления дополнительных буферных растворов, что

15 соответствует необходимым границам pH 11,0-12,0.

Оптимальное время накопления ЛГ на электроде составило 32 с. При этом достигается максимальное значение величины тока растворения накопленных осадков с поверхности ртутно-пленочного электрода и хорошая воспроизводимость результатов его количественного определения. При увеличении времени накопления более 32 с происходит насыщение осадка на электроде, аналитический сигнал ЛГ искажается и затрудняется обработка полярограмм. При времени накопления менее 32 с величина тока растворения не достигает максимального значения, что снижает чувствительность определения исследуемого вещества (табл.1).

20

Оптимальный потенциал электролиза составил (-1,3) В. При значениях потенциала электролиза менее (-1,3) В величина регистрируемого анодного тока значительно уменьшается, что снижает чувствительность определения, а при значениях потенциала электролиза более (-1,3) В происходит частичное накопление осадка и электрохимическое разрушение электрода (табл.2).

25

Экспериментально найденная оптимальная скорость развертки потенциала составила 30 55 мВ/с. Изменение скорости развертки потенциала в сторону увеличения или уменьшения заметно снижало высоту аналитического сигнала, при этом уменьшалась и разрешающая способность метода, что затрудняло обработку полярограмм, увеличивало время анализа и не позволяло определять очень низкие концентрации ЛГ.

30

Оптимальным вариантом развертки потенциала был выбран постоянноточковый (линейное изменение потенциала - это один из стандартных вариантов развертки, введенный в программу режима работы прибора). Данный вариант развертки потенциала был выбран по той причине, что в этом случае аналитический сигнал выявлялся четко.

35

Чувствительность предлагаемого вольтамперометрического способа определения ЛГ в модельном растворе и в сыворотке крови составляет 10^{-5} - 10^{-9} мг/мл. Относительное стандартное отклонение (ошибка определения) для данного диапазона концентраций ЛГ не превышает 1% в модельном растворе и 2% в сыворотке крови.

40

Предлагаемый способ не предполагает дополнительной пробоподготовки, как при спектрофотометрическом способе определения ЛГ (разведение анализируемого раствора или сыворотки, приготовление раствора стандартного образца, приготовление раствора сравнения). Время, необходимое для проведения единичного определения ЛГ, не превышает 10 мин.

45

Пример 1. Определение ЛГ методом анодной вольтамперометрии с накоплением в модельном растворе.

В стаканчик емкостью 20 мл наливают 10 мл 0,01 моль/л раствора калия гидроксида. При потенциале (-1,3) В раствор деаэрируют азотом с содержанием кислорода менее 0,001% в течение 70 с и, не прекращая перемешивания и подачи азота, проводят электролиз при потенциале (-1,3) В в течение 32 с. Фиксируют вольтамперограмму при постоянноточковой скорости развертки потенциала 55 мВ/с. Отсутствие пиков

50

свидетельствует о чистоте фона.

Затем добавляют 0,01 мл стандартного раствора ЛГ с концентрацией 10^{-5} мг/мл. При потенциале (-1,3) В раствор деаэрируют азотом с содержанием кислорода менее 0,001% в течение 70 с и, не прекращая перемешивания и подачи азота, проводят электролиз при потенциале (-1,3) В в течение 32 с. Фиксируют вольтамперограмму при постоянной скорости развертки потенциала 55 мВ/с.

Аналитический сигнал регистрируют при значении потенциала (-0,6) В.

Время единичного анализа не превышает 10 мин.

Правильность установленных параметров методики проверяли методом «введено-найденно» (табл.3); (табл.4).

Пример 2. Определение ЛГ методом анодной вольтамперометрии с накоплением в биологической среде (сыворотке крови).

В стаканчик емкостью 20 мл наливают 10 мл 0,01 моль/л раствора калия гидроксида. При потенциале (-1,3) В раствор деаэрируют азотом с содержанием кислорода менее 0,001% в течение 70 с и, не прекращая перемешивания и подачи азота, проводят электролиз при потенциале (-1,3) В в течение 32 с. Фиксируют вольтамперограмму при постоянной скорости развертки потенциала 55 мВ/с. Отсутствие пиков свидетельствует о чистоте фона.

Затем добавляют 0,01 мл сыворотки крови, содержащей ЛГ. При потенциале -1,3 В раствор деаэрируют азотом с содержанием кислорода менее 0,001% в течение 70 с и, не прекращая перемешивания и подачи азота, проводят электролиз при потенциале -1,3 В в течение 32 с. Фиксируют вольтамперограмму при постоянной скорости развертки потенциала 55 мВ/с.

Затем добавляем 0,01 мл стандартного раствора ЛГ с концентрацией 10^{-5} мг/мл. При потенциале (-1,3) В раствор деаэрируют азотом с содержанием кислорода менее 0,001% в течение 70 с и, не прекращая перемешивания и подачи азота, проводят электролиз при потенциале (-1,3) В в течение 32 с. Фиксируют вольтамперограмму при постоянно-токовой скорости развертки потенциала 55 мВ/с.

Аналитический сигнал регистрируют при значении потенциала (-0,6) В. По высоте пика прибор определяет концентрацию ЛГ в сыворотке крови.

Время единичного анализа не превышает 10 мин.

Правильность установленных параметров методики также была проверена методом «введено-найденно» (табл.5); (табл.6).

35

Влияние времени электролиза на высоту аналитического сигнала				Таблица 1
№ п/п	Концентрация раствора стандартного образца ЛГ в электролитической ячейке, мг/мл	Время электролиза, с	Высота аналитического сигнала, мкА	
1	$2 \cdot 10^{-5}$	20	0,214	
2		25	0,270	
3		30	0,379	
4		32	0,408	
5		35	0,421	
6		40	0,484	

Примечание: потенциал электролиза составляет (-1,3) В; границы развертки потенциала от (-1,3) В потенциал электролиза, до (-0,35) В потенциал растворения; скорость развертки потенциала составляет 55 мВ/с.

45

Влияние потенциала электролиза на высоту аналитического сигнала				Таблица 2
№ п/п	Концентрация раствора стандартного образца ЛГ в электролитической ячейке, мг/мл	Потенциал электролиза, В	Высота аналитического сигнала, нА	
1	$2 \cdot 10^5$	-1,2	0,265	
2		-1,25	0,314	
3		-1,3	0,350	
4		-1,35	0,421	

Примечание: время электролиза - 32 с; границы развертки потенциала от (-1,3) до (-0,35) В; скорость развертки потенциала составляет 55 мВ/с.

Таблица 3

Результаты теста «введено-найденно» количественного определения лидокаина гидрохлорида в модельном растворе							
Введено С·10 ⁻⁵ мг/мл	Найдено С _х ·10 ⁻⁵ мг/мл						
	1	2	3	4	5	6	7
2·10 ⁻⁵	2,03	1,98	2,01	1,98	1,99	2,02	1,98
· - знак умножения.							
Расчет относительной ошибки метода (ε) ε=(ΔX/X _{ср})·100%=(0,00021157/0,019985714)·100%=0,98%.							
С	0,02034; 0,0198; 0,0201; 0,0, 198; 0,0199; 0,0202; 0,0198						
п	7						
X _{ср}	0,019985714						
S	0,00021157						
ΔX	0,000195917 (P=0,95)						
X _{ср} ±ΔX	0,019985714±0,000195917						
ε	0,980283447%.						

5

10

Результаты теста «введено-найденно» количественного определения лидокаина гидрохлорида в модельном растворе							
Введено С·10 ⁻⁹ мг/мл	Найдено С _х ·10 ⁻⁹ мг/мл						
	1	2	3	4	5	6	7
2·10 ⁻⁹	2,01	1,97	1,98	2,01	1,99	2,02	2,02
· - знак умножения.							
Расчет относительной ошибки метода (ε) ε=(ΔX/X _{ср})·100%=0,926%							
С·10 ⁻⁹	2,01; 1,97; 1,98; 2,01; 1,99; 2,02; 2,02						
N	7						
X _{ср}	0,000000002						
S	0,00000000002						
ΔX	0,00000000018520268 (P=0,95)						
X _{ср} ±ΔX	0,000000002±0,00000000018520268						
E	0,926%.						

15

20

25

Результаты теста «введено-найденно» количественного определения лидокаина гидрохлорида в сыворотке крови							
Введено С·10 ⁻⁵ мг/мл	Найдено С _х ·10 ⁻⁵ мг/мл						
	1	2	3	4	5	6	7
2·10 ⁻⁵	1,99	2,05	1,97	2,04	1,98	2,06	2,06
Расчет относительной ошибки метода (ε) ε=(ΔX/X _{ср})·100%=(0,000398/0,020214)·100%=1,8%							
С мг/л	0,0199; 0,0205; 0,0197; 0,0204; 0,0198; 0,0206; 0,0206						
N	7						
X _{ср}	0,020214						
S	0,000398						
ΔX	0,000368 (P=0,95)						
X _{ср} ±ΔX	0,019985714±0,000368						
E	1,821453%.						

30

35

40

Результаты теста «введено-найденно» количественного определения лидокаина гидрохлорида в сыворотке крови							
Введено С·10 ⁻⁹ мг/мл	Найдено С _х ·10 ⁻⁹ мг/мл						
	1	2	3	4	5	6	7
2·10 ⁻⁹	2,07	2,01	2,03	1,99	2,01	1,99	2,02
Расчет относительной ошибки метода (ε) ε=(ΔX/X _{ср})·100%=1,36%							
С мг/л	2,07; 2,01; 2,03; 1,99; 2,01; 1,99; 2,02						
N	7						
X _{ср}	0,000000002017						
S	0,00000000027516						
ΔX	0,000000000275 (P=0,95)						
X _{ср} ±ΔX	0,000000002017±0,000000000275						
E	1,36%						

45

50

Формула изобретения

Способ вольтамперометрического определения лидокаина гидрохлорида [(2-диэтиламино)-N(2,6-диметилфенил)ацетамид в виде гидрохлорида], характеризующийся тем, что проводят электрохимическое концентрирование лидокаина гидрохлорида на поверхности ртутно-пленочного электрода в течение 32 с при потенциале электролиза (-1,3)В на фоне 0,01 моль/л калия гидроксида, затем регистрируют анодные вольтамперные кривые при постоянно-токовой скорости развертки потенциала 55 мВ/с и определяют концентрацию лидокаина гидрохлорида по высоте пика при потенциале (-0,6)В относительно хлорсеребряного электрода.

15

20

25

30

35

40

45

50