

УДК 543.424:615.074

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОДЕИНА В ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТАХ МЕТОДОМ СПЕКТРОСКОПИИ ДИФФУЗНОГО ОТРАЖЕНИЯ

© В. В. Немихин¹, С. В. Качин², С. И. Метелица²,
В. Н. Лосев², С. А. Сагалаков², Т. С. Шахворостова¹

Статья поступила 8 июля 2015 г.

Разработана методика определения кодеина (25 – 1000 мкг/мл) методом спектроскопии диффузного отражения применительно к кодеинсодержащим лекарственным препаратам с предварительным ТСХ-отделением сопутствующих компонентов. Рассчитанный предел обнаружения составляет 9 мкг/мл, а относительное стандартное отклонение не превышает 0,05. Методика успешно апробирована при определении кодеина в образцах препаратов «Седальгин НЕО», «Пенталгин-Н», «Пенталгин Плюс». Полученные результаты определения кодеина в данных препаратах позволяют рекомендовать разработанную методику для использования в практике экспертных учреждений.

Ключевые слова: кодеин; определение; спектроскопия диффузного отражения; лекарственные препараты.

В последние годы в практике судебно-медицинской экспертизы отмечался рост числа определений анальгетика кодеина. До недавнего времени из кодеина (кодеинсодержащих препаратов) в больших количествах нелегально синтезировали опиоидный анальгетик дезоморфин (сленговое название — «крокодил»). Исходным сырьем для его производства часто служили комбинированные лекарственные препараты, содержащие кодеин: «Пенталгин-Н», «Пенталгин Плюс», «Седальгин-Нео» и др. Это явилось одной из причин ужесточения порядка их отпуска физическим лицам в аптечной сети [1].

Данные препараты содержат кодеин, метамизол натрия, парацетамол, фенобарбитал, напроксен, пропифеназон и кофеин в различных сочетаниях, а также ряд вспомогательных веществ (табл. 1) [2]. Для их определения наиболее эффективными являются хроматографические методы [3], причем в зависимости от целей исследования используют как относительно сложные (ВЭЖХ), так и более простые (ТСХ) варианты этих методов [4].

Ранее нами показана возможность люминесцентного определения кодеина в фармацевтических препаратах, включающая стадии извлечения, ТСХ-отделения от сопутствующих компонентов и элюирования в раствор [5].

¹ Красноярское краевое бюро судебно-медицинской экспертизы, г. Красноярск, Россия; e-mail: basilefs88@mail.ru

² Сибирский федеральный университет, г. Красноярск, Россия.

Целью данной работы являлась разработка методики определения кодеина применительно к кодеин-содержащим лекарственным препаратам, включая предварительное ТСХ-отделение от сопутствующих компонентов и последующее определение непосредственно на хроматографической пластинке методом спектроскопии диффузного отражения.

Исходный раствор, содержащий 1 мг/мл кодеина фосфата, готовили растворением точной навески препарата в 96 %-ном этаноле.

Для исследования были взяты таблетки следующих лекарственных препаратов: «Пенталгин Плюс» (ОАО «Фармстандарт-Лексредства», г. Курск, Россия); «Пенталгин Н» (ОАО «Фармстандарт-Лексредства», г. Курск, Россия); «Седальгин-Нео» («Балканфарма-Дупница АД», г. Дупница, Болгария).

Использовали стандартный набор для хроматографии в тонких слоях сорбента. Хроматографическое разделение проводили на пластинках Sorbfil ПТСХ-П-А, 10 × 15 см (Лабтех, Россия). Для проявления хроматографической зоны кодеина использовали реактив Драгендорфа, который готовили по прописи [6].

Коэффициенты диффузного отражения (R) измеряли с применением спектроколориметра «Пульсар» (ОКБА НПО «Химвавтоматика», Узбекистан). Спектры диффузного отражения приведены в координатах функция Гуревича – Кубелки – Мунка $F(R) = \frac{1}{1 - R} - \frac{1}{1 - R_0}$ — длина волны (нм).

Извлечение кодеина из лекарственных препаратов проводили методом, применяемым в практике химико-токсикологического изолирования алкалоидов и других токсических веществ из биологического материала (модификация метода А. А. Васильевой) [6]. Для этого таблетку каждого лекарственного препарата тщательно измельчали в фарфоровой чашке, переносили в делительные воронки на 100 мл, растворяли в 10 мл 0,01 М HCl и настаивали в течение 30 мин при периодическом перемешивании. Далее трижды экстрагировали порциями диэтилового эфира по 10,5, 5 мл в течение 15 мин. Объединенные экстракты, так называемые «кислые извлечения» из лекарственных препаратов, содержат фенobarбитал, парацетамол и напроксен [7].

Водные остатки подщелачивали 25 %-ным раствором аммиака до pH 10 и трижды экстрагировали

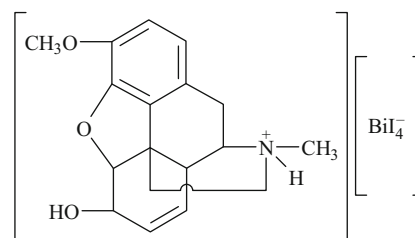


Рис. 1. Ионный ассоциат кодеина с реактивом Драгендорфа

порциями хлороформа по 5 мл в течение 15 мин. Органические фазы фильтровали через бумажные фильтры (красная лента) и выпаривали досуха при комнатной температуре. Сухой остаток растворяли в 20 мл 96 %-ного этанола. Экстракты, так называемые «щелочные извлечения», содержащие кодеин, метамизол натрия, пропифеназон и кофеин [7], использовали для определения кодеина.

На первом этапе проводили ТСХ-разделение компонентов смеси в условиях, описанных в работе [5]. При этом удается достичь удовлетворительного разделения кодеина ($R_f = 0,26$) и сопутствующих ему в «щелочных извлечениях» метамизола натрия ($R_f = 0,65$), пропифеназона ($R_f = 0,60$) и кофеина ($R_f = 0,66$).

По окончании ТСХ-разделения хроматографическую пластинку опрыскивали реактивом Драгендорфа (тетрайодовисмутатом калия $K[BiI_4]$, который широко используют для обнаружения кодеина в тонком слое сорбента при проведении соответствующих экспертиз) [6].

При взаимодействии кодеина с реактивом Драгендорфа в твердой фазе образуется ионный ассоциат (рис. 1) с характерной для него оранжевой окраской [6]. При этом интенсивность окраски пятна возрастает по мере увеличения концентрации кодеина в исходном растворе (рис. 2).

Спектр диффузного отражения поверхностного ионного ассоциата кодеина с реактивом Драгендорфа представляет собой широкую полосу с максимумом при 520 нм (рис. 3).

На рис. 4 приведена зависимость $\Delta F(R) = \frac{1}{1 - R} - \frac{1}{1 - R_0}$, где R и R_0 — коэффициенты диффузного отражения в зоне пятна и фона обработанной хроматографической пластинки соответственно, от концентрации реактива Драгендорфа при со-

Таблица 1. Состав некоторых кодеинсодержащих препаратов

Наименование препарата	Состав таблетки препарата	
	Основные компоненты, мг	Вспомогательные вещества
Пенталгин-Н	Метамизол натрия, 300 Напроксен, 100 Кофеин, 50 Фенobarбитал, 10 Кодеина фосфат, 8	Крахмал картофельный, поливинилпирролидон низкомолекулярный (повидон), цитрат натрия, стеарат магния
Пенталгин Плюс	Парацетамол, 300 Пропифеназон, 250 Кофеин, 50 Фенobarбитал, 10 Кодеина фосфат, 8	Диоксид кремния коллоидный (аэросил), карбоксиметилкрахмал натрия, повидон (пласдон к25), микрокристаллическая целлюлоза, додецилсульфат натрия, стеариновая кислота, тальк
Седальгин-Нео	Парацетамол, 300 Метамизол натрия, 150 Кофеин, 50 Фенobarбитал, 15 Кодеина фосфат, 10	Микрокристаллическая целлюлоза, повидон, крахмал пшеничный, кросповидон, метабисульфит натрия, тальк, стеарат магния

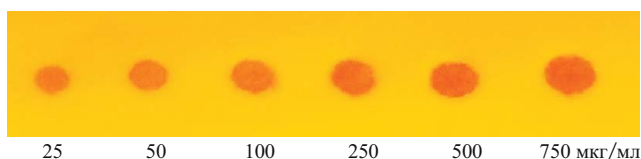


Рис. 2. Окраска пятен кодеина при различных его концентрациях на хроматографической пластинке после обработки реактивом Драгендорфа

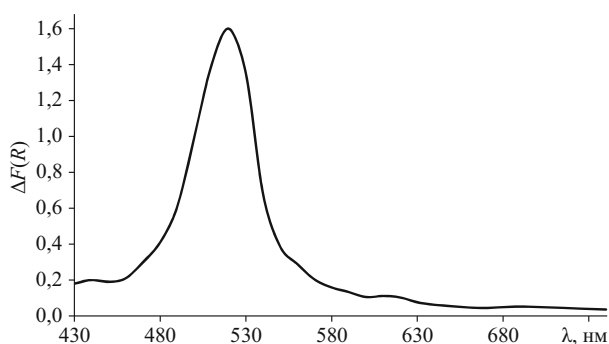


Рис. 3. Спектр диффузного отражения поверхностного ионного ассоциата кодеина с реактивом Драгендорфа

держании кодеина в исходном растворе 250 мкг/мл. Как видно из рис. 4, при концентрациях реактива Драгендорфа в диапазоне $1,2 \cdot 10^{-2} - 2,0 \cdot 10^{-2}$ моль/л наблюдается максимальное и постоянное значение аналитического сигнала — $\Delta F(R)$. После завершения проявления хроматографической пластинки интенсивность окраски пятна и значение $\Delta F(R)$ остаются постоянными в течение 5 – 60 мин.

В найденных оптимальных условиях образование окрашенного поверхностного ионного ассоциата использовали для определения кодеина непосредственно в твердой фазе методом спектроскопии диффузного отражения.

Построение градуировочного графика. Из исходного раствора кодеина в этаноле (1000 мкг/мл) путем разбавления готовили рабочие растворы следующих концентраций: 25, 50, 100, 250, 500, 750 мкг/мл. На хроматографические пластинки наносили по 0,2 мл полученных рабочих растворов. Нанесенные на пластинку пробы растворов высушивали на воздухе, пла-

Таблица 2. Результаты определения кодеина в фармацевтических препаратах методом спектроскопии диффузного отражения ($n = 5$; $P = 0,95$)

Наименование препарата	Содержание кодеина* $\bar{x} \pm \frac{t_{p^S}}{\sqrt{n}}$, мг		S_r
	Рецептурные данные	Найдено	
Пенталгин Плюс	8	$7,7 \pm 0,5$	0,05
Пенталгин Н	8	$8,2 \pm 0,5$	0,05
Седалгин-Нео	10	$10,2 \pm 0,5$	0,04

* В пересчете на кодеина фосфат.

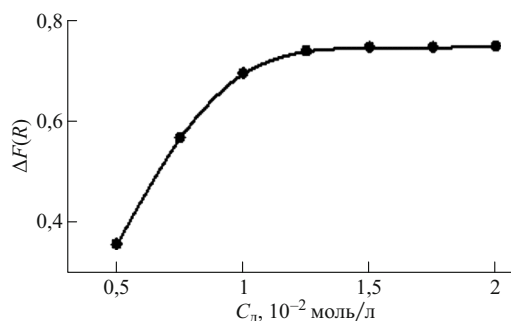


Рис. 4. Зависимость $\Delta F(R)$ от концентрации реактива Драгендорфа (C_d) при содержании кодеина в исходном растворе 250 мкг/мл

стинку переносили в камеру для хроматографирования, насыщенную парами растворителей (ацетон – хлороформ – аммиак в соотношении 24:12:1). После продвижения фронта растворов на 10 см выше линии старта пластинку вынимали из камеры, высушивали на воздухе и опрыскивали раствором реактива Драгендорфа. После обработки регистрировали значения R в области проявленной зоны кодеина непосредственно на хроматографической пластинке при 520 нм по отношению к образцу сравнения (фон пластинки) — R_0 . Уравнение градуировочной зависимости в координатах $\Delta F(R)$ — концентрация кодеина, мкг/мл: $y = 0,002x$ ($R^2 = 0,997$). Предел обнаружения кодеина, рассчитанный по $3s$ -критерию, равен 9 мкг/мл ($n = 5$; $P = 0,95$). Градуировочный график линеен до 1000 мкг/мл кодеина.

Методика определения кодеина в фармацевтических препаратах. Аликвоту этанольного раствора «щелочных извлечений» (0,2 мл) наносили на линию старта хроматографической пластинки. Правее на расстоянии 2 см на линию старта наносят каплю раствора «свидетеля» и далее поступают как описано выше. В области проявленной зоны кодеина непосредственно на хроматографической пластинке измеряют значения R и R_0 при длине волны 520 нм, рассчитывают значение $\Delta F(R)$ и находят содержание кодеина по градуировочному графику. Оценку правильности результатов определения кодеина проводили методом «введено – найдено». Результаты определения кодеина в фармацевтических препаратах приведены в табл. 2.

Как видно из табл. 2, предлагаемая методика позволяет получать результаты по содержанию кодеина в фармацевтических препаратах, сопоставимые с рецептурными данными. Методика существенно сокращает время анализа (по сравнению с люминесцентным определением) и уменьшает вероятность потери определяемого компонента на стадиях его элюирования с хроматографической пластинки и последующего фильтрования раствора.

Таким образом, разработана методика определения кодеина (25 – 1000 мкг/мл) методом спектроскопии диффузного отражения применительно к кодеинсодержащим лекарственным препаратам с предва-

рительным ТСХ-отделением сопутствующих компонентов с пределом обнаружения кодеина 9 мкг/мл и относительным стандартным отклонением, не превышающим 0,05.

Методика успешно апробирована при анализе кодеинсодержащих препаратов «Пенталгин Плюс», «Пенталгин Н», «Седальгин-Нео». Полученные результаты определения кодеина в данных лекарственных препаратах позволяют рекомендовать разработанную методику для использования в практике экспертных учреждений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Приказ Министерства здравоохранения и социального развития РФ от 17 мая 2012 г. № 562н «Об утверждении Порядка отпуска физическим лицам лекарственных препаратов для медицинского применения, содержащих кроме малых количеств наркотических средств, психотропных веществ и их прекурсоров другие фармакологические активные вещества».
2. Электронная энциклопедия лекарств. 2015. Вып. 23. — М.: Издательская группа РЛС, 2015.
3. **Drummer O. H.** Chromatographic screening techniques in systematic toxicological analysis / *J. Chromatogr. B.* 1999. Vol. 733. N 1–2. P. 27–45.
4. **Паньжин В. С., Будко Е. В., Голубицкий Г. Б.** Применение ТСХ для контроля качества многокомпонентных препаратов «Пенталгин ФС» и «Пенталгин Н» / *Заводская лаборатория. Диагностика материалов.* 2009. Т. 75. № 8. С. 25–27.
5. **Немихин В. В., Качин С. В., Шахворостова Т. С.** Изучение спектролюминесцентных свойств кодеина с целью его определения в не-

которых лекарственных препаратах / *Журн. Сибирского Федерального ун-та. Химия.* 2012. Т. 5. № 3. С. 289–295.

6. **Крамаренко В. Ф.** Токсикологическая химия. — Киев: Высшая школа, 1989. — 447 с.
7. **Moffat A. C., Osselton M. D., Widdop B.** Clarke's analysis of drugs and poisons in pharmaceuticals, body fluids and postmortem material. — London: Pharmaceutical press, 2011. — 2473 p.

REFERENCES

1. The Order of the Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation dated May 17, 2012 N 562n "On approval of the release of drugs to individuals for medical use, in addition to containing small quantities of narcotic drugs, psychotropic substances and their precursors other pharmacological substances" [in Russian].
2. *Élektronnaya éntsiklopediya lekarstv* [Electronic encyclopedia of drugs.]. 2015. Issue 23. — Moscow: Izdatelskaya gruppa RLS, 2015 [in Russian].
3. **Drummer O. H.** Chromatographic screening techniques in systematic toxicological analysis / *J. Chromatogr. B.* 1999. Vol. 733. N 1–2. P. 27–45.
4. **Pan'zhin V. S., Budko E. V., and Golubitskii G. B.** Primenenie T-SKh dlya kontrolya kachestva mnogokomponentnykh preparatov "Pentalgin FS" i "Pentalgin N" [Using of thin layer chromatography in the control of Multi-Component Drugs "Pentalgin FS" and "Pentalgin N"] / *Zavod. Lab. Diagn. Mater.* 2009. Vol. 75. N 8. P. 25–27 [in Russian].
5. **Nemikhin V. V., Kachin S. V., Shakhvorostova T. S.** Izuchenie spektrolyuminestsentnykh svoystv kodeina s tsel'yu ego opredeleniya v nekotorykh lekarstvennykh preparatakh [Study of spectroluminescent properties of codeine for it's determination in some drugs] / *Zh. Sib. Fed. Univ. Khimiya.* 2012. Vol. 5. N 3. P. 289–295.
6. **Kramarenko V. F.** Toksikologicheskaya khimiya [Toxicological chemistry]. — Kiev: Vysshaya shkola, 1989. — 447 p [in Russian].
7. **Moffat A. C., Osselton M. D., Widdop B.** Clarke's analysis of drugs and poisons in pharmaceuticals, body fluids and postmortem material. — London: Pharmaceutical press, 2011. — 2473 p.