

Применение высаливания для извлечения гидрофильных физиологически активных веществ из водных растворов для их дальнейшего хроматографического определения

С.М. Лещев¹, *О.Н. Михнюк², К.Д. Крыжный², М.Ф. Заяц¹

¹ Белорусский Государственный Университет, Республика Беларусь, 220050, г. Минск, ул. Ленинградская, 14.

² Государственный институт повышения квалификации и переподготовки кадров таможенных органов Республики Беларусь, Республика Беларусь, 220007, г. Минск, ул. Могилевская 45/4.

*Адрес для переписки: Ольга Николаевна Михнюк, E-mail: mikhniuk.volha@yahoo.com

Поступила в редакцию 15 сентября 2019 г., после исправлений – 15 октября 2019 г.

С использованием методов газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектором квадрупольного типа и с пламенно-ионизационным детектором, а также высокоэффективной жидкостной хроматографии с диодно-матричным детектором определены константы распределения кодеина, фенобарбитала, модафинила, адрафинила, псевдоэфедрина для систем гексан-вода, гексан-водные растворы неорганических солей (хлорид натрия, гидрофосфат калия, карбонат калия и сульфат аммония), хлороформ-вода, хлороформ-водные растворы неорганических солей (хлорид натрия, гидрофосфат калия, карбонат калия и сульфат аммония). Показана принципиальная возможность количественного извлечения всех исследованных веществ из водных матриц с применением высаливания. Установлены закономерности высаливания изученных веществ из водных растворов. В частности, высаливающая способность солей резко увеличивается с увеличением заряда аниона соли. Значительное влияние на эффект высаливания оказывает природа экстрагируемого соединения. Так показано, что в гексан могут быть количественно извлечены следующие соединения: кодеин, модафинил, афрафинил. Фенобарбитал и псевдоэфедрин ввиду их высокой гидрофильности количественно не извлекаются гексаном даже при концентрации соли близкой к насыщению. Для экстракции фенобарбитала и псевдоэфедрина использован более активный, но менее селективный хлороформ. На основании полученных величин констант распределения веществ и их кислотно-основных свойств предложены экстракционные методики пробоподготовки различных объектов при определении в них изученных веществ с использованием высаливания. Апробирована методика определения псевдоэфедрина и кодеина в лекарственных препаратах, основанная на предварительном удалении матричных компонентов хлороформом из водного кислого раствора и последующим подщелачиванием, высаливанием и экстракцией хлороформом. Характеристики методик: нижний предел обнаружения составляет: для псевдоэфедрина – 0.09 г/дм³, для кодеина – 0.07 г/дм³, стандартное отклонение не превышает 4 % для обоих веществ, диапазон определяемых концентраций: для псевдоэфедрина – 0.09 – 3.00 г/дм³, для кодеина – 0.07 – 4.00 г/дм³.

Ключевые слова: высаливание, хроматография, инкремент метиленовой группы, структура раствора, константа Сеченова

For citation: *Analitika i kontrol'* [Analytics and Control], 2019, vol. 23, no. 4, pp. 494-500

DOI: 10.15826/analitika.2019.23.4.004

The use of salting out for the extraction of hydrophilic biologically active substances from the aqueous solutions for their further chromatographic determination

S.M. Leshchev¹, *O.N. Mikhniuk², K.D. Kryzhny², M.F. Zayats¹

¹ Belarusian State University, ul. Leningradskaya, 14, Minsk, 220050, Republic of Belarus

² State institute of advanced training and retraining of customs authorities of the Republic of Belarus, ul. Mogilevskaya, 45/4, Minsk, 220007, Republic of Belarus

*Corresponding author: Olga N. Mikhniuk, E-mail: mikhniuk.volha@yahoo.com

Submitted 15 September 2019, received in revised form 15 October 2019

Using gas chromatography methods with the quadrupole mass spectrometric detector and flame ionization detector, as well as high-performance liquid chromatography with the diode-matrix detector, the distribution constants of codeine, phenobarbital, modafinil, adrafinil, pseudoephedrine for hexane-water, hexane-water systems of inorganic salt solutions (sodium chloride, dipotassium phosphate, potassium carbonate and ammonium sulfate), chloroform-water, chloroform-aqueous solutions of inorganic salts (sodium chloride, dipotassium phosphate, potassium carbonate and ammonium sulfate) were determined. The principal possibility of quantitative extraction of all the investigated substances from the aqueous matrices by salting out was shown. The patterns of salting out of the studied substances from the aqueous solutions were established. In particular, the salting out ability of salts increased sharply with the increasing charge of the salt anion. A significant effect on the salting out effect was exerted by the nature of the extracted compound. It has been shown that the following compounds could be quantitatively recovered in the hexane: codeine, modafinil, and afracinil. Due to their high hydrophilicity, phenobarbital and pseudoephedrine were not quantitatively extracted with the hexane even at the salt concentration close to the saturation. For the extraction of phenobarbital and pseudoephedrine, the more active but less selective chloroform was used. Based on the obtained values of the distribution constants of the substances and their acid-base properties, the extraction methods for the sample preparation of the various objects were proposed with determining the studied substances in them using salting out. The methodology for the determination of pseudoephedrine and codeine in drugs was tested. It was based on the preliminary removal of the matrix components by chloroform from the aqueous acidic solution and subsequent alkalization, salting out, and extraction with chloroform. The characteristics of the methods were as follows: detection limit for pseudoephedrine - 0.09 g/dm³ and for codeine - 0.07 g/dm³; standard deviation did not exceed 4% for both substances, range of determined concentrations for all-ephedrine was 0.09 – 3.00 g/dm³, and for codeine - 0.07 - 4.00 g/dm³ respectively.

Key words: salting out, chromatography, increment of methylene group, solution structure, Sechenov constant.

ВВЕДЕНИЕ

Методы хроматографии являются одними из самых эффективных методов идентификации и определения биологически активных веществ в лекарственных препаратах и других объектах с различными наполнителями (модифицированный крахмал, карбоксиметилцеллюлоза, лактоза, сахароза, камеди и т.д.). Между тем, ввиду сложности состава указанных матриц, применение хроматографических методов может существенно осложняться и в ряде случаев становиться невозможным из-за мешающего влияния матрицы (ложные пики, высокий фон и т.д.). Кроме того, наличие нелетучих и труднолетучих примесей в хроматографируемом образце может приводить к порче хроматографического оборудования [1]. Поэтому необходимо отделить матричные компоненты от аналитов, содержание которых может быть крайне низким (10^{-6} – 10^{-3} моль/дм³).

В настоящее время для извлечения и последующего хроматографического определения различных веществ применяется метод QuEChERS, в котором используется экстракция, основанная на распределении вещества между органической и водной фазами посредством высаливания. В качестве органического растворителя часто используется ацетонитрил или этилацетат [2, 3], а в качестве высаливателя применяют хлорид натрия. Данный метод в первую очередь применим для экстракции гидрофобных соединений (пестициды, бензодиазепины и т.д.), извлечение которых из водных растворов не представляет трудностей.

Вместе с тем применение этого метода для извлечения гидрофильных аналитов из различных матриц ограничено, целевые компоненты (чаще всего органические основания) могут быть плохо растворимы в ацетонитриле или этилацетате.

Известно, что жидкостная экстракция представляет собой быстрый, простой и эффективный способ разделения, выделения и концентрирования различных веществ. Однако, при использовании активных растворителей (спирты, кетоны, эфиры и др.), вместе с определяемым веществом могут извлекаться мешающие компоненты матрицы. Поэтому наряду с полнотой экстракции важным является селективность извлечения целевого компонента, т.е. выделение должно быть, как эффективным, так и селективным.

Наибольшая селективность характерна для неполярных или малополярных растворителей, однако эффективность извлечения аналитов часто невысока. Поэтому перспективным при экстракции такими растворителями является использование широко известного приема – высаливания [4]. Однако в литературе не сформулирован общий подход к выбору высаливателя и оптимальных условий проведения процесса высаливания.

Из вышеизложенного следует, что для исследования биологически активных веществ необходим систематический подход, основанный на сочетании выбора подходящего селективного органического растворителя и применения высаливания.

В настоящей работе предпринята попытка изучить высаливание пяти представителей гидро-

фильных биологически активных веществ различными солями. Данные вещества применяются в качестве лекарственных средств, которые в высоких дозах вызывают эйфорию и относятся к веществам, ограниченным к перемещению через таможенную границу Республики Беларусь (наркотические средства и психотропные вещества).

Полученные данные могут быть использованы для разработки хроматографических методик определения указанных веществ в различных объектах (лекарственные препараты, растительные смеси и т.д.).

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Для эксперимента использовались вещества: н-гексан (АО «Экос-1», Россия, «х.ч.»), хлороформ (АО «Экос-1», Россия, «х.ч.»), карбонат калия (ЗАО «5 океанов», Китай, «ч.д.а.»), хлорид натрия (ЗАО «5 океанов», Китай, «ч.д.а.»), сульфат аммония (ЗАО «5 океанов», Китай, «ч.д.а.»), гидрофосфат калия (ЗАО «5 океанов», Китай, «ч.д.а.»).

Все исследуемые биологически активные вещества (псевдоэфедрин – рис. 1, фенобарбитал – рис. 2, кодеин – рис. 3, модафинил – рис. 4 и адрафинил – рис. 5) извлечены методом экстракции [5] из лекарственных препаратов. Эксперимент проводился на базе Таможенной лаборатории УО «Государственный институт повышения квалификации и переподготовки кадров таможенных органов Республики Беларусь». Чистота полученных экстрактов подтверждена хроматографическими методами.

Определение концентраций веществ в экстрактах и равновесной органической фазе после экстракции проводили методом газовой хроматографии с квадрупольным масс-спектрометрическим детектором и устройством автоматического ввода жидких проб (Shimadzu GCMS-QP2010 Ultra, Shimadzu Corporation, Япония). Использовали хроматографическую капиллярную колонку длиной 30 м, с внутренним диаметром 0.25 мм, покрытую слоем (5 %-фенил)-диметилполисилоксана толщиной 0.25 мкм: HP-5MS Ultra Inert. Температурная программа: 100 °С 2 минуты, нагрев 20 °/мин до 300 °С, изотерма 28 минут, скорость газа-носителя (гелий) – 37.2 см/с, объем пробы 1 мкл, деление потока 1 : 40, температура инжектора – 280 °С, температура интерфейса – 280 °С. Режим масс-детектора – TIC, диапазон масс – 33-550 а.е.м.

Поскольку в результате применения хромато-масс-спектрального метода происходил термический распад модафинила, на хроматограмме наблюдались только артефакты – продукты этого распада [6], то определение концентрации модафинила в органической фазе проводило методом высокоэффективной хроматографии на приборе Agilent 1100 с диодно-матричным детектором. Условия анализа были следующие: длина волны – 220 нм, колонка Zorbax Sb-Aq 5 мкм, 250 мм × 4.6 мм, подвижная фаза: 0.5 % раствор уксусной кислоты в воде: ацетонитрил = 65 : 35, режим элюирования:

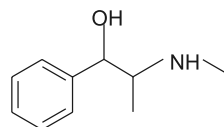


Рис. 1. Структурная формула псевдоэфедрина
Fig. 1. Structural formula of pseudoephedrine

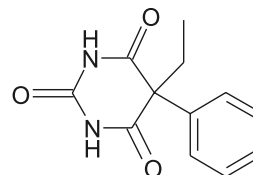


Рис. 2. Структурная формула фенобарбитала.
Fig. 2. The structural formula of phenobarbital.

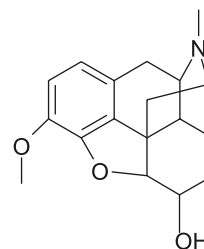


Рис. 3. Структурная формула кодеина.
Fig. 3. Structural formula of codeine.

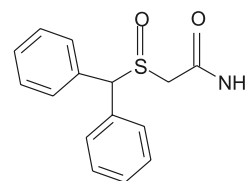


Рис. 4. Структурная формула модафинила.
Fig. 4. Structural formula of modafinil.

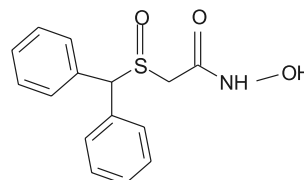


Рис. 5. Структурная формула адрафинила.
Fig. 5. Structural formula of adrafinil.

изократический, скорость потока: 1 мл/мин, температура термостата: 40 °С.

Выбор солей для экстракции обусловлен кислотно-основными свойствами изученных веществ [7]. Поскольку фенобарбитал является слабой кислотой (рКа 7.3), а растворы гидрофосфата калия и тем более гидрокарбоната калия имеют щелочную реакцию, фенобарбитал переходит в ионизированную форму и не экстрагируется. Поэтому для извлечения этого вещества следует применять сульфат аммония, имеющий в растворе слабокислую реакцию и хорошо высаливающий фенобарбитал. Аналогично, для экстракции кодеина следует применять гидрофосфат калия или карбонат калия, растворы которых имеют щелочную реакцию.

Константы распределения рассчитывались по убыли компонента в органической фазе [8]. Экстракцию проводили в пробирках до установления равновесия, путем аккуратного встряхивания в течение 5-10 минут. Соотношение объемов водной и органической фаз подбирали таким образом, чтобы из органической фазы уходило не менее 30 % вещества, т.е. соотношение варьировали от 2 : 1 до 1 : 200. Распределение проводили при температуре 20 ± 1 °С.

Затем проводили анализ раствора вещества в гексане до экстракции ($S_{исх}$) и анализ гексановой фазы после экстракции ($S_{равнов}$). Константу распределения рассчитывали по уравнению

$$P = \frac{S(равнов)}{S(исх) - S(равнов)} * \frac{V(H_2O)}{V(орг)}, \quad (1)$$

где $V_{(H_2O)}$ и $V_{(орг)}$ объемы водной и гексановой фаз при экстракции, соответственно. Погрешность в величинах констант распределения по данным трех параллельных измерений не превышала 10 %. Равновесные концентрации веществ в органической фазе варьировали от $5 \cdot 10^{-5}$ до 10^{-3} моль/дм³. Указанные концентрации попадали в область линейности хроматографического сигнала.

Для интерпретации полученных результатов использовали величины инкремента метиленовой группы (I_{CH_2}) в изученных системах, характеризующих устойчивость структуры солевого раствора. Величины I_{CH_2} практически не зависят от природы органической фазы и взяты из работ [8, 9].

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Из табл. 1 видно, что константы распределения веществ однозначно растут с ростом концентрации соли, однако «скорость высаливания» веществ сильно различается. Наименьшая «скорость высаливания» характерна для хлорида натрия из-за сравнительно небольшого роста инкремента метиленовой группы с увеличением концентрации соли. Это объясняется тем, что хлорид натрия содержит в своем составе однозарядные ионы, которые незначительно увеличивают устойчивость структуры солевого раствора (I_{CH_2} растет с 0.63 до 0.76). Вместе с тем хлорид натрия нашел широкое применение в химико-токсикологическом анализе для разрушения эмульсий, образующихся при экстракции [10].

В соответствии с представлениями, развитыми в работах [9], эффективность высаливания органических неэлектролитов и «скорость высаливания» в первом приближении является функцией I_{CH_2} и массы углеводородного радикала веществ.

Чем выше величина I_{CH_2} , тем эффективнее высаливание органических неэлектролитов. Так для солей, содержащих двухзарядные анионы, наблюдается гораздо более высокая «скорость высаливания» из-за значительного роста I_{CH_2} . При этом карбонат калия незначительно превосходит гидрофосфат калия, однако карбонат все же лучше

Таблица 1

Table 1

Значения логарифмов констант распределения (lg P) изученных веществ в системах гексан/вода и гексан/водные растворы солей

Values of the logarithms of the distribution constants (lg P) of the studied substances in hexane / water and hexane / aqueous salt solutions

Вещество	lg P												
	Гексан/ вода (0.64)*	Гексан/ водный раствор NaCl			Гексан/ водный раствор K ₂ HPO ₄			Гексан/ водный раствор K ₂ CO ₃			Гексан/ водный раствор (NH ₄) ₂ SO ₄		
		1 M (0.67)*	3 M (0.76)*	5 M (0.80)*	1 M (0.70)*	3 M (1.00)*	5 M (1.30)*	1 M (0.79)*	3 M (1.06)*	5 M (1.36)*	1 M (0.70)*	2 M (0.78)*	4 M (0.95)*
Псевдоэфедрин	-2.69 ± 0.05	-2.31 ± 0.05	-1.93 ± 0.02	-1.46 ± 0.05	-1.15 ± 0.05	-0.78 ± 0.05	-1.39 ± 0.05	-0.23 ± 0.05	0.71 ± 0.02	-	-	-	
Фенобарбитал	-1.46 ± 0.05	-1.38 ± 0.05	-1.15 ± 0.02	-	-	-	-	-	-	-	-1.26 ± 0.05	-0.39 ± 0.02	
Кодеин	-1.40 ± 0.05	-1.01 ± 0.02	-0.64 ± 0.02	-0.52 ± 0.02	0.28 ± 0.02	1.71 ± 0.05	-0.43 ± 0.02	0.68 ± 0.02	1.95 ± 0.05	-	-	-	
Модафинил	-1.95 ± 0.05	-1.62 ± 0.02	-1.19 ± 0.05	-0.28 ± 0.02	0.56 ± 0.02	1.09 ± 0.02	-0.47 ± 0.02	0.74 ± 0.02	1.36 ± 0.05	0.05 ± 0.02	0.80 ± 0.05	1.54 ± 0.05	
Адрафинил	-1.89 ± 0.02	-1.52 ± 0.05	-1.08 ± 0.05	-0.17 ± 0.02	0.72 ± 0.02	1.26 ± 0.05	-0.35 ± 0.02	0.88 ± 0.05	1.47 ± 0.05	0.11 ± 0.02	0.94 ± 0.05	0.78 ± 0.05	

Примечания: * – величина инкремента метиленовой группы (I_{CH_2}) для приведенных систем; «-» – исследование не проводилось.

Таблица 2

Значения логарифмов констант распределения (lg P) изученных веществ в системах хлороформ / вода и хлороформ / водные растворы солей

Table 2

Values of the logarithms of the distribution constants (lg P) of the studied substances in the systems of chloroform / water and chloroform / aqueous salt solutions

Вещество	Хлороформ/ вода	lg P											
		Хлороформ / водный раствор NaCl			Хлороформ / водный раствор K ₂ HPO ₄			Хлороформ / водный раствор K ₂ CO ₃			Хлороформ / водный раствор (NH ₄) ₂ SO ₄		
		1 M	3 M	5 M	1 M	3 M	5 M	1 M	3 M	5 M	1 M	2 M	4 M
Псевдоэфедрин	0.41 ± 0.02	0.72 ± 0.02	1.06 ± 0.05	1.45 ± 0.05	1.56 ± 0.02	2.48 ± 0.02	>3.0	1.64 ± 0.02	>3.0 ± 0.02	>4.0 ± 0.02	-	-	-
Фенобарбитал	0.70 ± 0.02	0.83 ± 0.05	1.04 ± 0.05	1.46 ± 0.05	-	-	-	-	-	-	0.88 ± 0.02	1.76 ± 0.05	2.55 ± 0.02
Кодеин	0.24 ± 0.02	0.62 ± 0.02	0.97 ± 0.02	1.26 ± 0.02	1.11 ± 0.02	1.35 ± 0.02	2.69 ± 0.05	1.21 ± 0.05	1.48 ± 0.05	2.77 ± 0.02	-	-	-

Примечание: «-» – исследование не проводилось.

высаливает из-за сильнее гидратированного карбонат аниона [9].

Видно, что «скорость высаливания веществ» с более длинным (массивным) углеводородным радикалом гораздо выше. Так для фенобарбитала и псевдоэфедрина она заметно меньше, чем кодеина, это обусловлено наличием в молекулах кодеина, модафинила и адрафинила более массивного углеводородного радикала.

В результате анализа результатов, изложенных в табл. 1, можно сделать вывод, что в гексан могут быть количественно ($P > 20$) извлечены следующие соединения: кодеин, модафинил, адрафинил. Фенобарбитал и псевдоэфедрин из-за их высокой гидрофильности количественно не извлекаются гексаном даже при концентрации соли близкой к насыщению.

Для экстракции указанных веществ необходимо отказаться от наиболее селективного гексана и перейти на более активный, но менее селективный хлороформ. При замене гексана на хлороформ константы возрастают в 100-1000 раз (см. табл. 2), одновременно разница между ними нивелируется.

В зависимости от природы объекта наиболее эффективными высаливателями являются соли с многозарядными анионами. При этом следует иметь в виду, что растворы гидрофосфата и карбоната обладают щелочной реакцией и могут быть использованы для извлечения органических оснований, но не могут быть применены для высаливания органических кислот. Сульфат аммония, напротив, подходит для высаливания органических кислот и не подходит для высаливания органических оснований.

При анализе препаратов, содержащих биологически активные вещества, предпочтительно использовать неполярный и селективный гексан, который наименее эффективно извлекает матричные компоненты препаратов (лактоза, глюкоза и др. гидрофильные соединения). Однако некоторые вещества (псевдоэфедрин и фенобарбитал) этот растворитель извлекает не полностью и в таких случаях необходимо заменить гексан на хлороформ.

На основании полученных данных может быть предложен следующий алгоритм выбора природы и концентрации соли, а также растворителя при извлечении биологически активных веществ из различных матриц.

Предварительно необходимо определить константы межфазного распределения веществ для системы гексан/вода.

1. Вещества с высокой гидрофобностью (бензодиазепины, метамфетамин и др.). Если $P > 20$ в системе гексан/вода, то вещества количественно извлекаются из водного раствора гексаном после предварительного удаления матрицы, высаливание не требуется.

2. Вещества с «умеренной» гидрофобностью. Если $0.1-0.2 < P < 5-10$ в системе гексан/вода, то вещества

извлекаются гексаном из солевого раствора после предварительного удаления матрицы.

3. Гидрофильные вещества. Для таких веществ в системе гексан/вода $P < 0.1$, они извлекаются хлороформом и если $P > 20$, то высаливание не требуется.

4. Высокогидрофильные вещества (фенобарбитал, псевдоэфедрин). Практически не извлекаются гексаном, слабо извлекаются хлороформом. В этом случае применяется система хлороформ-солевой раствор.

Группы 2 и 3 близки по свойствам и могут быть представлены одними и теми же веществами, например, кодеином и модафинилом.

Нами разработаны методики экстракционной пробоподготовки ряда объектов (в основном лекарственных препаратов) при определении в них экстрагируемых физиологически активных оснований.

Методики основаны на предварительном экстракционном разделении аналита и гидрофобных компонентов матрицы при сильноокислой реакции водного раствора. При этом такие вещества как стеарат магния разрушаются, а стеариновая кислота и другие возможные гидрофобные примеси извлекаются хлороформом из водного раствора. Аналит в этих условиях находится в виде неэкстрагируемой соли. Затем водные растворы подщелачиваются, при этом аналит переходит в экстрагируемую молекулярную форму и извлекается из водного или водно-солевого раствора. Гидрофильные матричные компоненты (глюкоза, сахаров, лактоза и др.) в этих условиях не извлекаются. Очищенный таким образом от

гидрофобных и гидрофильных примесей аналит хроматографируется.

Методика пробоподготовки объектов, содержащих псевдоэфедрин. Таблетку препарата растереть в ступке, полученный порошок перенести в пробирку, растворить в 100 мл подкисленной воды (до pH 1), отфильтровать, промыть фильтр. Аликвоту полученного раствора (5 мл) экстрагировать хлороформом при соотношении 1 : 1, органическую фазу отбросить. Затем pH водного раствора довести до 9-10 при помощи аммиачного или боратного буфера. В раствор ввести соответствующую соль для высаливания (K_2HPO_4 или K_2CO_3) до насыщения. К полученному раствору добавить хлороформ при соотношении 1 : 1, водную фазу отбросить, а органический слой хроматографировать.

Методика пробоподготовки объектов, содержащих кодеин. Таблетку препарата растереть в ступке, полученный порошок перенести в пробирку, растворить в 15 мл подкисленной воды (до pH 1), отфильтровать, промыть фильтр. Аликвоту полученного раствора (5 мл) экстрагировать хлороформом при соотношении 1 : 1, органическую фазу отбросить. Затем pH водного раствора довести до 9-10 при помощи боратного буфера. В раствор ввести соответствующую соль для высаливания (K_2HPO_4 или K_2CO_3) до насыщения. К полученному раствору добавить гексан при соотношении 1 : 1, водную фазу отбросить, а органический слой хроматографировать.

Для расчета содержания аналита используют метод абсолютной градуировки, проводя градуиро-

Таблица 3

Количественное определение псевдоэфедрина и кодеина в одной таблетке ($n = 3, P = 0.95$)

Table 3

Quantification of pseudoephedrine and codeine in one tablet ($n = 3, P = 0.95$)

№	Вещество	Содержание вещества в одной таблетке, определенное по методу, изложенному в работе, мг	Содержание вещества в одной таблетке, указанное на упаковке препарата, мг	Относительное стандартное отклонение $S_r, \%$
1	Псевдоэфедрин (таблетки ЛП Defrinol forte)	$59.5 \pm 0,4$	60	0.9
2	Кодеин (таблетки ЛП RO-KACET PLUS)	$14.5 \pm 0,4$	15	3.8

Таблица 4

Метрологические характеристики методики количественного определения псевдоэфедрина и кодеина в таблетках

Table 4

Metrological characteristics of the method for the quantitative determination of pseudoephedrine and codeine in tablets

Вещество	Диапазон определяемых концентраций, г/дм ³	Предел обнаружения (C_{min}), г/дм ³
Псевдоэфедрин	0.09-3	0.05
Кодеин	0.07-4	0.02

вочные растворы через описанную выше стадию пробоподготовки, но исключая стадию экстракции удаления гидрофобных компонентов матричных компонентов.

Различия в количестве подкисленной воды, в которой растворяют измельченный порошок таблетки, обусловлено тем, что содержание псевдоэфедрина и кодеина в лекарственных препаратах обычно составляет 30-120 мг и 5-15 мг, соответственно. Поэтому количество воды для растворения выбрано таким образом, чтобы хроматографический сигнал попадал в область его линейной зависимости от концентрации аналита.

На примере псевдоэфедрина и кодеина определено содержание веществ в реальных объектах (таблетки лекарственных препаратов Defrinol forte и ROKACET PLUS) по методу, описанному в работе (табл. 3). Метрологические характеристики методик+ количественного определения псевдоэфедрина и кодеина в таблетках указаны в табл. 4.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучено распределение биологически активных веществ в различных системах (гексан/вода и хлороформ/вода) с применением хроматографических методов анализа и высаливания. Показано, что в зависимости от гидрофобности и кислотно-основных свойств исследуемого вещества следует использовать соответствующую соль для высаливания. Предложены алгоритм выбора растворителя, природы и концентрации соли при извлечении биологически активных веществ из различных матриц, а также хроматографические методики анализа некоторых лекарственных препаратов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Винарский В. А. Хроматография: учеб.-метод. пособие: в 2 ч. Мн.: Изд-во БГУ, 2002. Ч. 1: Газовая хроматография. 250 с.
2. Comparison of the Modified QuEChERS Method and the Conventional Method of Extraction in Forensic Medicine to Detect Methadone in Post-Mortem Urine by GCMS / S.M. Salimiasl [et al.] // *Asia Pac. J. Med. Toxicol.* 2017. V. 6, № 3. P. 81-87.
3. Westland J. L., Dorman F. L. QuEChERS extraction of benzodiazepines in biological matrices // *J. Pharm. Anal.* 2013. V. 3, № 6. P. 509-517.
4. General Principles and Strategies for Salting-Out Informed by the Hofmeister Series / A.M. Hyde [et al.] // *Organic Process Research & Development.* 2017. V. 21, № 9. P. 1355-1370.
5. European Pharmacopoeia, 8th Edition // The European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare [Электронный ресурс]: <http://online6.edqm.eu/ep801/#> (дата обращения: 19.02.2019).
6. Аналитические характеристики и идентификация модафинила и адрафинила в объектах экспертизы / Ю.С. Поляков [и др.] // *Судебная экспертиза Беларуси.* 2018. № 2. С. 72-79.
7. Ахметов Н.С. Общая и неорганическая химия. М.: Высшая школа, 2003. 743 с.

8. Экстракция органических неэлектролитов n-гексаном из водных растворов гидрофосфата и ацетата калия / С.М. Лещев [и др.] // *Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. хім. навук.* 2019. Т. 55, № 2. С. 149-155.
9. Лещев С.М., Заяц М.Ф. Константы распределения низших спиртов, ацетона и этилацетата в системах n-гексан-водные растворы неорганических солей и природа эффекта высаливания // *Журн. физ. химии.* 2012. Т. 86, № 6. С.1072-1076.
10. Столяров Е.Е., Карпенко Ю.И., Малкова Т.П. Определение ряда местных анестетиков в биологических жидкостях при химико-токсикологических исследованиях // *Судебно-медицинская экспертиза.* 2009. № 3. С. 24-27.

REFERENCES

1. Vinarskii V. A. *Khromatografiia* [Chromatography]. Minsk: BGU Publ., 2002, part 1. 250 p. (in Russian).
2. Salimiasl S.M., Khodayar M.J., Mousavi Z., Akhgari M. Comparison of the modified QuEChERS method and the conventional method of extraction in forensic medicine to detect methadone in post-mortem urine by GCMS. *Asia Pac. J. Med. Toxicol.*, 2017, vol. 6, № 3, pp. 79-85. doi:10.22038/apjmt.2017.9402
3. Westland J. L., Dorman F. L. QuEChERS extraction of benzodiazepines in biological matrices. *J. Pharm. Anal.*, 2013, vol. 3, iss. 6, pp. 509-517. doi.org/10.1016/j.jpha.2013.04.004
4. Hyde A.M., Zultanski S.L., Waldman J.H., Zhong Y.L., Shevlin M, Peng F. General Principles and Strategies for Salting-Out Informed by the Hofmeister Series. *Organic Process Research & Development*, 2017, vol. 21, № 9, pp. 1355-1370. doi: 10.1021/acs.oprd.7b00197.
5. European Pharmacopoeia: EDQM. 8th Edition. Available at: <http://online6.edqm.eu/ep801/#> (accessed: 19 February 2019).
6. Poliakov Iu. S., Mikhniuk O.N., Hil'kevich T. Ia., Shevchuk T.A., Iurchenko R.A., Vinarskii V.A. [Analytical characteristics and identification of modafinil and adrafinil in the objects of examination]. *Sudebnaia ekspertiza Belarusi* [Forensic examination of Belarus], 2018, vol. 2, p. 72-79 (in Russian).
7. Akhmetov N.S. *Obshchaia i neorganicheskaia khimiia* [General and inorganic chemistry]. Moscow: Vysshiaia shkola Publ., 2003. 743 p. (in Russian).
8. Leshchev S. M., Mikhniuk O.N., Nemkevich A. V., Furs S. F. Ekstraktsiia organicheskikh neelektrolitov n-geksanom iz vodnykh rastvorov gidrofosfata i atsetata kaliia [Extraction of organic nonelectrolytes with n-hexane from aqueous solutions of hydrogen phosphate and potassium acetate]. *Izvestiia Natsional'noj akademii nauk Belarusi. Seriia khimicheskikh nauk* [Proceedings of the National academy of sciences of Belarus. Chemical series], 2019, vol. 55, № 2, pp. 149-155 (in Russian).
9. Leshchev S.M., Zayats M.F. Konstanty raspredeleniia nizshikh spirtov, atsetona i etilatsetata v sistemakh n-geksan-vodnye rastvory neorganicheskikh solei i priroda effekta vysalivaniia [The distribution constants of lower alcohols, acetone and ethyl acetate in the systems n-hexane – aqueous solutions of inorganic salts, the nature of the salting out effect]. *Zhurnal fizicheskoi khimii* [Journal of physical chemistry], 2012, vol. 86, № 6, pp. 1072 – 1076 (in Russian).
10. Stoliarov E.E. Karpenko Iu. I. Malkova T. P. Opredelenie riada mestnykh anestetikov v biologicheskikh zhidkostiakh pri khimiko-toksikologicheskikh issledovaniakh [Determination of a number of local anesthetics in biological fluids during chemical toxicological studies]. *Sudebno-meditsinskaia ekspertiza* [Forensic Medical Expertise], 2009, № 3, pp. 24-27 (in Russian).