

DETERMINAREA SPECTROFOTOMETRICĂ A CODEINEI DIN COMPRIMATE

Andreia CORCIOVĂ, Constantin CIOBANU,
Universitatea de Medicină și Farmacie Grigore T. Popa,
Iași, România,
Facultatea de Farmacie,
Disciplina Analiza Medicamentului

Summary

Spectrophotometric determination of codeine in tablet dosage

A spectrophotometric method for the determination of codeine phosphate in tablet dosage forms has been described, based on the codeine ability to form with bromphenol blue in acidic media, a complex extractible in chloroform. The absorbance of the formed ion-pair complex was monitored spectrophotometrically at 413 nm. The range of linearity for the obtained complex was found to be 0.1–0.5 mg/ml. The proposed method has been successfully applied for the determination of codeine in industrial pharmaceutical forms.

Keywords: codeine phosphate, bromphenol blue, ion-pair complex

Резюме

Спектрофотометрическое определение кодеина в таблетках

В данной статье представлен один из методов спектрофотометрического определения кодеина фосфата в таблетках, который основан на способности образовывать с бромфеноловым синем в кислой среде комплексное соединение, извлекаемое в хлороформе. Оптическую плотность образованного комплекса измеряли при длине волны 413 нм. Аналитический ответ был линейным в интервале концентраций 0,1 – 0,5 мг/мл. Предлагаемый способ был успешно применен для определения фосфата кодеина в фармацевтических препаратах, производимых промышленным способом.

Ключевые слова: кодеин фосфат, бромфеноловый синий, ионно-паракомплекс

Introducere

Codeina sau metil morfina este un alcaloid natural extras din opiu, alături de morfină, tebaină etc. Fosfatul de codeină (figura 1) sau (7,8-didehydro-4,5 α -epoxy-3-methoxy-17-methylmorphinan-6 α -ol) fosfat este considerat un precursor de drog, fiind utilizat pentru acțiunea sa antitusivă, anti-diareică și analgezică [1, 2].

De obicei, codeina este administrată *per os* și este inclusă în numeroase forme farmaceutice (comprimate, siropuri etc.) singură sau în combinație cu acidul acetisalicilic, paracetamol și unele substanțe cu acțiune vasoconstrictoare. În România, legislația

în vigoare referitoare la codeină este destul de strictă, întrucât aceasta este clasificată ca fiind un drog de mare risc. Conform Legii nr. 339/2005 codeina ca substanță este inclusă în Tabelul II, iar preparatele ce conțin codeină sunt incluse în Tabelul III, fiind eliberate numai pe bază de prescripție medicală specială [3].

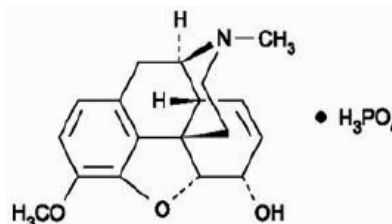


Figura 1. Structura fosfatului de codeină

Asigurarea calității medicamentelor are o importanță majoră, de aceea dezvoltarea unor metode analitice rapide, precise și ieftine reprezintă o prioritate. În literatura de specialitate sunt prezentate numeroase metode de determinare a fosfatului de codeină. Dintre acestea amintim: cromatografia de înaltă performanță (HPLC) [4], cromatografia pe strat subțire (TLC) [5], cromatografia de gaze cuplată cu spectrometria de masă (GC-MS) [6] și electroforeza capilară (CE) [7].

Scopul acestui studiu a fost dezvoltarea unei metode spectrofotometrice simple și precise pentru determinarea fosfatului de codeină din preparatele farmaceutice industriale.

Material și metodă

Reactivi:

- Codeină fosfat, substanță de referință;
- Codeină fosfat, comprimate ce conțin 15 mg substanță, procurate din farmacie;
- Soluția albastru de bromfenol a fost preparată prin dizolvarea a 0.25 g albastru de bromfenol (Riedel de Haen, Germania) în 20 ml metanol și completată la 100 ml cu apă distilată;
- Tamponul acetat pH = 4 a fost preparat prin dizolvarea a 12 g acetat de sodiu în 50 ml apă distilată, s-au adăugat 6 ml acid acetic și s-a completat la 100 ml cu apă distilată;
- Cloroform p.a., Acid acetic p.a., Acetat de sodiu p.a. (Chemical Company)

Metoda utilizată pentru obținerea ionilor pereche. La 1 ml din fiecare soluție de lucru s-au adăugat 2 ml soluție tampon acetat pH = 4 și 1 ml soluție albastru de bromfenol. Complexul obținut s-a extras de 3 ori cu câte 5 ml cloroform, agitând de fiecare dată câte 2 minute. Extractele cloroformice au fost trecute pe sulfat de sodiu anhidru, iar absorbanta maximă a fost înregistrată la 413 nm, după 5 minute, față de blank.

Prepararea soluției stoc de codeină. (1 mg/ml): 100 mg de codeină s-au dizolvat în 25 ml apă distilată, apoi s-a completat până la 100 ml cu apă distilată.

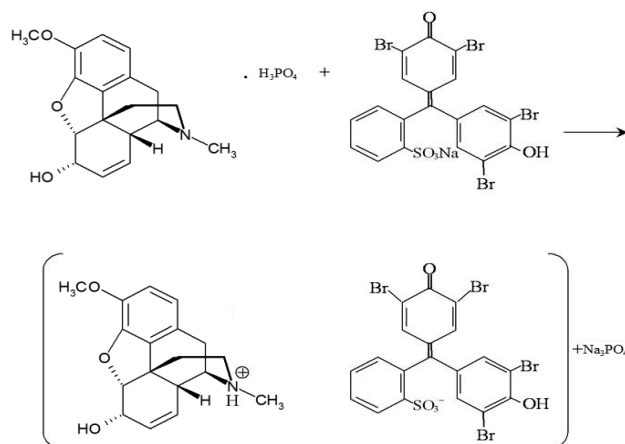
Soluțiile-etalon conținând 0.1-0.5 mg/ml codeină fosfat s-au obținut prin diluarea soluției stoc cu apă distilată.

Prepararea soluțiilor-probă. Au fost luate în lucru 20 de comprimate, cărora li s-a determinat în prealabil masa medie, după care au fost triturate fin și omogenizate. O cantitate de pulbere, echivalentă la 45 mg codeină, s-a adus cu 50 ml apă distilată sub agitare magnetică timp de 10 minute într-un balon cotat și apoi s-a completat la semn cu apă distilată. Probele au fost filtrate utilizând hârtie de filtru Whatman. Soluțiile-etalon și soluțiile de probă au fost prelucrate conform procedurii descrise la metodă, pentru obținerea ionilor pereche cu albastru de bromfenol.

Aparat. Absorbanțele au fost înregistrate utilizând un spectrofotometru Jasco V 530 UV-Vis cu dublu fascicul. Pentru măsurări am utilizat cuve de cuarț 1.0 cm, viteză de scanare 1000 nm min^{-1} și un domeniu de 400-600 nm.

Rezultate și discuții

Metoda aleasă are la bază reacția dintre codeină fosfat și albastru de bromfenol, în mediu acid, rezultând un complex colorat în galben, de tip ion-pereche extractibil în chloroform, conform schemei:



Optimizarea variabilelor din reacție

- Alegerea solventului și stabilirea timpului de agitare. Pentru a observa capacitatea de extragere a complexului format, au fost utilizați pentru extracție ca solvenți cloroform, diclormetan și CCl_4 . Din rezultatele obținute s-a observat că cel mai potrivit solvent este cloroformul, iar pentru o extracție eficientă, în concentrațiile alese, este necesar un raport soluție apoasă: solvent organic de 1:5 (v/v). Timpul de agitare a fost stabilit la 2 minute, deoarece în intervalul 1-5 minute absorbanța a rămas constantă.

- Stabilirea cantității și concentrației soluției de albastru de bromfenol. Pentru stabilirea cantității de soluție albastru de bromfenol s-au luat în lucru volume crescătoare de soluție albastru de bromfenol 0.25 %, cuprinse între 0.5 și 2 ml, s-au adăugat peste 2 ml soluție tampon acetat și 1 ml soluție codeină (1 mg/ml). Rezultatele obținute sunt prezentate în figura 2. Pentru stabilirea concentrației indicatorului s-au preparat soluții de albastru de bromfenol de concentrație 0.1 – 0.5 %, iar rezultatele sunt redată în figura 3.

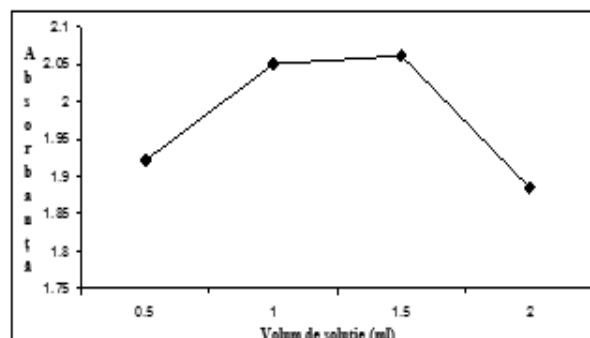


Figura 2. Alegerea cantității de soluție albastru de bromfenol

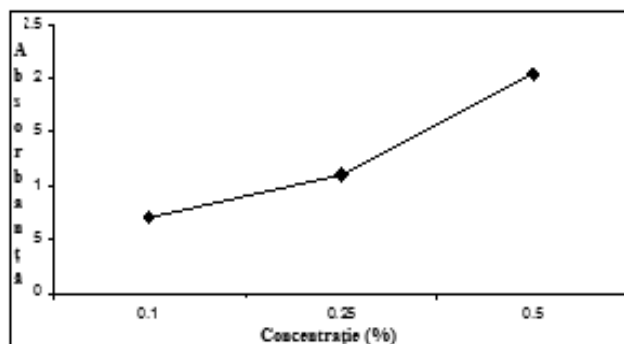


Figura 3. Alegerea concentrației soluției de albastru de bromfenol

Se poate observa că absorbanța crește odată cu concentrația soluției de albastru de bromfenol, dar valoarea care se încadrează în zona optimă a aparatului este de 0.25%, iar referitor la cantitatea necesară, absorbanța crește până la 1 ml și scade la o cantitate mai mare de 1.5 ml, fiind constantă în intervalul 1-1.5 ml. Astfel, valorile optime sunt: 1 ml soluție albastru de bromfenol de concentrație 0.25%.

- Stabilirea pH-ului: 0.5 ml soluție codeină 1 mg/ml au fost ajustați la diferite valori de pH, cuprinse între 2 și 5, utilizând acid acetic și soluție tampon acetat. Au fost reprezentate grafic (figura 4) valorile absorbanțelor în funcție de pH.

După cum se poate observa, valoarea absorbanței la $\text{pH} = 2$ este foarte mare, după care scade brusc, apoi crește, rămânând constantă. Astfel, putem spune că stabilitatea complexului s-a obținut la $\text{pH} = 4$.

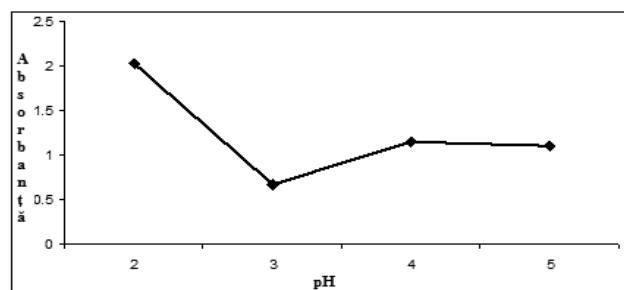


Figura 4. Influența pH-ului asupra absorbanței

- **Liniaritatea metodei.** Pentru fiecare concentrație au fost realizate 3 determinări și s-a calculat valoarea medie a absorbanțelor citite la 413 nm (tabelul 1). Curba de calibrare s-a obținut prin reprezentarea grafică a valorii medii a absorbanțelor soluțiilor de codeină fosfat față de concentrațiile soluțiilor de codeină fosfat (0.1-0.5 mg/ml). Tabelul 2 prezintă datele statistice privind determinarea codeinei fosfat.

Tabelul 1

Valorile absorbanței pentru studiul liniarității

μg/ml	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
Absorbanță I	0.2407	0.5095	0.7775	1.0116	1.287
Absorbanță II	0.2403	0.5098	0.7809	1.013	1.2901
Absorbanță III	0.2396	0.5056	0.7801	1.009	1.2881
Media	0.2402	0.5083	0.7795	1.0112	1.2884

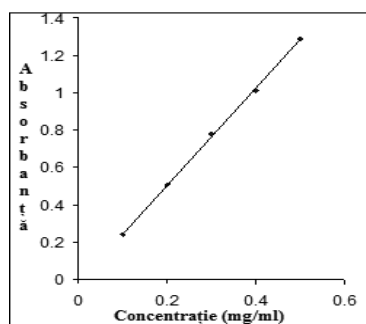


Figura 5. Curbă de calibrare codeină

Tabelul 2

Date statistice

Parametru	Valoare
Coefficient Person (r^2)	0.9993
Eroare-standard	0.012176
Intercept	- 0.0143
Pantă	2.5993
Limită detecție	0.036697
Limită cuantificare	0.111204

- **Aplicație.** Aplicabilitatea metodei a fost demonstrată prin utilizarea unor produse industriale achiziționate din farmacie, determinarea realizându-se în 3 zile consecutive și prin 3 determinări în fiecare

zi. Tabelul 3 prezintă concentrația medie a celor 3 repetări, exprimate în mg codeină/comprimat și valorile regăsirii, considerând concentrația declarată pe cutie de 15 mg/comprimat.

Tabelul 3

Concentrația de codeină din probe

	Proba 1	
	mg/comprimat ± DS	Regăsire %
Ziua 1	14.14 ± 0.0152	94.26
Ziua 2	14.43 ± 0.02	96.20
Ziua 3	14.32 ± 0.023	95.46

Rezultatele obținute în cele 3 zile sunt în concordanță cu limitele impuse de reglementările Farmacopeei Române, ediția a X-a, Monografia Comprimatelor [$\pm 7.5\%$].

Concluzii

Acest articol descrie stabilirea condițiilor de determinare a codeinei din comprimate printr-o metodă spectrofotometrică ce utilizează albastru de bromfenol în mediu acid (pH = 4). Metoda este simplă, ieftină, precisă, iar rezultatele obținute arată că metoda poate fi utilizată cu succes pentru determinarea codeinei din produsele industriale.

Bibliografie

1. Armstrong S.C., Cozza K.L. *Pharmacokinetic drug interactions of morphine, codeine and their derivatives: theory and clinical reality*. Part II. In: *Psychosomatics*, 2003; nr. 44 (6), p. 515–520.
2. European Pharmacopoeia. 2008. *European Pharmacopoeia*, 6th ed. Strasbourg, France: European Pharmacopoeia Council.
3. *Monitorul Oficial al României*. Partea I, nr. 713 din 19.10.2012. Accesat la http://www.cdep.ro/proiecte/2005/400/30/7/leg_pl437_05.pdf pe 10.03.2014.
4. Suezan S., Akay C., Cevheroglu S. *Simultaneous determination of guaiphenesin and codeine phosphate in tablets by high-performance liquid chromatography*. In: *Il Farmaco*, 1999; nr. 54, p. 705–709.
5. Al-Kaysi H.N., Salem M.S. *Simultaneous quantitative determination of codeine phosphate, chlorpheniramine maleate, phenylephrine hydrochloride and acetaminophen in pharmaceutical dosage forms using thin layer chromatography densitometry*. In: *Anal. Lett.*, 1986; nr. 19, p. 915-924.
6. Lachenmeier K., Musshoff F., Madeav B. *Determination of opiates and cocaine in hair using automated enzyme immunoassay screening methodologies followed by gas chromatographic – mass spectrometric (GC-MS) confirmation*. In: *Forensic Sci. Int.*, 2006; nr. 159, p. 189-199.
7. Hindson B.J., Francis P.S., Purcell S.D., Barnett N.W. *Determination of opiate alkaloids in process liquors using capillary electrophoresis*. In: *J. Pharma Biomed. Anal.*, 2007; nr. 43, p. 1164-1168.