

## 荷移分光光度法测定可待因

杜黎明, 李丽, 吴昊

山西师范大学分析测试中心, 山西 临汾 041004

**摘要** 采用分光光度法研究了电子受体 7, 7, 8, 8-四氰基对苯醌(TCNQ)与电子供体可待因的荷移反应, 发现TCNQ与可待因在丙酮介质中易发生荷移反应, 并生成稳定的络合物, 药物的最大的吸收峰由紫外区移至近红外区。据此建立了一种测定药物制剂中可待因含量的高选择性的荷移分光光度法, 在最佳条件下, 可待因浓度在  $0.1 \sim 1.6 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  范围内符合朗伯-比尔定律, 在最大吸收波长 845 nm 处, 表观摩尔吸光系数为  $1.7 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ 。文章还研究了缔合常数和自由能变化并探讨了荷移反应的机理。该方法已用于片剂中可待因含量的测定, 其回收率为  $(98.94 \pm 0.96)\% \sim (99.12 \pm 1.21)\%$ 。

**关键词** 可待因; 7, 7, 8, 8-四氰基对苯醌; 分光光度法; 荷移反应

中图分类号: O657.3 文献标识码: A 文章编号: 1000-0593(2007)02-0364-03

## 引言

可待因(Codeine)又名甲基吗啡, 是鸦片中的菲类生物碱之一, 为临床常用的中枢镇痛剂, 临床上多用于缓解疼痛, 其止痛效果虽不如吗啡, 但依赖性较弱, 不良反应小, 是世界卫生组织对癌症病人止痛治疗方案中的最主要的药品之一。因此测定药物制剂中可待因的含量, 对临床用药安全、防止成瘾具有重要的意义。有关可待因的分析方法已有文献报道的有分光光度法<sup>[1]</sup>、荧光光谱法<sup>[2]</sup>、气相色谱法<sup>[3]</sup>、高效液相色谱法<sup>[4-6]</sup>、毛细管电泳法<sup>[7-9]</sup>、CPA-矩阵法<sup>[10]</sup>和酸碱滴定法<sup>[11]</sup>。

通常情况下可待因与药片中赋形剂的最大吸收波长均出现在同一区域, 难以用紫外-可见吸收光谱法直接测定。本文优化了7, 7, 8, 8-四氰基对苯醌与可待因形成荷移络合物的最佳条件, 使药物的最大的吸收峰由紫外区移至近红外区, 排除了赋形剂对测定的干扰。据此建立了一种测定药物制剂中可待因的高选择性的荷移分光光度法, 经样品测定, 获得满意的结果。本文还对荷移络合物进行了红外光谱表征, 并通过缔合常数和自由能的计算研究了荷移络合物的稳定性。

## 1 实验部分

### 1.1 实验仪器和试剂

UV-2201型紫外-可见分光光度计(日本岛津公司);

SHA-B数显恒温水浴器(常州国华电器有限公司); IMPACT-410型傅里叶红外光谱仪(Nicolet公司, 美国)。7, 7, 8, 8-四氰基对苯醌(Sigma公司, 美国)配成  $1.25 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  的标准乙腈溶液; 磷酸可待因对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 671-9101)配成  $50 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的乙醇溶液; 所需标准工作液用乙醇稀释贮备液而制得。所用二氯甲烷、1, 2-二氯乙烷、乙腈、氯仿、乙醇、二甲亚砜、丙酮、甲醇和四氯化碳均为分析纯。实验用水为二次亚沸蒸馏水。

### 1.2 实验方法

于 10 mL 比色管中, 分别依次加入适量可待因溶液和 2.0 mL TCNQ 溶液, 然后用丙酮稀释至刻度, 摇匀, 置于 40 °C 水浴中保温 30 min 后, 取出冷却至室温, 用 1 cm 比色皿, 以试剂空白为参比, 在 843 nm 处测定吸光度。

## 2 结果与讨论

### 2.1 吸收光谱

按实验方法配置所需溶液, 在 200~1000 nm 范围内测定溶液吸光度。由图1可见, 可待因在紫外区 216 nm 处有特征吸收。经荷移反应后, 可待因与 TCNQ 反应生成的荷移络合物的最大吸收波长出现在 843 nm 处, 较之可待因红移了 627 nm。这样就有效地排除了药物制剂中赋形剂的干扰, 使方法的选择性显著提高, 据此建立了测定可待因的荷移分光光度法。

收稿日期: 2005-11-16, 修订日期: 2006-02-26

基金项目: 山西省自然科学基金项目(20041030)资助

作者简介: 杜黎明, 1949年生, 山西师范大学分析测试中心教授

e-mail: lmd@dns.sxnu.edu.cn

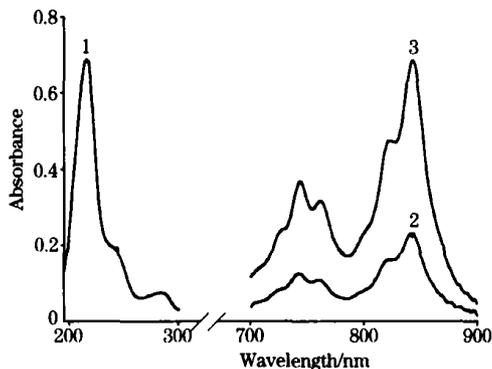


Fig 1 Absorption spectra of codeine (1), TCNQ (2) and their complex (3)

## 2.2 溶剂的影响

按实验方法配制溶液, 分别选用水、乙腈、氯仿、乙醇、二甲亚砜、甲醇、丙酮、二氯甲烷和 1, 2- 二氯乙烷作溶剂, 所测溶液的吸光度分别为 0.065, 0.284, 0.239, 0.588, 0.312, 0.086, 0.752, 0.124 和 0.216。结果表明丙酮作溶剂吸光度最大, 故选择丙酮作为溶剂。

## 2.3 反应时间和温度的影响

按实验方法配制溶液, 于 20~ 60 °C 范围内研究了温度和反应时间对荷移络合物形成的影响, 发现药物所形成的络合物随着温度的升高吸光度依次增强, 当温度升至 40 °C 时吸光度达到最大。在这一温度条件下考察了反应时间对络合

物吸光度的影响, 发现反应 30 min 即可反应完全, 因此, 实验选择 40 °C 下恒温 30 min 后进行测定。

## 2.4 试剂浓度的影响

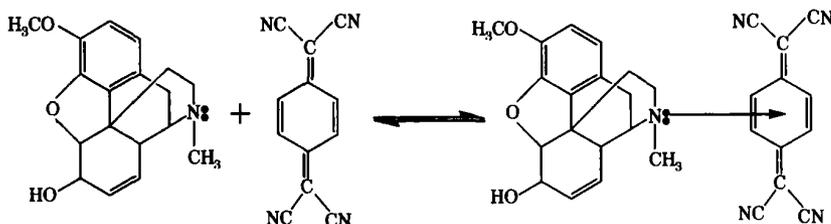
于 8 支 10 mL 比色管中各加入可待因溶液 1.0 mL, 再分别加入浓度为 0.25, 0.50, 0.75, 1.0, 1.25, 1.50, 1.75 和 2.0 mg · mL<sup>-1</sup> TCNQ 的溶液 2.0 mL, 然后用丙酮稀释至刻度, 摇匀, 按实验方法测得络合物的吸光度分别为 0.201, 0.305, 0.378, 0.468, 0.486, 0.482, 0.476 和 0.471。表明当试剂浓度为 1.25 mg · mL<sup>-1</sup> 时反应基本进行完全。故本实验 TCNQ 的浓度确定为 1.25 mg · mL<sup>-1</sup>。

## 2.5 标准工作曲线

在上述实验条件下, 通过浓度与吸光度的关系绘制工作曲线, 磷酸可待因线性方程为  $A = 0.6671c + 0.0329$ 。斜率的标准偏差 ( $S_b$ ) 为 0.94, 截距的标准偏差 ( $S_a$ ) 为 0.08, 方差 ( $S_0^2$ ) 为 0.032, 相关系数 ( $r$ ) 为 0.9994。以上数据表明吸光度与相应的浓度呈良好的线性关系, 较低的方差值表明回归线附近有较小的分散度。表观摩尔吸光系数为  $1.7 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ , 最低检测限为 0.02 μg · mL<sup>-1</sup>, 磷酸可待因的浓度在 0.1~ 1.6 μg · mL<sup>-1</sup> 范围内遵从朗伯-比尔定律。

## 2.6 反应机理探讨

可待因分子中的 N 原子有一对电子可以作为电子供体。TCNQ 是一个很强的平面型 π 电子受体, 因此在丙酮中可以形成荷移络合物。用平衡移动法和曲线交叉法测定络合物的组成为 1: 1。其形成过程如 Scheme 1 所示。



Scheme 1 Charge-transfer reaction between codeine and TCNQ

## 2.7 荷移络合物的红外光谱表征

可待因络合物吸收峰的大幅度红移, 表明了  $n-\pi$  型荷移络合物的形成。这个络合物的形成也被红外光谱所证实。在对这些荷移络合物进行红外测定时, 普遍认为电子给体或电子受体振动频率的降低被作为发生荷移络合物形成的证据<sup>[12]</sup>。络合物的红外光谱与其所组成的两种化合物的光谱相比较, 表现出一些明显的差异。荷移试剂 TCNQ 的红外光谱在 2220, 1540 和 860 cm<sup>-1</sup> 处有强的吸收峰, 分别相应于  $\nu_{\text{C}=\text{N}}$ , 芳香烃  $\nu_{\text{C}=\text{C}}$  和 1,4-二取代苯的伸缩振动。当发生荷移反应后, 这些峰就分别变成了 2190, 1510 和 830 cm<sup>-1</sup>, 表明了 TCNQ 荷移络合物的形成。

## 2.8 缔合常数及自由能测定

缔合常数大小通常可以作为 2 种分子形成的络合物强度的量度。通过 Benesi-Hildebrand 方程可以计算出这两种络合物的缔合常数。

$$\frac{[A_0]}{A^{\text{AD}}} = \frac{1}{\epsilon^{\text{AD}}} + \frac{1}{K_c^{\text{AD}} \epsilon^{\text{AD}}} \times \frac{1}{[D_0]}$$

式中  $[A_0]$  和  $[D_0]$  分别是电子受体和电子给体的浓度,  $A^{\text{AD}}$  是在  $\lambda_{\text{max}}$  时的络合物的吸收, 而  $K_c^{\text{AD}}$  和  $\epsilon^{\text{AD}}$  分别为络合物的缔合常数和摩尔吸光系数。

从回归方程计算出可待因与 TCNQ 络合物的缔合常数为  $7.562 \times 10^2$ , 表明 2 种药物与 TCNQ 形成的络合物是稳定的。可将  $n$  电子给体与  $\pi$  电子受体之间的反应的自由能变化与缔合常数关联起来 ( $K_c$ )。  $K_c^{\text{AD}}$  是药物与受体络合物的缔合常数。

$$\Delta G^\circ = -2.303 RT \log K_c$$

式中,  $R$  是气体常数 ( $1.987 \text{ cal} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$  或  $8.314 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$ ),  $T$  是开尔文绝对温度 ( $273 + ^\circ\text{C}$ ),  $\Delta G^\circ$  ( $\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ ) 为 Gibbs 自由能。络合物的计算自由能为  $-16.71 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ 。这就意味着无外界能量的提供下, 这种络合物即可自发形成。

## 3 样品的测定

### 3.1 药物制剂的测定

取磷酸可待因 20 片, 研磨混匀后, 精确称取适量(约相当于磷酸可待因 15 mg), 置于 100 mL 容量瓶中, 用乙醇溶解, 过滤, 弃去初滤液, 取续滤液供测定用。

取 10 mL 试样溶液于 10 mL 比色管中, 加入 2.0 mL

TCNQ 溶液, 按实验方法平行配制 5 份溶液。同时作回收实验, 测定片剂中磷酸可待因的含量和回收率, 并用药典法<sup>[11]</sup>测定其含量。结果见表 1。结果表明本法与药典法测定结果一致, 回收率符合要求。

Table 1 Analytical results and recovery tests of codeine tablet ( $n=5$ )<sup>b</sup>

药物批号	本法			药典法	
	测得值/(mg·tablet <sup>-1</sup> )	相当于标示量/(%) ± S D <sup>a</sup>	回收率/%	测得值/(mg·tablet <sup>-1</sup> )	相当于标示量/(%) ± S D <sup>a</sup>
1	14.56	97.07 ± 0.87	99.12 ± 1.21	14.54	96.93 ± 1.26
2	14.42	96.13 ± 0.67	98.94 ± 0.96	14.44	96.23 ± 0.92

<sup>a</sup> 5 次测定平均值(Average of five determinations); <sup>b</sup> 磷酸可待因药品标示量为 15 mg·片<sup>-1</sup>; 1 青海制药厂产品; 2 北京益民制药厂产品

### 3.2 干扰物质的影响

本文选择经常在片剂中使用的赋形剂, 对在可待因分光光度法测定中可能存在的一些干扰物质进行了研究。结果表

明, 1000 倍的乳糖或淀粉, 800 倍的蔗糖或葡萄糖和 500 倍硬脂酸镁或果糖, 对测定结果均无干扰。

### 参 考 文 献

- [1] Hanaee J. Pharm. Acta Helvet., 1997, 72(4): 239.
- [2] Ramos M N, Molina D A, Navalon A, et al. J. Pharm. Biomed. Anal., 2000, 23(5): 837.
- [3] XU Qing-qin, DU Li-ming, CAO Xi-min(许庆琴, 杜黎明, 曹玺珉). Chin. J. Anal. Chem. (分析化学), 2003, 31(8): 961.
- [4] Svensson J O, Yue O Y, Sawe J. J. Chromatogr. B, 1995, 674(1): 49.
- [5] Ragonese R, Mulholand. M, Kalman J. J. Chromatogr. A, 2000, 870(1-2): 45.
- [6] Molden E, Helen B G, Christensen H, et al. J. Pharm. Biomed. Anal., 2003, 33(2): 275.
- [7] Tagliaio F, Smith F P, Turrina S, et al. J. Chromatogr. A, 1999, 735(1-2): 227.
- [8] Buuckenmaie S M C, Mccalley D V, Euerby M R. J. Chromatogr. A, 2004, 1026(1-2): 251.
- [9] YU Zhao-lou, CHEN Yi, CHANG Li-wen(余兆楼, 陈义, 常理文). Chin. J. Anal. Chem. (分析化学), 1996, 24(4): 444.
- [10] YANG Cai-qin, DING Li-yu, LIU Wei-na, et al(杨彩琴, 丁里玉, 刘伟娜, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 1999, 19(2): 236.
- [11] Editorial Committee of the Pharmacopoeia of the People's Republic of China(中华人民共和国卫生部国家药典委员会编). The Pharmacopoeia of the People's Republic of China (Part ) (中华人民共和国药典二部). Beijing: Chemical Industry Press(北京: 化学工业出版社), 2005. 870.
- [12] Foster R. Organic Charge-Transfer Complexes. London: Academic Press, 1969. 51, 387.

## Spectrophotometric Determination of Codeine Through Charge-Transfer Reaction

DU Li-ming, LI Li, WU Hao

Center of Analysis and Test, Shanxi Normal University, Linfen 041004, China

**Abstract** The charge-transfer reaction of 7,7,8,8-tetracyanoquinodimethane (TCNQ) as a  $\pi$ -electron acceptors with codeine as electron donors was investigated by spectrophotometry. TCNQ was found to react with codeine to produce stable charge transfer complexes in acetone. Meanwhile, the studied drugs suffer a considerable bathochromic shift (from 216 to 843 nm). The influential factor of charge-transfer reaction and the optimum conditions for the determination of codeine were investigated in detail. Therefore a simple, rapid and accurate method with a good selectivity for the determination of codeine has been developed. The results show that Beer's law is obeyed in the ranges 0.1-1.6  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  for codeine. The apparent molar absorptivity of the complex at 843 nm is  $1.7 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ . Furthermore, the association constants and standard free energy changes were studied, and the mechanism of charge-transfer reaction was explored elementarily. The proposed method has been applied successfully to the determination of codeine in pharmaceutical preparations. The recoveries are from (98.94 ± 0.96)% to (99.12 ± 1.21)%.

**Keywords** Codeine; 7,7,8,8-Tetracyanoquinodimethane; Spectrophotometry; Charge-transfer reaction

(Received Nov. 16, 2005; accepted Feb. 26, 2006)