

Для цитирования: Аналитика и контроль. 2017. Т. 21, № 4. С. 315-321

УДК 543.426:615.78

DOI:10.15826/analitika.2017.21.4.006

Экстракционно-флуориметрическое определение кодеина в моче человека

**С.И. Метелица¹, Е.В. Киреева¹, *В.В. Немихин², С.В. Качин¹, В.Н. Лосев¹,
С.А. Сагалаков¹**

¹Сибирский федеральный университет»,
Российская Федерация, 660041, г. Красноярск, пр. Свободный, 79
²Красноярское краевое бюро судебно-медицинской экспертизы»,
Российская Федерация, 660049, г. Красноярск, пр. Мира, 35

*Адрес для переписки: Немихин Василий Васильевич, E-mail: basilefs88@mail.ru

Поступила в редакцию 11 сентября 2017 г., после исправления – 08 декабря 2017 г.

Для экстракционно-флуориметрического определения наногаммовых содержаний кодеина в моче человека предложено использование флуоресценции толуольного экстракта ионного ассоциата кодеина с эозином. Образующийся ионный ассоциат характеризуется интенсивной флуоресценцией с максимумом при 550 нм. Показано, что интенсивность флуоресценции ионного ассоциата кодеина с эозином в толуоле в 10 раз выше интенсивности его свечения в четыреххлористом углероде и в 3 раза – в хлороформе. Определены оптимальные условия образования флуоресцирующего ионного ассоциата положительно заряженного иона кодеина с отрицательно заряженной формой эозина. Максимальная интенсивность флуоресценции ионного ассоциата наблюдается при его экстракции толуолом из водных растворов с pH = 6-8 и концентрации эозина в диапазоне $1 \cdot 10^{-5}$ - $1 \cdot 10^{-3}$ М. Интенсивность флуоресценции экстракта сохраняется в течение 24 часов. Разработана методика экстракционно-флуориметрического определения наногаммовых содержаний кодеина в моче человека. Предел обнаружения кодеина, рассчитанный по 3s-критерию, равен 6 нг/мл. Линейность градуировочной зависимости сохраняется в диапазоне 30 – 320 нг/мл. Методика апробирована при определении содержания кодеина в экспертных образцах мочи человека. Относительное стандартное отклонение при определении более 50 нг/мл кодеина не превышает 0.08. Полученные результаты экстракционно-флуориметрического определения кодеина в моче человека позволяют рекомендовать разработанную методику при решении определенных задач в практике учреждений соответствующего профиля.

Ключевые слова: кодеин, определение, моча человека, экстракция, флуориметрия

For citation: *Analitika i kontrol'* [Analytics and Control], 2017, vol. 21, no. 4, pp. 315-321

DOI: 10.15826/analitika.2017.21.4.006

Extraction-fluorimetric determination of codeine in human urine

**S.I. Metelitsa¹, E.V. Kireeva¹, *V.V. Nemikhin², S.V. Kachin¹, V.N. Losev¹,
S.A. Sagalakov¹**

¹Siberian Federal University, Svobodnyi pr., 79, Krasnoyarsk, 660041, Russian Federation
²Krasnoyarsk Regional Bureau of Forensic Medical Examination,
Mira pr., 35, Krasnoyarsk, 660049, Russian Federation

*Corresponding author: Vasily V. Nemikhin, E-mail: basilefs88@mail.ru

Submitted 11 September 2017, received in revised form 08 December 2017

For the extraction-fluorimetric determination of nanogram amounts of codeine in human urine the use of the fluorescence of the toluene extract of the codeine ionic associate with eosin was proposed. The formed ionic associate was characterized by the intensive fluorescence with a maximum of 550 nm. It was shown that the fluorescence intensity of the codeine ion associate with eosin in toluene was 10 times higher than

the intensity of its luminescence in carbon tetrachloride, and 3 times higher than its intensity in chloroform. The optimal conditions for the formation of the fluorescent ion associate of the positively charged codeine ion with a negatively charged form of eosin were determined. The maximum fluorescence intensity of the ion associate was observed during the toluene extraction from the aqueous solutions with pH of 6 - 8 and the eosin concentration in the range of $1 \cdot 10^{-5}$ - $1 \cdot 10^{-3}$ mol·L⁻¹. The fluorescence intensity of the extract was maintained at the initial level for 24 hours. The extraction-fluorometric procedure for determining the nanogram amounts of codeine in human urine was developed. The limit of detection of codeine, calculated by 3s-criterion, was equal to 6 ng·ml⁻¹. The calibration curve linearity was maintained in the range of 30 – 320 ng·ml⁻¹. The procedure for the determination of codeine in real expert samples of urine was tested. The relative standard deviation did not exceed 0.08. The obtained results for the extraction-fluorimetric determination of codeine in human urine allowed recommending the developed procedure for its use in the solutions of certain tasks in the practice of the institutions of the corresponding profile.

Keywords: Codeine, determination, human urine, extraction, fluorescence.

ВВЕДЕНИЕ

Кодеин – 3-метилморфин (рис. 1), алкалоид опия, обладает слабым наркотическим и болеутоляющим эффектом, в связи с чем используется как компонент болеутоляющих лекарств, а также как противокашлевое лекарственное средство центрального действия в сочетании с другими препаратами [1, 2]. Необходимость экспрессного неинвазивного определения опиатов в моче человека, в т.ч. кодеина, возникает при проведении соответствующих экспертиз: выявления морфина и его производных, дезоморфина, «кодеиновой» зависимости. Моча является специфическим объектом в судебно-химических исследованиях, так как многие вещества, выводящиеся почками, могут обнаруживаться в виде неизмененных соединений или их метаболитов более длительное время, чем в крови. Как правило, тест остается положительным в течение нескольких дней после последнего приема наркотика.

Концентрации кодеина в моче человека при проведении скрининговых исследований, подтверждающих его наличие при злоупотреблениях, составляют порядка $n \cdot 10^2$ нг/мл. Низкие содержания кодеина в моче человека предполагают использование для его определения высокочувствительных методов анализа или проведение предварительного концентрирования кодеина перед его последующим определением.

Наиболее эффективными и распространенными методами определения кодеина являются хроматографические [3]. Причем, в зависимости от целей исследования используются как относи-

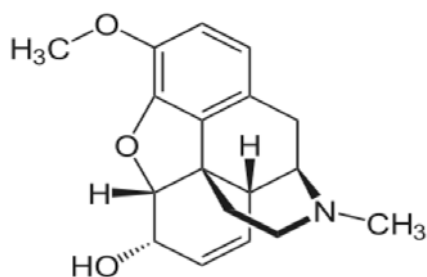


Рис. 1. Структурная формула кодеина

Fig. 1. Structural formula of codeine

тельно сложные газовые хромато-масс-спектрометрические (ГХ-МС), так и более простые методы тонкослойной хроматографии (ТСХ) [4-6]. Пределы ГХ-МС обнаружения кодеина составляют порядка 200 нг/мл. Снижение пределов обнаружения кодеина до десятков нг/мл требует проведения дополнительных операций получения дериватов.

Вместе с тем, для определения низких содержаний кодеина также представляют интерес простые и доступные методы, не требующие сложного аппаратного оформления, например, спектрофотометрия и люминесценция. Известны методики экстракционно-фотометрического определения относительно больших (более 0.3 мкг/мл) содержаний кодеина [7]. Люминесцентное определение микрограммовых содержаний кодеина фосфата, а также кодеина в смеси с морфином, папаверином и наркотинном описано в [8, 9].

Ранее нами [10] предложена методика люминесцентного определения кодеина в фармацевтических препаратах, а в [11] описан способ экстракционно-флуориметрического определения 1.5-20 нг/мл кодеина в водных растворах.

Целью настоящей работы являлась разработка экстракционно-флуориметрической методики определения наногаммовых содержаний кодеина в моче человека.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Реагенты и растворы

Исходный раствор, содержащий 10 мг/мл кодеина, готовили растворением точной навески препарата фирмы Фармалаб (Австралия) в 96 % этаноле. Для приготовления рабочих растворов кодеина соответствующую аликвотную часть исходного спиртового раствора кодеина выпаривали досуха и полученные сухие остатки растворяли в 0.05 М H₂SO₄. В качестве исходного раствора эозина использовали стандартный раствор «ГЕМСТАНДАРТ – Э – 1» производства ООО ГЕМСТАНДАРТ (Россия). Рабочие растворы эозина с меньшими концентрациями готовили разбавлением исходного раствора деионизованной водой. Стандартный раствор бисульфата хирина готовили растворением в 0.5 М H₂SO₄ точной навески дополнительно очищенного

перекристаллизацией коммерческого препарата фирмы HAV (Индия). Исходные препараты имели квалификацию «х.ч.». Необходимые значения pH создавали растворами HCl, H₂SO₄, NaOH квалификации «ос.ч.», а также буферной смесью KH₂PO₄ + NaH₂PO₄. Органические растворители (хлороформ, четыреххлористый углерод, толуол, этанол, диэтиловый эфир, изопропанол) предварительно очищали перегонкой.

Аппаратура

Спектры поглощения и оптическую плотность растворов регистрировали на спектрофотометре «Lambda 35» (Perkin Elmer, США). Спектры возбуждения флуоресценции, флуоресценции и интенсивность флуоресценции растворов регистрировали на спектрофлуориметре « Cary Eclipse» (Varian, Австралия). Ионномер Sevenson (Mettler-Toledo, Испания) использовали для измерения pH растворов. Деионизованную воду получали на установке E-pure D4642-33 (Barnstead International).

Определение относительного квантового выхода флуоресценции кодеина

Определение относительного квантового выхода флуоресценции кодеина проводили по методике [12] с использованием в качестве стандартного флуоресцирующего вещества хинина бисульфата в 0.5 М H₂SO₄ с известным квантовым выходом флуоресценции ($\Phi_{\text{фл}} = 0.55$). С этой целью готовили разбавленные растворы ($\sim 5 \cdot 10^{-6}$ М) кодеина в 0.05 М H₂SO₄ и хинина бисульфата в 0.5 М в H₂SO₄. Оптические плотности ($l = 1$ см) полученных растворов в максимумах поглощения при 286 нм (кодеин) и 350 нм (хинина бисульфат) не превышали 0.01. Для получения достоверных значений оптических плотностей растворов использовали кварцевые кюветы с $l = 10$ см. Оптимальные длины волн возбуждения флуоресценции ($\lambda_{\text{в}} = 300$ нм) и флуоресценции ($\lambda_{\text{фл}} = 345$ нм) растворов кодеина опубликованы в работе [10], а хинина бисульфата ($\lambda_{\text{в}} = 366$ нм, $\lambda_{\text{фл}} = 450$ нм) в [12]. Спектры флуоресценции растворов кодеина и хинина бисульфата регистрировали при длинах волн возбуждающего света 300 и 366 нм соответственно. Определяли площади под спектрами флуоресценции и рассчитывали относительный квантовый выход флуоресценции кодеина ($\Phi_{\text{фл}}$) по формуле:

$$\Phi_{\text{фл}} = \frac{S_2 \times A_1}{S_1 \times A_2} \times 0,55,$$

где S_1 , S_2 – площади под спектрами флуоресценции, а A_1 , A_2 – оптические плотности растворов хинина бисульфата и кодеина соответственно.

Рассчитанный относительный квантовый выход флуоресценции кодеина составил 0.01.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Прямое флуориметрическое определение микро- и наногаммовых содержаний кодеина в водных растворах ограничено низкой интенсивностью его свечения ($\Phi_{\text{фл}} = 0.01$). Кодеин представляет собой сильное третичное основание, содержащее =NCH₃ группу с $pK_a = 8.2$ [3], что обуславливает его нахождение в нейтральных и кислых водных растворах в виде слабо флуоресцирующего положительно заряженного иона. Спектры флуоресценции водных растворов кодеина представляют собой широкие бесструктурные полосы с максимумом интенсивности свечения при 345 нм (рис. 2). Причем интенсивность свечения симбатно увеличивается при понижении pH растворов по мере накопления протонированных ионов кодеина. Последнее, в свою очередь, способствует образованию ионных ассоциатов катионов кодеина с отрицательно заряженными противоионами неорганической и органической природы. Этот эффект широко используется для идентификации и определения содержаний кодеина, в т.ч. на поверхности сорбента [7, 13].

Для флуориметрических определений низких содержаний кодеина в виде ионных ассоциатов интерес, прежде всего, представляют флуоресцирующие реагенты в анионной форме с высокими квантовыми выходами свечения. К ним, в частности, относятся триарилметановые (ксантеновые) красители ряда флуоресцеина. Такой универсальной популярностью и самим своим названием флуоресцеин обязан своей яркой зеленой флуоресценции в растворах в полностью диссоциированном состоянии и высоким квантовым выходом ($\Phi_{\text{фл}} = 0.85$) [12].

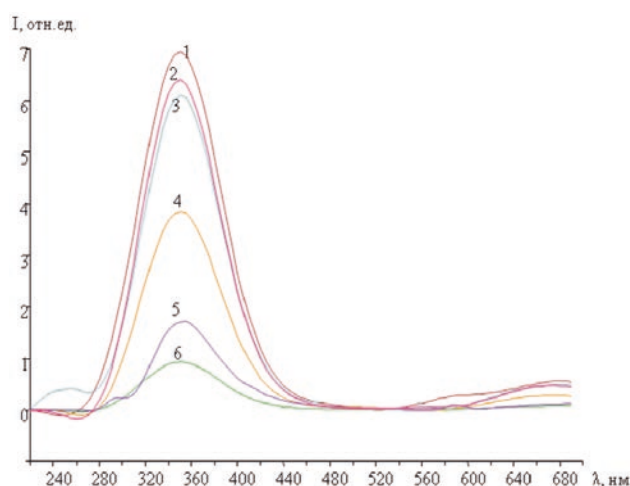


Рис. 2. Спектры флуоресценции водных растворов кодеина (1 мг/мл) при различных pH среды: 1-5 (1); 6 (2); 7 (3); 8 (4); 9 (5); 10 (6)

Fig. 2. Fluorescence spectra of codeine aqueous solutions (1 mg·mL⁻¹) at various pH: 1-5 (1); 6 (2); 7 (3); 8 (4); 9 (5); 10 (6)

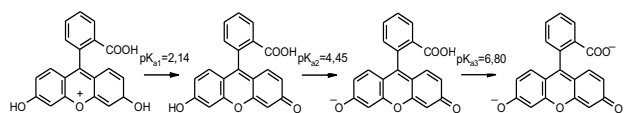
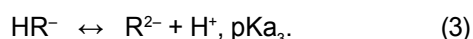
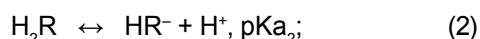
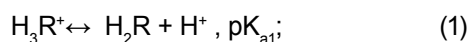


Рис. 3. Формы нахождения флуоресцеина в водных растворах и значения pK_a его ионизируемых групп

Fig. 3. Finding forms of fluorescein in aqueous solutions and pK_a values of its ionizable groups

В соответствии со строением молекул (рис. 3) диссоциация красителей ряда флуоресцеина в растворах протекает в три ступени:



Для водных растворов флуоресцеина значения pK_a равновесий (1–3) составляют 2.14; 4.45; 6.80 соответственно [14]. Таким образом, согласно значению $pK_{a3} = 6.80$, полностью диссоциированная форма флуоресцеина R^{2-} существует в водных растворах при $pH > 7$. В данном случае более привлекательным выглядит галогенпроизводное флуоресцеина – эозин, для которого значения pK_a равновесий (1–3) составляют –2.0; 2.81; 3.75 соответственно [14]. Это определяет нахождение флуоресцирующей формы R^{2-} эозина в кислых растворах, что является более предпочтительным для его использования в качестве противоиона в ионном ассоциате с кодеином (рис. 4), несмотря на меньшее по сравнению с флуоресцеином значение квантового выхода флуоресценции ($\phi_{fl} = 0.23$) [12].

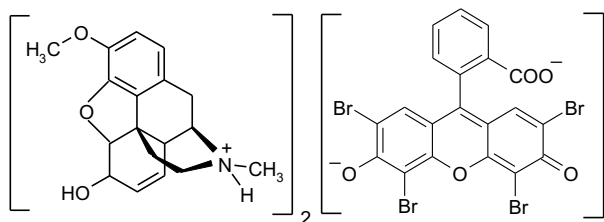


Рис. 4. Ионный ассоциат кодеина с эозином

Fig. 4. Codeine ion associate with eosin

Выбор условий образования и флуоресценции ионного ассоциата кодеина с эозином

Из ряда факторов, влияющих на образование и флуоресценцию ионного ассоциата кодеина с эозином, определяющими являются pH раствора, концентрации реагирующих компонентов и природа органического растворителя. Установлено, что образующийся нейтральный ионный ассоциат кодеина с эозином экстрагируется инертными органическими растворителями, в частности,

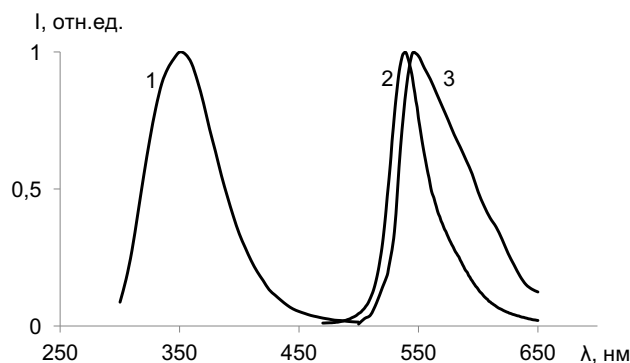


Рис. 5. Нормированные спектры флуоресценции водных растворов кодеина (1; $\lambda_b = 300$ нм), эозина (2; $\lambda_b = 520$ нм) при pH = 7 и ионного ассоциата кодеина с эозином в толуоле (3; $\lambda_b = 520$ нм)

Fig. 5. Normalized fluorescence spectra of codeine aqueous solutions (1; $\lambda_{ex} = 300$ nm) and eosin (2; $\lambda_{ex} = 520$ nm) at pH = 7, and codeine ion associate with eosin in toluene (3; $\lambda_{ex} = 520$ nm)

хлороформом, четыреххлористым углеродом и толуолом. При этом интенсивность флуоресценции ионного ассоциата кодеина с эозином в толуоле в 10 раз выше интенсивности его свечения в четыреххлористом углероде и в 3 раза – в хлороформе. На рис. 5 представлены нормированные спектры флуоресценции водных растворов кодеина, эозина и ионного ассоциата кодеина с эозином в толуоле. Как видно из рисунка, наблюдается bathochromное смещение максимума спектра флуоресценции ионного ассоциата кодеина с эозином в толуоле до 550 нм по сравнению с максимумом спектра флуоресценции эозина в водном растворе ($\lambda_{max} = 540$ нм). Интенсивность флуоресценции экстракта сохраняется в течение 24 часов.

Максимальная интенсивность флуоресценции ионного ассоциата наблюдается при его экстракции толуолом из водных растворов с pH 6–8 (рис. 6), что соответствует диапазону pH нахожде-

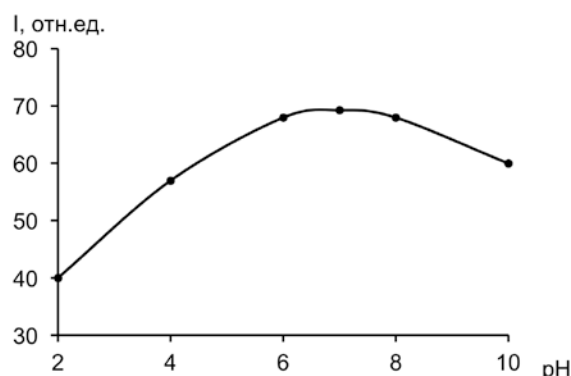


Рис. 6. Зависимость интенсивности флуоресценции ионного ассоциата кодеина с эозином в толуоле от pH водного раствора ($C_{код} = C_{эоз} = 0.03$ мг/мл, $\lambda_b = 520$ нм)

Fig. 6. Dependence of the fluorescence intensity of codeine ion associate with eosin in toluene on pH of aqueous solution ($C_{cod} = C_{eos} = 0.03$ mg·mL⁻¹, $\lambda_{ex} = 520$ nm)

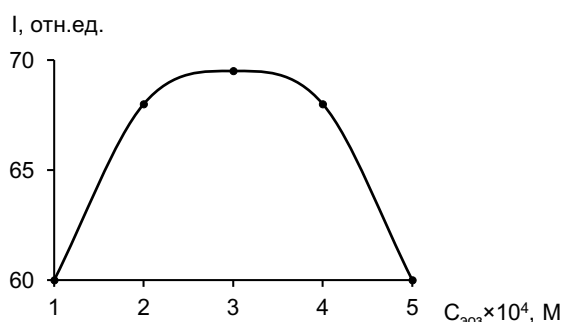


Рис. 7. Зависимость интенсивности флуоресценции ионного ассоциата кодеина с эозином в толуоле от концентрации эозина в водном растворе ($C_{\text{код}} = 1 \cdot 10^{-4} \text{ М}$, $\text{pH} = 7$, $\lambda_{\text{в}} = 520 \text{ нм}$)

Fig. 7. Dependence of the fluorescence intensity of codeine ion associate with eosin in toluene on the concentration of eosin in aqueous solution ($C_{\text{cod}} = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, $\text{pH} = 7$, $\lambda_{\text{ex}} = 520 \text{ nm}$)

ния положительно заряженного иона кодеина и отрицательно заряженной формы (R^{2-}) эозина.

Для образования ионного ассоциата при микро- и наногаммовых содержаниях кодеина в водных растворах достаточно 2-8 кратных избытков эозина. Превышение границ отношений концентраций приводит к уменьшению интенсивности свечения в основном за счет возрастания фонового сигнала (рис. 7).

В найденных оптимальных условиях разработана методика экстракционно-флуориметрического определения наногаммовых содержаний кодеина в моче человека.

Методика определения

Пробоподготовка образцов мочи. Пробоподготовку образцов мочи человека проводили по адаптированной к условиям флуориметрического детектирования кодеина методике в соответствии с рекомендациями [15]. Для устранения мешающего влияния морфина использовали свойство кодеина экстрагироваться из слабо щелочных водных растворов диэтиловым эфиром. При этом морфин образует морфинат и остается в водной фазе. Это свойство используется для разделения алкалоидов в ходе их определения [2].

В пробирку вместимостью 20 мл вводили 10 мл мочи и 1 мл концентрированной HCl . Пробирку закрывали пробкой и подвергали кислотному гидролизу на глицериновой бане при температуре $100 \text{ }^\circ\text{C}$ в течение 30 минут. Раствор в пробирке охлаждали, добавляли 1.7 мл 50%-ного раствора трихлоруксусной кислоты, перемешивали, выдерживали 10 минут, а затем фильтровали через бумажный фильтр «красная лента». Фильтр промывали 5 мл воды, подкисленной хлористоводородной кислотой до $\text{pH} = 2$. Фильтраты объединяли, переносили в делительную воронку и экстрагировали трижды по 5 мл смеси хлороформ - изопропанол (9 : 1) в течение

Таблица 1

Результаты экстракционно-флуориметрического определения кодеина в образце мочи человека ($n = 3$; $P = 0.95$)

Table 1

The results of extraction-fluorescence determination of codeine in a human urine expert sample ($n = 3$; $P = 0.95$)

Содержание кодеина, нг/мл		S , нг/мл	S_r
Введено	Найдено ($C \pm \delta$)		
50.0	47 ± 9	3.8	0.08
100.0	94 ± 14	5.6	0.06
150.0	161 ± 20	8.1	0.05
200.0	181 ± 23	9.1	0.05
250.0	271 ± 30	10.8	0.04
300.0	327 ± 30	13,1	0.04

5 минут. Водный слой отделяли, нейтрализовали раствором гидрокарбоната натрия, добавляли 10%-ный раствор аммиака до $\text{pH} = 8.5$, экстрагировали дважды 5 мл диэтилового эфира в течение 5 минут. Органическую фазу отделяли, фильтровали через фильтр «белая лента» с безводным сульфатом натрия и выпаривали до сухого остатка в токе теплого воздуха ($60 \text{ }^\circ\text{C}$). Сухой остаток растворяли в 10 мл $0.05 \text{ М H}_2\text{SO}_4$. К полученному раствору приливали 2 мл фосфатной буферной смеси ($\text{pH} = 7$), 4 мл водного раствора эозина (0.03 мг/мл) и 10 мл толуола. Содержимое делительной воронки перемешивали в течение 10 минут. После разделения фаз водную фазу отбрасывали. Для удаления эозина, перешедшего в органическую фазу, в делительную воронку вводили 10 мл фосфатной буферной смеси и встряхивали 5 минут. После разделения фаз аликвоту (2 мл) органической фазы переносили в кварцевую кювету и измеряли интенсивность флуоресценции при 550 нм.

Построение градуировочной зависимости. В ряд пробирок вместимостью 20 мл последовательно вводили 10 мл мочи, от 100 нг до 10 мкг кодеина, 1 мл концентрированной HCl и далее поступали, как описано выше при пробоподготовке образцов мочи. Получено уравнение градуировочной зависимости: $I = 2.54 \cdot C_{\text{код}}$, нг/мл ($r = 0.9918$). Предел обнаружения кодеина, рассчитанный по $3s$ -критерию, равен 6 нг/мл. Линейность градуировочной зависимости сохраняется до 320 нг/мл кодеина.

Оценку правильности результатов экстракционно-флуориметрического определения кодеина проводили методом «введено-найденно» в образцах мочи человека, не содержащих кодеина (табл. 1), и сопоставлением с результатами, полученными независимым методом ГХ-МС (табл. 2) в экспертных образцах мочи человека. В последнем случае пробоподготовку исследуемых образцов мочи человека проводили в соответствии с рекомендациями специалистов Пермского областного бюро судебно-медицинской экспертизы [6].

Как видно из табл. 1 и 2, результаты экстракционно-флуориметрического определения кодеина

Таблица 2

Результаты определения кодеина в экспертных образцах мочи человека экстракционно-флуориметрическим (Э/фл) и ГХ-МС – методами ($n = 3$; $P = 0,95$)

Table 2

The results of extraction-fluorescence and GC-MS methods of codeine determination in human urine expert samples ($n = 3$; $P = 0.95$)

Экспертный образец (№)	Содержание кодеина ($C \pm \delta$), нг/мл	
	Метод Э/фл	Метод ГХ-МС
1	120 \pm 14	124 \pm 11
2	248 \pm 21	242 \pm 17

на в моче человека характеризуются правильностью и достаточно высокой воспроизводимостью. При определении кодеина с концентраций больше 50 нг/мл относительное стандартное отклонение не превышает 0.08. В определенной степени погрешности многоступенчатой пробоподготовки нивелируются тем фактом, что построение градуировочной зависимости и последующее определение кодеина проводилось в идентичных условиях с использованием реальных образцов мочи (релятивизация погрешностей). Вместе с тем, многоступенчатая пробоподготовка, в т.ч. процедура экстракции диэтиловым эфиром для разделения кодеина и морфина привели к заметному ухудшению метрологических характеристик методики определения кодеина в моче человека по сравнению с его определением в водных растворах, в частности, повышению предела обнаружения с 0.4 до 6 нг/мл [11].

Полученные результаты экстракционно-флуориметрического определения кодеина в моче человека позволяют рекомендовать разработанную методику для ее использования при решении определенных задач в практике учреждений соответствующего профиля. Таковыми могут быть, например, разовые анализы, априорная оценка содержания кодеина в образцах мочи перед проведением серийных ГХ-МС определений или отсутствие соответствующего инструментария.

ЛИТЕРАТУРА

1. Машковский М.Д. Лекарственные средства. М.: Новая волна, 2012. 1216 с.
2. Веселовская Н.В., Коваленко А.Е. Наркотики: свойства, действие, фармакокинетика, метаболизм. М.: Триада-Х, 2000. 204 с.
3. 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.
4. Drummer O.H. Chromatographic screening techniques in systematic toxicological analysis // *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*. 1999. V. 733, Iss. 1 - 2. P. 27-45.
5. Идентификация морфина и кодеина методом газовой хроматографии-масс-спектрометрии в химико-токсикологических исследованиях / А.В. Воронин [и др.] // Вестник СамГУ. Естественнонаучная серия. 2007. Т. 56. № 6. С. 385-391.

6. Катаев С.С., Зеленина Н.Б., Шилова Е.А. Определение дезоморфина в моче // Проблемы экспертизы в медицине. 2007. №1. С. 32-36.
7. Крамаренко В.Ф. Токсикологическая химия. Киев: Высшая школа, 1989. 447 с.
8. Sensitive terbium probes for luminescent determination of both alkaline phosphate and codeine phosphate / A. Duerkop [et al.] // *Annals of the New York Academy of Science*. 2008. V. 1130, P. 172-178.
9. Chalmers R.A., Wadds G.A. Spectrofluorometric analysis of mixtures of the principal opium alkaloids // *Analyst*. 1970. V. 95, P. 234-241.
10. Немихин В.В., Качин С.В., Шахворостова Т.С. Изучение спектролюминесцентных свойств кодеина с целью его определения в некоторых лекарственных препаратах // Журнал Сибирского Федерального университета. Химия. 2012. Т. 5, № 3. С. 289-295.
11. Патент RU 2 621 474 С1. Способ определения кодеина / С.И. Метелица [и др.]. Заявка № 2016112825 (РФ); заявл. 04.04.16; опубл. 06.06.17.
12. Паркер С. Фотолуминесценция растворов. М.: Мир, 1972. 510 с.
13. Определение кодеина в лекарственных препаратах методом спектроскопии диффузного отражения / В.В. Немихин [и др.] // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. 2016. Т. 82, № 2. С. 20-23.
14. Мчедлов-Петросян Н.О. Флуоресцеиновые красители в растворах – хорошо изученные системы? // Вестник Харківського національного університету. Хімія. 2004. Вип. 11 (34). № 626. С. 221-312.
15. Мелентьев А.Б. Практическое руководство по скринингу лекарственных, наркотических веществ и их метаболитов методом газовой хроматографии с масс-селективным детектором для целей судебной токсикологии. Ч. 1. Челябинск: Челябинское областное бюро СМЭ, 2001. 62 с.

REFERENCES

1. Mashkovskij M.D. *Lekarstvennye sredstva* [Medicines]. Moscow, New wave, 2012. 1216 p. (in Russian).
2. Veselovskaya N.V., Kovalenko A.E. *Narkotiki: svoistva, deistvie, farmakokinetika, metabolizm* [Narcotics: properties, action, pharmacokinetic, metabolism]. Moscow, Triad-X, 2000. 204p. (in Russian).
3. 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.
4. Drummer O.H. [Chromatographic screening techniques in systematic toxicological analysis]. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 1999, vol. 733, no. 1-2, pp. 27-45.
5. Voronin A.V., Shatalaev I.F., Voevodina T.V., Purygin P.P. [Identification of morphine and codeine using gas chromatography-mass spectrometry in chemical-toxicological studies]. *Vestnik SamGU. Estestvennonauchnaia seriia* [Bulletin of the Samara state university. Natural science series], 2007, vol. 56, no. 6, pp. 385-392 (in Russian).
6. Kataev S.S., Zelenina N.B., Shilova E.A. [The determination of desomorphine in the urine]. *Problemy ekspertizy v meditsine* [Examination problem in medicine]. 2007, no. 1, pp. 32-36 (in Russian).
7. Kramarenko V.F. *Toksikologicheskaia himiia* [Toxicological chemistry]. Kiev, High school, 1989. 447p. (in Russian).
8. Duerkop A., Aleksandrova D, Scripinets Y, Yegorova A, Vityukova E. [Sensitive terbium probes for luminescent

- determination of both alkaline phosphate and codeine phosphate]. *Annals of the New York Academy of Science*, 2008. vol. 1130, pp. 172-178.
9. Chalmers R.A., Wadds G.A. [Spectrofluorimetric analysis of mixtures of the principal opium alkaloids]. *Analyst*, 1970, vol. 95, pp. 234 -241.
10. Nemikhin V.V., Kachin S.V., Shahvorostova T.S. [The study of spectroscopy fluorescent properties of codeine with the goal of its determining in some drugs]. *Zhurnal Sibirskogo Federal'nogo universiteta. Himiya* [Journal of Siberian Federal University. Chemistry], 2012, vol. 5, no. 3, pp. 289-295 (in Russian).
11. Metelitsa S.I., e.a. *Sposob opredeleniia kodeina* [The way of determination of codeine]. Patent RF, no. 2621474, 2017. (in Russian).
12. Parker S. *Photoluminescence of solition*. New York, Elsevier Pub. Co., 1968. (Russ. ed.: Parker S. *Fotolyuminescenciia rastvorov*. Moscow, Mir Publ., 1972, 510 p.).
13. Nemikhin V.V., Kachin S.V., Metelitsa S.I., Losev V.N., Sagalakov S.A., Shahvorostova T.S. [Determination of codeine in pharmaceutical preparations by the method of diffuse reflection spectroscopy]. *Zavodskaya laboratoriya. Diagnostika materialov* [Industrial Laboratory. Diagnostics of materials], 2016, vol. 82, no. 2, pp. 20-23 (in Russian).
14. Mchedlov-Petrosyan. [Fluoresceine dyes in solutions is a well – studied system?]. *Visnik Harkivskogo natsional'nogo universitetu. Himiya* [Bulletin of the Kharkov national university], 2004, vol. 11 (34), no. 626, pp. 221-312.
15. Melent'ev A.B. *Prakticheskoe rukovodstvo po skriningu lekarstvennykh, narkoticheskikh veshchestv i ikh metabolitov metodom gazovoi hromatografii s mass-selektivnym detektorom dlia tselei sudebnoi toksikologii. CH. 1* [A practical guide to the screening of drugs, narcotic substances and their metabolites by gas chromatography with mass-selective detector for the purposes of forensic toxicology. P. 1]. Chelyabinsk, Chelyabinsk region bureau FME, 2001. 62 p. (in Russian).