



УДК 615.072

## РАЗРАБОТКА МЕТОДОВ ПОДТВЕРЖДЕНИЯ ПОДЛИННОСТИ ГИДРОХИНОНА

**Е.К. ГУЗЕВ<sup>1,2</sup>**  
**Н.В. НОЗДРИН<sup>1,2</sup>**  
**Н.С. ГУЗЕВ<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> ЗАО «Ретиноиды», г. Москва

<sup>2</sup> Первый МГМУ  
им. И.М. Сеченова

*e-mail: gyzb@yandex.ru*

В статье изложены результаты выбора оптимальных методов, подтверждающих показатель «Подлинность» гидрохинона как фармацевтической субстанции. В качестве возможных были рассмотрены как традиционные методы фармацевтического анализа, так и методы ИК- и УФ-спектроскопии, а также метод ВЭЖХ. В результате установлено, что все три метода обладают достаточной специфичностью и позволяют подтвердить подлинность гидрохинона.

Ключевые слова: физико-химические методы, подлинность, ИК-спектроскопия, УФ-спектроскопия, ВЭЖХ, гидрохинон.

Гидрохинон – это двухатомный фенол, в структуре которого гидроксильные группы располагаются в пара-положении. В середине XIX столетия гидрохинон широко использовался как антипирическое и антисептическое средство, однако с получением более эффективных лекарственных веществ его перестали применять в медицине [2]. В последнее десятилетие внимание к гидрохинону вновь возросло, и это связано с его способностью угнетать продукцию меланина в клетках кожи, что может использоваться для лечения гиперпигментации [6, 7]. В Американской Фармакопее имеются монографии о субстанции гидрохинон и лекарственные препараты с его содержанием [5]. В России в продаже имеются косметические средства, в состав которых входит гидрохинон, однако в качестве фармацевтической субстанции он не зарегистрирован. В настоящее время ЗАО «Ретиноиды» предпринимает шаги по исследованию его фармакологических свойств с целью регистрации субстанции гидрохинон и мягкой лекарственной формы с его содержанием [1].

Традиционно для проведения испытаний на подлинность широко применяются цветные реакции. В литературе описан ряд реакций, используемых для качественного обнаружения гидрохинона [3]. Некоторые из них, наиболее часто встречающиеся, представлены в таблице.

Из таблицы видно, что для идентификации гидрохинона можно предложить несколько цветных реакций. Однако не все они обладают специфичностью, так как характерны для многих соединений фенольной природы; при этом нужно отметить, что реакция с раствором хлорида железа всё-таки позволяет отличить гидрохинон от родственных соединений. Кроме того, для проведения этих реакций необходимы довольно труднодоступные реактивы, что осложняет применение этих методик при рутинном фармацевтическом анализе. Поэтому на следующем этапе мы обратили внимание на физико-химические методы подтверждения подлинности гидрохинона.

Для выявления современных тенденций в разработке методов идентификации фармацевтических субстанций мы обратились к работе Е.Л. Ковалёвой, в которой представлены сравнительные данные по методам стандартизации субстанций, полученные в результате анализа более 2000 монографий из Фармакопее США и Европейской Фармакопее. Показано, что при описании раздела «Подлинность» более 70% монографий рекомендуют применять метод ИК-спектроскопии. Метод УФ-спектроскопии с использованием внешнего стандарта чаще упоминается в Фармакопее США. При описании раздела «Подлинность» встречаются различные виды хроматографии. В Фармакопее США хроматография используется в 26% случаев, а в Европейской Фармакопее – в 18%.

Интересно, что в Американской Фармакопее чаще рекомендуется метод ВЭЖХ, а в Европейской Фармакопее предпочтение отдаётся методу ТСХ [4]. Для установления отечественных тенденций в подходах к подтверждению подлинности гидрохинона нами были проанализированы монографии, включённые в ГФ XII издания. Установлено,



что отечественные разработчики лекарственных средств в разделе «Подлинность» чаще всего используют спектральные методы: в ИК-области спектра – 96%, в УФ-области спектра – 66%, что соответствует зарубежным тенденциям. Хроматография используется довольно редко – всего в 7%, в то время как качественные реакции на функциональные группы описаны в 74% монографий.

Таблица

#### Качественные реакции на гидрохинон

Реактив	Результат	Примечание
Хлорид железа (III)	Зеленоватое окрашивание, переходящее в жёлтое	—
Бромная вода	Образуются белый осадок	Реакция проводится в щелочной среде
Реактив Нesslerа	Чёрное окрашивание	Реакция проводится на фильтровальной бумаге
Орто-фталевый альдегид	Фиолетовое окрашивание раствора	Окрашивание появляется в течение нескольких минут
Пара-фталевый альдегид	Окрашивание раствора в коричневый цвет	Окрашивание появляется в течение нескольких минут
Флороглюцин	Окрашивание раствора в оранжево-красный цвет	Интенсивность окраски зависит от концентрации гидрохинона
Нитрит натрия	Жёлтая окраска раствора	Жёлтая окраска раствора наблюдается при нагревании. При добавлении 15 % раствора гидроксида натрия раствор темнеет
Фосфорно-молибденовая кислота	Синее окрашивание раствора	Реакцию проводят в воде или эфире

Таким образом, с учётом современных подходов к стандартизации фармацевтических субстанций, наше внимание было обращено на инструментальные физико-химические методы подтверждения подлинности гидрохинона.

**Целью** настоящей работы стал выбор оптимальных методов подтверждения подлинности гидрохинона как фармацевтической субстанции.

#### Объекты и методы исследования.

Объектами исследования служили четыре образца отечественного гидрохинона, произведённого по ГОСТу 19627-74, и стандартный образец гидрохинона (Sigma, кат. № Н9003); также использовали его структурные изомеры, отличающиеся положениями гидроксильных групп в бензольном кольце: резорцин (Sigma, кат. № 16101) и пирокатехин (Sigma, кат. № С9510). Регистрацию спектров в области от 2500 до 600 см<sup>-1</sup> проводили на спектрометре с Фурье-преобразованием ИнфраЛЮМ ФТ-02 в таблетке калия бромида (1:100).

УФ-спектры поглощения исследуемых веществ, растворённых в изопропиловом спирте в концентрации около 20 мкг/мл, получали на спектрофотометре Shimadzu UV-1700 в диапазоне длин волн от 250 до 320 нм в кювете с толщиной поглощающего слоя 10 мм, относительно чистого растворителя. Определяли форму спектра, а также характерные максимумы поглощения.

При хроматографировании использовали жидкостный хроматограф высокого давления Shimadzu LC-20 с диодно-матричным детектором, колонкой Phenomenex Luna CN, 150 × 4,6 мм (5 мкм). Скорость потока подвижной фазы – 1 мл/мин. Элюент – 5 мМоль уксусная кислота. Детектирование проводили при длине волны, равной 280 нм. Готовили растворы гидрохинона, резорцина и пирокатехина в концентрации 5 мг/л, а также раствор, содержащий все три соединения.

#### Полученные результаты.

Для установления возможности идентификации гидрохинона с помощью метода ИК-спектроскопии изучали спектры гидрохинона, резорцина и пирокатехина (рис. 1 и 2).

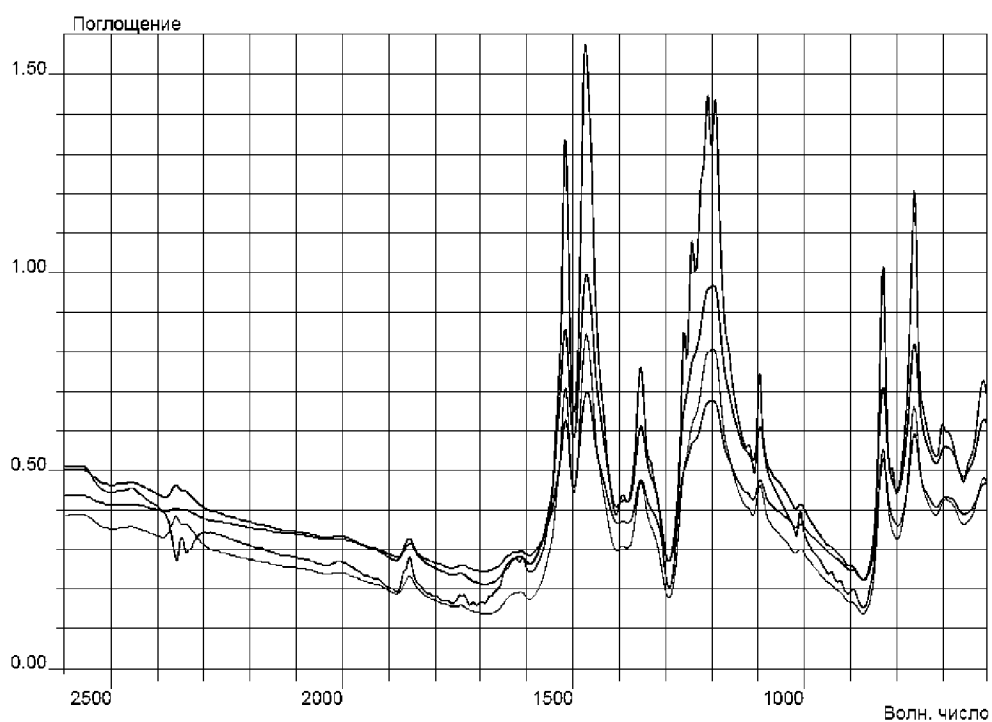


Рис. 1. ИК-спектры различных образцов гидрохинона

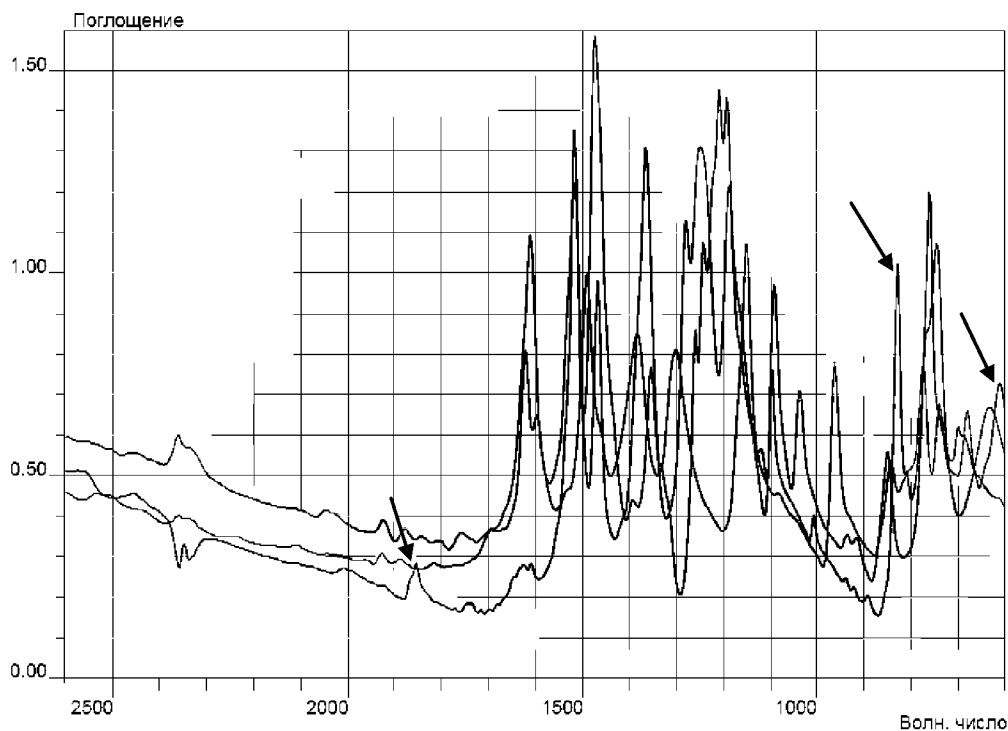


Рис. 2. ИК-спектры гидрохинона (чёрный), резорцина (красный) и пирокатехина (синий)

Сравнение ИК-спектров различных образцов гидрохинона со стандартным образцом показало полное соответствие всех полос поглощения. Сравнение спектра гидрохинона со спектрами пирокатехина и резорцина позволило выделить наиболее важные полосы поглощения, позволяющие дифференцировать эти соединения. Так, в ИК-

спектрах этих соединений имеются общие, характерные для них полосы поглощения. В то же время полосы поглощения при 610, 828 и 1855 см<sup>-1</sup> являются характерными только для гидрохинона (отмечены стрелками).

Таким образом, данные ИК-спектроскопии показали, что этот метод может быть использован для подтверждения подлинности субстанции гидрохинон.

Для установления возможности использования метода УФ-спектроскопии для подтверждения подлинности, кроме гидрохинона, регистрировали спектры резорцина и пирокатехина (рис. 3).

УФ-спектр поглощения резорцина показал, что для него характерно наличие максимумов при 276 нм, 282 нм; причём обнаруженные максимумы обуславливают характерную форму спектра. В спектре поглощения пирокатехина присутствует один максимум при 278 нм. Спектр поглощения гидрохинона характерен наличием максимума при 293 нм.

Полученные данные свидетельствуют, что спектры таких близких по строению соединений, как гидрохинон, резорцин и пирокатехин, в УФ-области отличаются между собой как по форме, так и по обнаруженным максимумам. Установленный факт также свидетельствует о возможности использования метода УФ-спектроскопии для подтверждения подлинности гидрохинона.

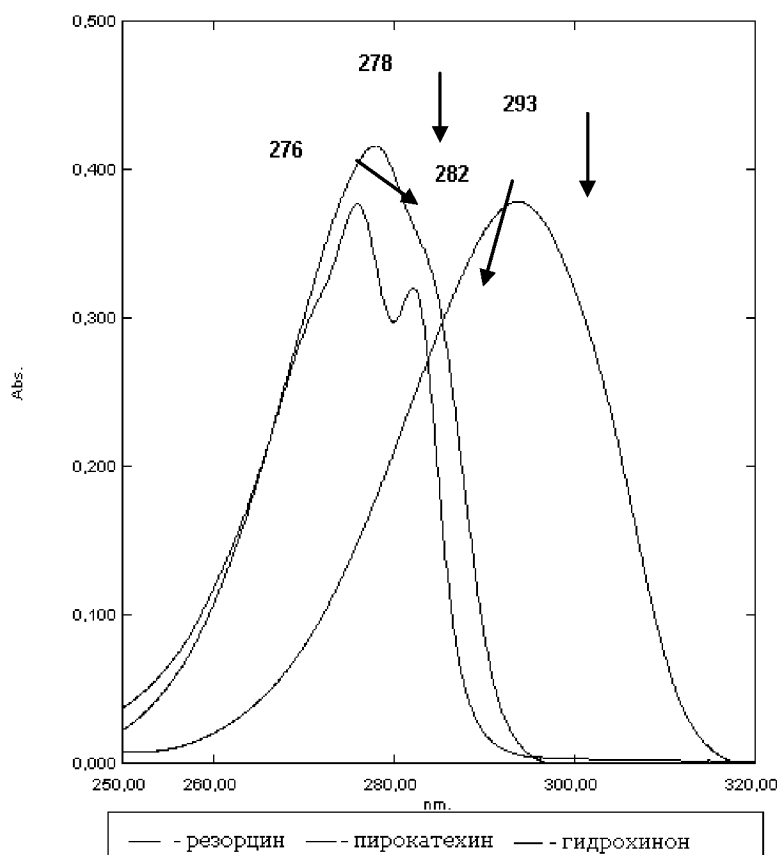


Рис. 3. УФ-спектры поглощения резорцина (С=20,0 мкг/мл), пирокатехина (С=24,4 мкг/мл) и гидрохинона (С=20,5 мкг/мл)

Хроматограмма смеси гидрохинона, резорцина и пирокатехина представлена на рис. 4. Установлено, что хроматографическая методика позволяет добиться разделения компонентов смеси. Время удерживания гидрохинона составило 3,6 мин., резорцина и пирокатехина – 4,8 и 5,4 мин. соответственно, что совпадает с временем удерживания, полученным в ходе хроматографирования индивидуальных растворов. Это позволяет считать данную методику пригодной для подтверждения подлинности гидрохинона.

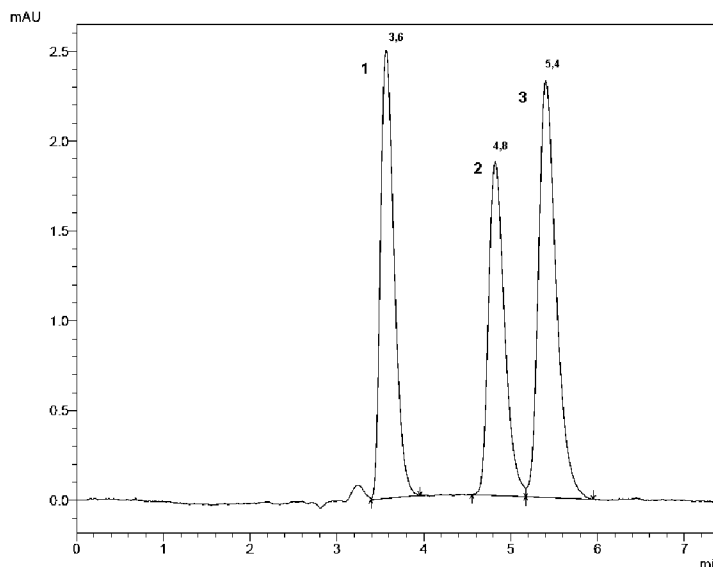


Рис. 4. Хроматограммы гидрохинона (1) резорцина (2) и пирокатехина (3)

Полученные результаты свидетельствуют, что все рассмотренные инструментальные методы обладают довольно высокой специфичностью, способствуют различению гидрохинона среди его структурных изомеров и могут быть использованы для подтверждения подлинности субстанции. Для включения в нормативную документацию можно рекомендовать метод ИК-спектроскопии в том случае, если не предусмотрены хроматографические методики для иных показателей («Посторонние примеси», «Количественное определение»). Если таковые присутствуют, более рациональным представляется использование метода ВЭЖХ с применением диодно-матричного детектора, позволяющего контролировать УФ-спектр.

### Литература

1. Алексеев, А.Г. Меланоциты кожи / А.Г. Алексеев, В.В. Банин, В.И. Ноздрин // Морфология. – 2009. – Т. 136, № 5. – С. 75-76.
2. Антаев, А. Н. Материалы для фармакологии гидрохинона : дис. ... д-ра мед. наук / А.Н. Антаев. – 1887. – 94 с.
3. Коренман, И.М. Фотометрический анализ. Методы определения органических соединений / И.М. Коренман ; под ред. А.К. Бабко. – М. : Химия, 1970. – С. 256.
4. Ковалёва, Е.Л. Совершенствование методологических подходов к обеспечению качества и стандартизации фармацевтических субстанций и препаратов в лекарственной форме «таблетки» : автореф. дис. ... д-ра фармац. наук / Е.Л. Ковалёва. – М., 2010. – 49 с.
5. Фармакопея США: USP 29: Национальный формуляр: NF 24 / пер. с англ. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2009. – Т. 1. – С. 406.
6. Wester, R.C. Human in vivo and in vitro hydroquinone topical bioavailability, metabolism, disposition / R.C. Wester, J. Melendres, X. Hui et al. // J. Toxicol. Environ Health. – 1998. – Vol. 54, № 4. – P. 301-317.
7. Westerhof, W. Hydroquinone and its dermatology – a potential health risk / W. Westerhof, T.J. Kooyers // J. of Cosmetic Dermatology. – 2005. – № 5. – P. 55-59.

## DEVELOPMENT OF METHODS FOR CONFIRMATION OF HYDROQUINONE AUTHENTICITY

**E.K. GUZEV<sup>1,2</sup>**  
**K.V. NOZDRIN<sup>1,2</sup>**  
**K.S. GUZEV<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>J.-s.c. "Retinoids"

<sup>2</sup>Moscow State Medical University

e-mail:gyzb@yandex.ru

The article presents the results of the choice of optimal methods for confirming of the indicator "Authenticity" of hydroquinone as a pharmaceutical substance. Methods of IR and UV spectroscopy and HPLC have been considered as possible. It has been found, that all three methods have a sufficient specificity and make it possible to confirm the authenticity of hydroquinone.

Key words: physical-chemical methods, the authenticity, IR-spectroscopy, UV-spectroscopy, HPLC, hydroquinone.