

x11 8

66.2 + 85

PAPIEROVÁ CHROMATOGRAPHIA, OXYDIMORFÍNU VEDĽA MORFÍNU

^{a in r}
O. MARKOVIČ, L. MOLNÁR, J. TOMKO

Ústav chemickej technológie organických látok Slovenskej akadémie vied v Bratislave

Otázka zmeny zloženia injekčných roztokov morfinu priebehom dlhšej doby, t. j. zníženie obsahu morfinu, vznik oxydimorfinu a zafarbenie roztoku nie je stále uspokojivo vysvetlené, hoci morfin patrí medzi najdlhšie známe a v lekárske používané alkaloidy. Niet preto divu, že tejto otázke sa ustavične venuje v veľká pozornosť vo svetovej literatúre.

Tak bola v starších injekčných prípravkoch morfinhydrochloridu dokázaná prítomnosť oxydimorfinu ako jednej z oxydačných spodín [1, 4, 13, 14].

Papierovú chromatografiu morfinu a iných alkaloidov — pravda, v inej súvislosti — opisujú Munier a Macheboeuf [6, 7, 8, 9]. Ale podobne ako i ďalší autori [10, 11, 12], ktorí opisujú papierovú chromatografiu alkaloidov a galenických prípravkov obsahujúcich morfin, nezaoberajú sa chromatografickým stanovením oxydimorfinu na papieri.

Preto opisujeme vlastnosti oxydimorfinu v rôznych rozpúšťadlových systémoch a jeho detekciu za účelom jeho výhodného stanovenia vedľa morfinu, so zreteľom na jeho prítomnosť v injekčných roztokoch morfinhydrochloridu pomocou papierovej chromatografie.

Experimentálna časť

Pri chromatografovaní starších injekčných roztokov morfinhydrochloridu (ďalej MoHCl) za použitia zmesi *n*-butanol: kyselina octová: voda v pomere 10 : 1 : 3 dostali sme pri žltó sfarbených roztokoch po detekcii Dragendorfo-
vým činidlom okrem morfinových škvŕn zhodných so štandardom MoHCl (s $R_F = 0,39$) ihneď za štartom okrúhlu škvrnu s $R_F = 0,06—0,08$.

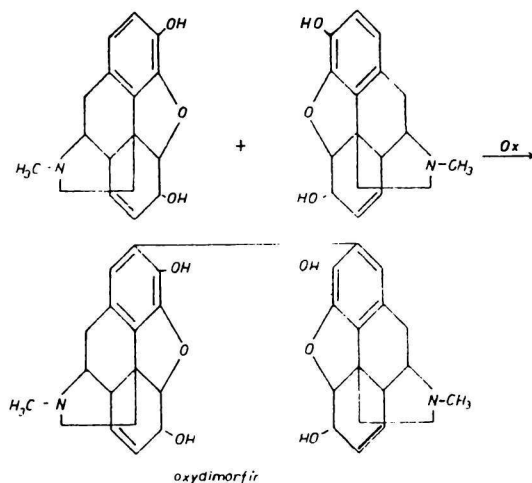
Keďže sme predpokladali a neskôr i kolorimetricky stanovili, že ide o oxydimorfin, pripravili sme túto zlúčeninu podľa Fultona [3].

Príprava oxydimorfinu

10 g MoHCl sa rozpustí v 2,5 l vody a pridá sa 100 ml roztoku CuSO_4 (1 : 10 000) a 200 ml 5% roztoku $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$, 150 ml 5% NaHCO_3 a 50 ml pyridínu. Zmes sa ustavične mieša; po 10 minútach sa začne vylučovať zrazenina oxydimorfinu, ktorá sa odfiltruje. Kryštalická látka sa rozpustí v kyseline solnej a vyzrážaním s NH_4OH sa získa báza oxydimorfinu.

Báza oxydimorfinu je nerozpustná vo vode i v bežných organických rozpúšťadlách. Rozpúšťa sa vo vriacom alkoholickom amoniaku a vo vodných alkáliách, odkiaľ sa môže získať vyzrážaním s CO_2 . Je dobre rozpustná v anilíne, pyridíne a vo fenoloch. Sušením pri 150 °C stráca vodu. Takto pripravená bezvodá báza má b. t. 327 °C. V kyslých roztokoch je ľavotočivá a v alkalickom

prostredí sa optická otáčavosť mení. Rozpúšťaním bázy v kyseline solnej vzniká oxydimorfinhydrochlorid. Produkt, ktorý sme podobným spôsobom pripravili, mal $[\alpha]_D^{20} = -103,13$.



S FeCl_3 dáva tmavomodré sfarbenie, s Liebermann-Bourchardtovým reagentom (acetanhydrid s H_2SO_4) zelené sfarbenie a s formaldehydom a kyselinou sírovou tak isto zelené sfarbenie.

Pripravený oxydimorfinhydrochlorid sme pomocou mikropipiet nanášali na papier vo vodnom roztoku v takom zriedení, že sme na jednotlivé miesta naniesli oxydimorfin v množstvách 100, 50, 25, 12,5, 6,25 a 3,1 μg .

Chromatografovali sme zostupným i vzostupným spôsobom. Pri zostupnom spôsobe sme používali sklené žliabky, uložené na sklenom stojane a umiestené v celosklených komorách, ktoré sme prikrývali sklenou doskou, zabrušenou na stykových miestach. Na dno komory sme na gázu naliali mobilnú fázu, aby sa komora nasýtila parami rozpúšťadla. Pri vzostupnom spôsobe sme používali sklené komory o rozmeroch $12 \times 15 \times 25$ cm, ktoré sme prikrývali sklenou doskou so zabrušenými styčnými plochami. Do jednej komory sme umiestili dva vzostupné chromatogramy o rozmeroch 24×26 cm, na ktoré sme nanášali skúšané vzorky vo výške 5 cm od spodu. Na jeden papier sa dalo naniesť až 12 vzoriek. Papier sme stočili do valca a na troch miestach prešli niťou tak, aby sa okraje papiera nestýkali. Na dno komory sme naliali mobilnú fázu do výšky asi 0,5 cm.

Na oddelenie MoHCl a oxydimorfinu sme ako pretekajúcu fázu použili tieto zmesi rozpúšťadiel:

1. zmes *n*-butanol: kyselina octová voda = 10 1 3 (ďalej označené I),
2. hornú vrstvu zmesi *n*-butanol : kyselina octová voda = 10 2 10 (označené II),

3. hornú vrstvu zmesi *n*-butanol : kyselina octová : voda = 10 : 3 : 10 (označené III),
4. zmes acetón : voda = 75 : 25 (označené IV).

Na detekciu sme použili tieto spôsoby:

1. *Detekcia v ultrafialovom svetle Woodovej lampy.*

Oxydimorfin fluoreskoval jasnomodro a bol zreteľne viditeľný v množstvách nad 5 µg. Polohu škvŕn sme zakreslili mäkkou ceruzkou.

2. *Detekcia jódovými parami v uzavretej sklenej komore.*

Po 1 až 2-minútovom pôsobení jódových pár sme chromatogram vybrali a škvŕny tak isto zakreslili mäkkou ceruzkou. Morfin i oxydimorfin dáva žltohnedé škvŕny na bledožltom podklade. Oxydimorfin sa dal detegovať v množstvách nad 5 µg. Po vyprchaní jódu z papiera sa mohol papier postriekať vhodným defekčným činidlom.

3. *Detekcia Dragendorfovým činidlom (v Munierovej modifikácii).*

Príprava činidla: 2,5 g zásaditého dusičnanu bizmutitého sa rozpustí v 20 ml vody a pridá sa 5 ml kyseliny octovej. Do toho sa prileje roztok 4 g jodidu draselného v 10 ml vody. Vzniká oranžová zrazenina, ktorá sa odfiltruje a číry oranžový filtrát sa používa ako základný roztok. Z toho sa odoberie 5 ml, pridá sa 10 ml kyseliny octovej a doplní sa vodou do 100 ml.

Po postriekaní papiera týmto činidlom a po vysušení dával morfin i oxydimorfin oranžovočervené škvŕny na bledožltom podklade. Dali sa detegovať už 3 µg oxydimorfinu. Roztok činidla sme vždy pripravovali čerstvo zo základného roztoku.

4. *Detekcia roztokom chloridu železitého.*

Po postriekaní chromatogramu 2% vodným roztokom chloridu železitého sme získali modré škvŕny na tmavožltom podklade, ale pri oxydimorfíne sa dali detegovať len množstvá nad 15 µg.

Papier po postriekaní Dragendorfovým činidlom, prípadne roztokom chloridu železitého sme sušili v sušiarňi pri teplote nižšej ako 50 °C, lebo za použitia vyšších teplôt bol základ veľmi tmavý a škvŕny neboli dosť jasne rozoznateľné.

Za použitia zmesi I ako pretekajúcej fázy sme pri oxydimorfíne dostali okrúhle škvŕny s $R_F = 0,06-0,09$. MoHCl mal $R_F = 0,36-0,38$ (pretiahnuté škvŕny), bázičný morfin mal $R_F = 0,45-0,47$.

Za použitia zmesi II dával oxydimorfin okrúhle škvŕny s $R_F = 0,09-0,118$, morfin dával pretiahnuté škvŕny s $R_F = 0,45-0,50$.

Za použitia zmesi III mal oxydimorfin $R_F = 0,36$ a MoHCl $R_F = 0,55$.

V zmesi IV dával MoHCl okrúhle škvŕny, avšak oxydimorfin dával pretiahnutú dlhú škvŕnu, idúcu od štartu až do polovice papiera. Na oddelenie morfinu a oxydimorfinu zmes IV nevyhovovala.

Malé kolísanie R_F hodnôt pri jednotlivých systémoch rozpúšťadiel bolo spôsobené jednak rôznymi koncentraciami nanesej látky, jednak nepatrnými zmenami pomerov jednotlivých zložiek pretekajúcej fázy, ktoré boli spôsobené pri príprave. Kolísanie R_F hodnôt sme pozorovali i za použitia *n*-butanolu rôzneho pôvodu.

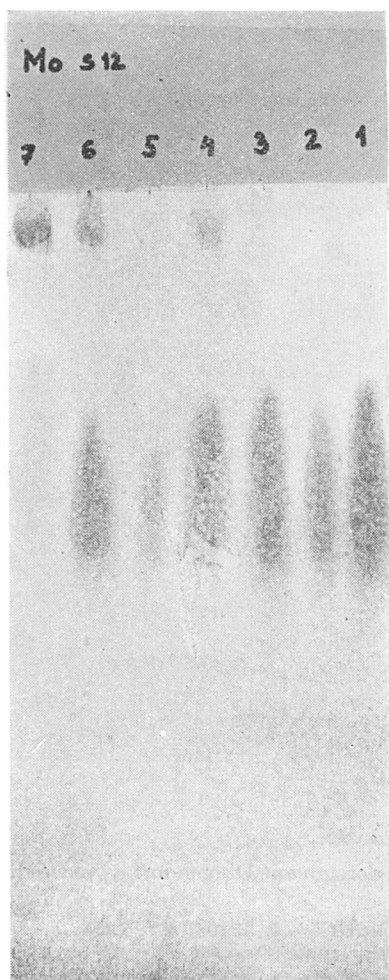
Chromatografovali sme pri teplote $20 \pm 2^\circ\text{C}$.

Pracovali sme jednak na papieri Whatman I, jednak na papieri, ktorý dodal národný podnik Spolana, Neratovice. Tento papier sa tak isto dal použiť na oddelenie oxydimorfinu od morfinu.

Pri chromatografovaní injekcií MoHCl rôzneho roku výroby a rôzneho pôvodu sme ako najvhodnejší používali systém rozpúšťadiel I a II.

Chromatografovali sme injekcie MoHCl z r. 1943, 1947—1953 rôzneho pôvodu, ďalej roztoky 1% MoHCl, ktoré sme sami pripravili a podrobili umelému starnutiu autoklávaním pri 120 °C priebehom 12 hodín, pričom sme ich plnili za prítomnosti vzduchu alebo pod atmosférou dusíka v ampulkách jednak komerčných, jednak z priesvitného kremenného skla.

Zafarbenie injekčných roztokov sme merali na Pulfrichovom fotometri (typ Ib/25) v 1 cm kvete za použitia filtra S50 (5000 Å). Intenzita žltého zafarbenia je vyjadrená v hodnotách optickej priepustnosti D. Ako porovnávací roztok so 100% priepustnosťou sme brali redestilovanú vodu. pH roztoku sme stanovili potenciometricky chinhydrónovou elektródou.



Obr. 1. Chromatogram Mo s12.

Rozpustidlová zmes I: detegované Dragendorfovým činidlom, chromatografované zostupným spôsobom

látka č. 1: 2% injekcia MoHCl č. š. 351053 z r. 1953

pH = 2,3; intenzita sfarbenia: D = 98

látka č. 2: 2% injekcia MoHCl č. š. 571252 z r. 1952

pH = 2,45; intenzita sfarbenia: D = 98

látka č. 3: 3% injekcia MoHCl č. š. 0308511 z r. 1951

pH = 2,53; intenzita sfarbenia: D = 98

látka č. 4: 2% injekcia MoHCl č. š. 055002 z r. 1950

pH = 3,71; intenzita sfarbenia: D = 70,7

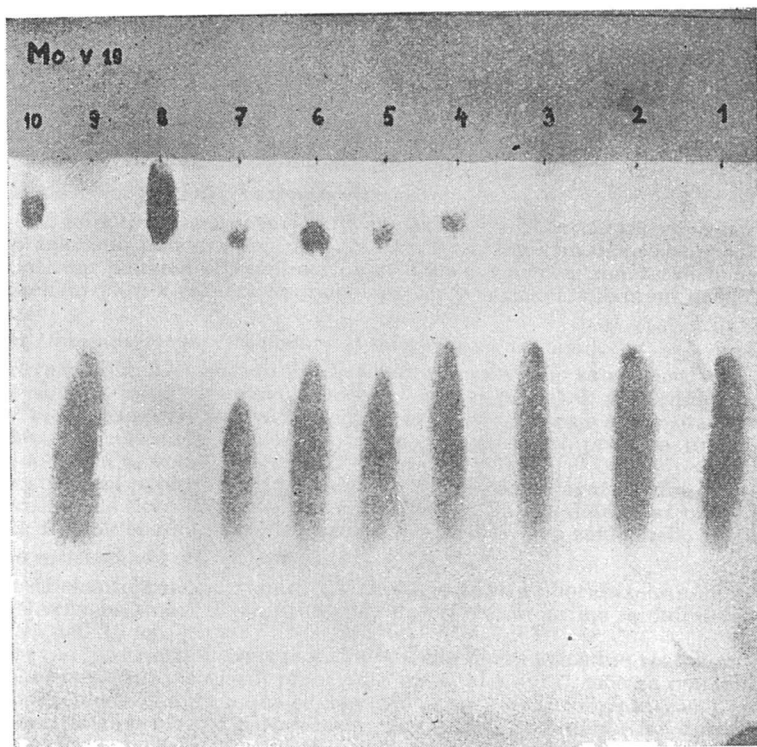
látka č. 5: 1% injekcia MoHCl č. š. 254909 z r. 1949

pH = 3,98; intenzita sfarbenia: D = 82,3

látka č. 6: 2% injekcia MoHCl cudzieho pôvodu z r. 1944

pH = 3,91; intenzita sfarbenia: D = 49,2

látka č. 7: oxydimorfin (štandard)



Obr. 2. Chromatogram Mo v19.

Rozpustidlová zmes II: detegované Dragendorfovým činidlom, chromatografované v zrovnávanom stupni spôsobom

látka č. 1: 2% injekcia MoHCl č. š. 351053 z r. 1953
pH = 2,3; intenzita sfarbenia: D = 98

látka č. 2: 2% injekcia MoHCl č. š. 571252 z r. 1952
pH = 2,45; intenzita sfarbenia: D = 98

látka č. 3: 2% injekcia MoHCl č. š. 711251 z r. 1951
pH = 2,34; intenzita sfarbenia: D = 98

látka č. 4: 2% injekcia MoHCl č. š. 015002 z r. 1950
pH = 3,69; intenzita sfarbenia: D = 66, 6

látka č. 5: 1% injekcia MoHCl č. š. 294910 z r. 1949
pH = 3,95; intenzita sfarbenia: D = 84,9

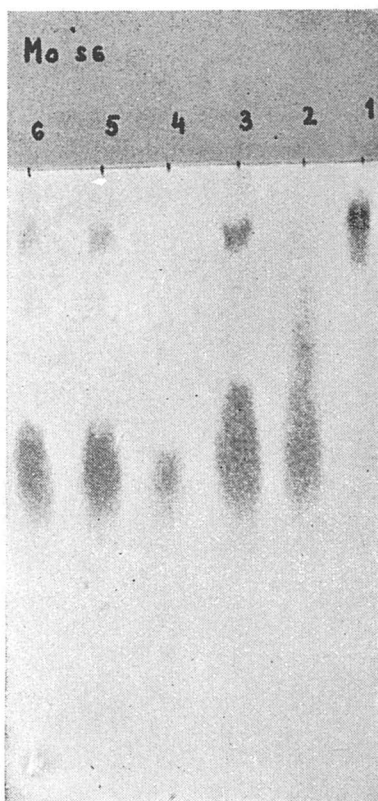
látka č. 6: 1% injekcia MoHCl (cudzíeho pôvodu) asi z r. 1943
pH = 3,09; intenzita sfarbenia: D = 90

látka č. 7: 2% injekcia MoHCl (cudzíeho pôvodu) z r. 1944
pH = 3,91; intenzita sfarbenia: D = 49,2

látka č. 8: 50 μ g oxydimorfinhydrochloridu (štandard)

látka č. 9: 60 μ g MoHCl (štandard)

látka č. 10: 20 μ g oxydimorfinhydrochloridu (štandard)



Obr. 3. Chromatogram Mo s6.

Rozpustidlová zmes II: zostupný spôsob chromatografie, degetované Dragendorfovým činidlom

látka č. 1: oxydimorfinhydrochlorid (štandard)

látka č. 2: 1,6% injekcia morfinsulfátu (cudzieho pôvodu)

č. š. 3A 163C z r. 1943

pH = 2,9; intenzita sfarbenia: D = 96

látka č. 3: 2% injekcia MoHCl (cudzieho pôvodu) z r. 1944

pH = 3,91; intenzita sfarbenia: D = 49,2

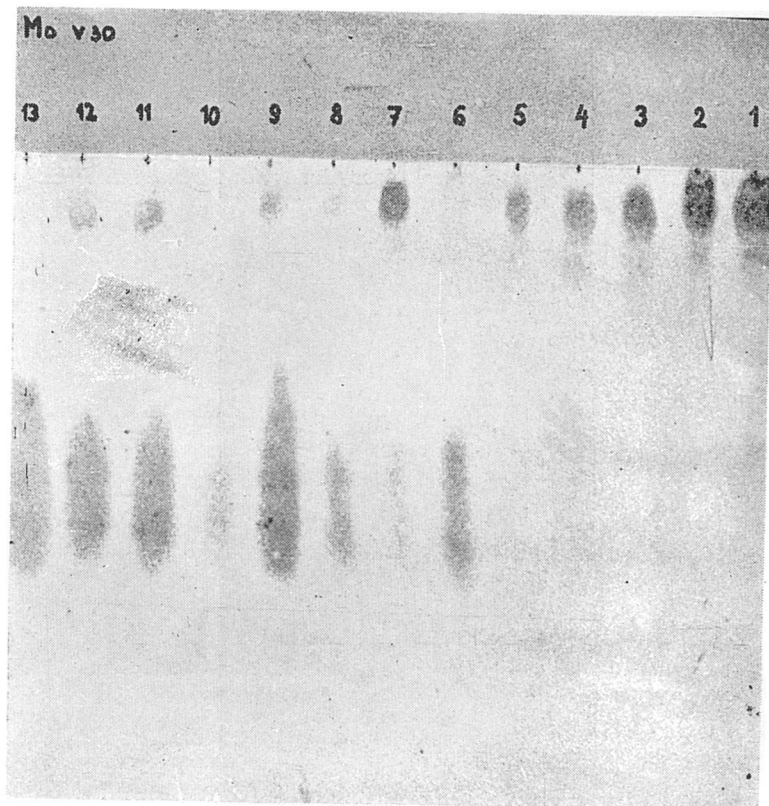
látka č. 4: MoHCl (štandard)

látka č. 5: 2% injekcia MoHCl č. š. 104909 z r. 1949

pH = 3,7; intenzita sfarbenia: D = 71,3

látka č. 6: 2% injekcia MoHCl č. š. 274909 z r. 1949

pH = 3,85; intenzita sfarbenia: D = 69,2



Obr. 4. Chromatogram Mo v30.

Rozpustidlová zmes II: vzostupný spôsob, detegované Dragendorfovým činidlom

látka č. 1: 100 μg oxydimorfinhydrochloridu (štandard)

látka č. 2: 50 μg oxydimorfinhydrochloridu (štandard)

látka č. 3: 25 μg oxydimorfinhydrochloridu (štandard)

látka č. 4: 12,5 μg oxydimorfinhydrochloridu (štandard)

látka č. 5: 6,25 μg oxydimorfinhydrochloridu (štandard)

látka č. 6: MoHCl (technický z výroby)

látka č. 7: umele pripravená zmes oxydimorfinu a morfinu

látka č. 8: biele kryštály po odparení injekcie MoHCl,
mechanicky oddelené od žltých kryštálikov

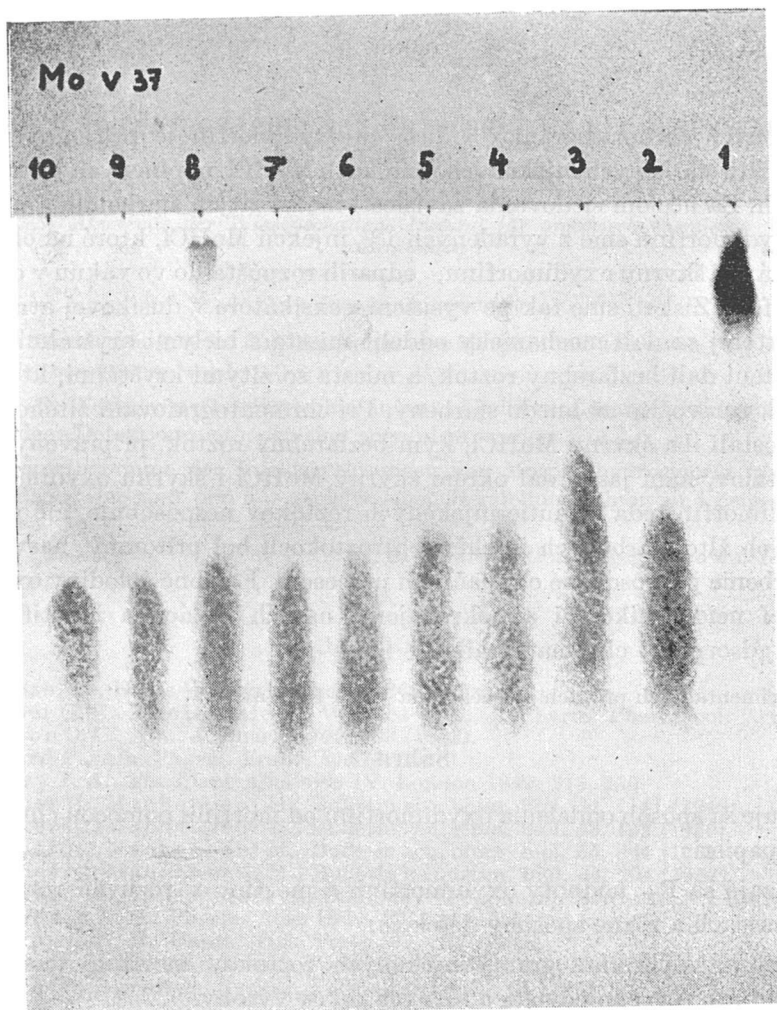
látka č. 9: injekcia obsahujúca 1% MoHCl a 0,03% skopolamínhydrobromidu
(cudzieho pôvodu) z r. 1943

látka č. 10: MoHCl (štandard)

látka č. 11: 1% injekcia MoHCl (cudzieho pôvodu) z r. 1945
pH = 3,09; intenzita sfarbenia: D = 84,9

látka č. 12: 1% injekcia MoHCl č. š. 294910 z r. 1949
pH = 3,95; intenzita sfarbenia: D = 84,0

látka č. 13: 2% injekcia MoHCl č. š. 300751 z r. 1951
pH = 2,35; intenzita sfarbenia: D = 98



Obr. 5. Chromatogram Mo v37.

Rozpustidlová zmes II: spôsob vzostupný, degetované Dragendorfovým činidlom

látka č. 1: 50 μg oxydimorfinhydrochloridu (štandard)

látka č. 2: 100 μg MoHCl (štandard)

látka č. 3: 100 μg morfínsulfátu (štandard)

látka č. 4: 1% MoHCl, sterilizovaný 12 hodín pri 120 °C

v autokláve za prítomnosti vzduchu: D = 31,8

látka č. 5: 1% MoHCl, sterilizovaný 12 hodín pri 120 °C v autokláve, plnený pod dusíkom: D = 91,3

látka č. 6: 1% MoHCl v kremennej ampulke, sterilizovaný za prítomnosti vzduchu 12 hodín pri 120 °C v autokláve: D = 43,4

látka č. 7: 1% MoHCl v kremennej ampulke, plnený pod dusíkom, sterilizovaný 12 hodín pri 120 °C v autokláve: D = 75,2

látka č. 8: morfínsulfát v kremennej ampulke za prítomnosti vzduchu, sterilizovaný 12 hodín pri 120 °C: D = 43

látka č. 9: morfínsulfát v kremennej ampulke, plnený pod dusíkom, sterilizovaný 12 hodín pri 120 °C v autokláve: D = 87

látka č. 10: morfínsulfát v sklenej ampulke za prítomnosti vzduchu, sterilizovaný 12 hodín pri 120 °C v autokláve: D = 43

Z uvedených chromatogramov vidieť, že oxydimorfín je prítomný jedine v starších žltó sfarbených injekčných roztokoch MoHCl, naplnených v sklených ampulkách. Za účelom sledovania závislosti medzi žltým sfarbením a prítomnosťou oxydimorfínu sme z vyradených 1% injekcií MoHCl, ktoré na chromatograme dávali škvrnu oxydimorfínu, odparili rozpúšťadlo vo vákuu v dusíkovej atmosfére. Získali sme tak po vysušení v exsíkátore v dusíkovej atmosfére látku, v ktorej sa dali mechanicky oddeliť miesta s bielymi kryštálmi, ktoré po rozpustení dali bezfarebný roztok, a miesta so žltými kryštálmi, ktoré dávali roztok tmavožltó až hnedo sfarbený. Pri chromatografovaní žltého roztoku sme dostali iba škvrny MoHCl, kým bezfarebný roztok, pripravený z bielych kryštálov, nám jasne dal okrem škvrny MoHCl i škvrnu oxydimorfínu. Sám oxydimorfín teda žltnutie injekčných roztokov nespôsobuje, ale pretože vo všetkých žltó sfarbených injekčných roztokoch bol prítomný, nasvedčuje to, že sfarbenie je spôsobené oxydačným procesom. Farebné splodiny oxydácie sme zatiaľ neidentifikovali a pokračujeme na ich izolácii a identifikovaní pomocou adsorpčnej chromatografie.

Na experimentálnych prácach sa zúčastnila Viera Fumáčová.

Сúhrn

1. Opisuje sa spôsob oddelenia oxydimorfínu od morfínu pomocou chromatografie na papieri;
2. uvádzajú sa R_F hodnoty oxydimorfínu a morfínu v rôznych rozpúšťadlových zmesiach a rôzne spôsoby detekcie;
3. pripojujú sa chromatogramy injekčných roztokov morfinhydrochloridu a morfínsulfátu rôzneho pôvodu a rôznych rokov výroby.

ХРОМАТОГРАФИЯ НА БУМАГЕ ОКСИДИМОРФИНА РЯДОМ С МОРФИНОМ

О. МАРКОВИЧ, Л. МОЛНАР, И. ТОМКО

Словацкая академия наук, Институт химической технологии органических соединений, Братислава

Выводы

1. Описывается способ отделения оксидиморфина от морфина путем chromatографии на бумаге.
2. Приведены величины, R_F оксидиморфина в различных смесях растворителей и разные способы открытия.
3. Приложены chromatограммы растворов инъекций морфингидрохлорида и морфинсульфата разного происхождения и разных лет производства.

Получено в редакции 18-го июня 1954 г.

PAPIERCHROMATOGRAPHIE VON OXYDIMORPHIN BEI GEGENWART VON MORPHIN

O. MARKOVIČ, L. MOLNÁR, J. TOMKO

Slowakische Akademie der Wissenschaften, Institut für organisch chemische Technologie, Bratislava

Zusammenfassung

1. Ein Trennverfahren für Oxydimorphin und Morphin mit Hilfe von Papierchromatographie ist beschrieben worden.

2. Die R_f -Werte von Oxydimorphin in verschiedenen Lösungsmittelgemischen und verschiedene Detektionsmethoden sind angegeben worden.

3. Chromatogramme der Injektionslösungen von Morphinhydrochlorid und -sulphat verschiedener Herkunft und aus verschiedenen Herstellungsjahren sind beigegeben worden.

In die Redaktion eingegangen am 18. VI. 1945

LITERATÚRA

1. Dietzel R., Huss W., Arch. Pharm. 266, 641 (1921).
2. Foster G. E., MacDonald J., Whitet T. D., J. Pharm. Pharmacol. 2, 673 (1950).
3. Fulton C. C., Ann. J. Pharm. 105, 503 (1933).
4. Girard P., Am. Pharm. Franc. 8, 571 (1950).
5. Henry T. A., The Plant Alkaloids IV, London 1949, 215, 255.
6. Munier R., Macheboeuf M., Bulletin soc. chim. biol. 31, 1141 (1949).
7. Munier R., Macheboeuf M., Bulletin soc. chim. biol. 32, 192 (1950).
8. Munier R., Macheboeuf M., Bulletin soc. chim. biol. 33, 864 (1951).
9. Munier R., Macheboeuf M., Bulletin soc. chim. biol. 34, 204 (1952).
10. Mesnard P., Boussemart E., Bull. trav. soc. pharm. Bordeaux 88, 175 (1951).
11. Svendsen A. B., Pharm. Acta Helv. 26, 323 (1951).
12. Svendsen A. B., Dansk. Tids. Farm. 26, 125 (1952).
13. Thorn N., Ågren H., Svensk Farm. Tidskr. 53, 17 (1949).
14. Thorn N., Ågren A., Svensk. Farm. Tidskr. 55, 61 (1951).

Došlo do redakcie 18. VI. 1954