

## A morfin polarográfiás meghatározása

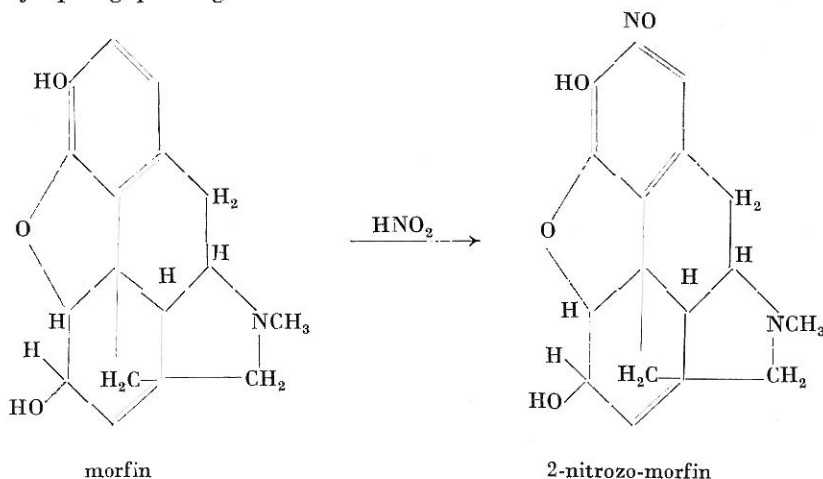
JÁMBOR BÉLA

Magyar Tudományos Akadémia Elektronmikroszkópiai Laboratóriuma, Budapest

Gyógyszeriparunknak egyik fontos ága a mák alkaloidáinak, elsősorban a morfinnak előállítás. A nálunk már régen folyó gyártás további tökéletesítése, valamint a nagy morfintartalmú mákfajták nemesítés útján való előállítása kapcsán felmerült egy megbízható és gyors morfinmeghatározási módszer szükség. Egyrészt a Gyógyszeripari Kutató Intézet, másrészt a Mezőgazdasági Kísérleti Központ felkérésére vizsgálat alá vettem a kérdést, hogy a szakirodalomban található-e megfelelő módszer és az a gyakorlatban hogyan válik be.

A morfintartalom meghatározása többféle alapelv szerint is történhet (titrálás, fotometráls, polarográfiás meghatározás, stb.). A gyorsaság, egyszerűség és megbízhatóság követelményének leginkább a polarográfiás módszer látszott megfelelni s ezért vizsgálataimat ebben az irányban folytattam.

A morfin polarográfiás meghatározását *Rasmussen* (3) dolgozta ki és lényegileg ugyanúgy írja le a módszert *Nosek* és *Krestynová* is (2). A módszer lényege az, hogy a morfin sósavas közegben nitrítel reagálva 2-nitrozo-morfinná alakul, ennek káliumsója pedig polarografálható.



*Rasmussen* közleményében kimutatja, hogy a társalkaloidák a meghatározást nem zavarják: részint azért nem, mert más vegyi szerkezetük folytán nitrítel nem adnak nitrozo-vegyületet, részint pedig elenyészően csekély mennyiségük miatt nem befolyásolják a morfinra kapott értéket (laudanidin, kodamin). Ki-

mutatja továbbá azt is, hogy a kapott polarografiás hullám magassága egyenes arányban áll a morfin mennyiségével és metodikai kísérletek alapján közli az ajánlott módszert:

Az 5—100 mg% morfint tartalmazó n-HCl-es vizsgálandó oldat 5 ml-éhez 2 ml mólos  $\text{KNO}_2$  oldatot adunk, felrúzzuk és pontosan 5 percig állni hagyjuk. Azután 3 ml 20%-os KOH-val meglúgosítjuk, hozzáadunk még 1 ml 2%-os metilcellulóz (tilóz) oldatot és  $\text{O}_2$ -mentes  $\text{N}_2$  átáramoltatása után polarografáljuk.

A morfinnak növényi részekből való kivonására Rasmussen több módszert közöl, leginkább azonban a következőt ajánlja: 10 g finoman porított anyagot 5 ml etánollal megnedvesítünk és fél óra múlva hozzáadunk 5 ml  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  oldatot (35 g  $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$ -t 100 ml-re oldva). Újabb fél óra múlva ebből 1 g drognak megfelelő mennyiséget 5 ml vízzel felhígítunk és pH-ját üvegelektóddal mérjük. Ezután újra egyesítjük a két keveréket és 8 óra hosszat 60 ml forró  $\text{CHCl}_3$ -al extraháljuk. Azután a kloroformot ledesztilláljuk, a maradékot 25 ml n-HCl-el 15 percig vízfürdőn melegítjük és 50 ml-es mérőlombikba átmoszuk n-HCl-el, majd ugyancsak n-HCl-el jelig töltjük. E törzsoldat 5 ml-ét (= 1 g drog) polarografáljuk a szokásos módon.

Az idézett közlemény nem tér ki a polarografálás kivitelének néhány részletére, ezért, továbbá, hogy a módszer megbízhatóságát a mi polarografunkkal dolgozva is ellenőrizhessük, (Rasmussen dán gyártmányú »Radiometert« használt) az alábbi kísérleteket végeztem.

### Kísérleti rész

1. A használt vegyszerek és készülékek:

a) kristályos morfinhidroklorid. Ph. Hung. IV.

n-HCl puriss.

mólos  $\text{NaNO}_2$  puriss.

20%-os KOH puriss.

2%-os metilcellulóz.

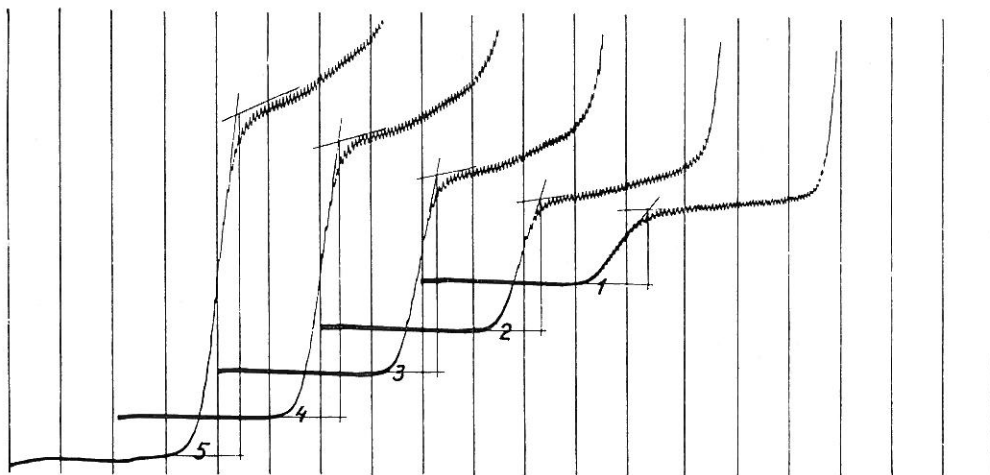
tisztított és desztillált Hg, »Hungária Vegyiművek«  
palackos  $\text{N}_2$ -gáz, »Hydroxigén«

b) Heyrovsky féle V 301 típusú, Zbrojovka, Brno gyártmányú polarográf.  
Pulfrich-féle fotométer.

2. Tiszta morfinoldat polarográfus vizsgálata.

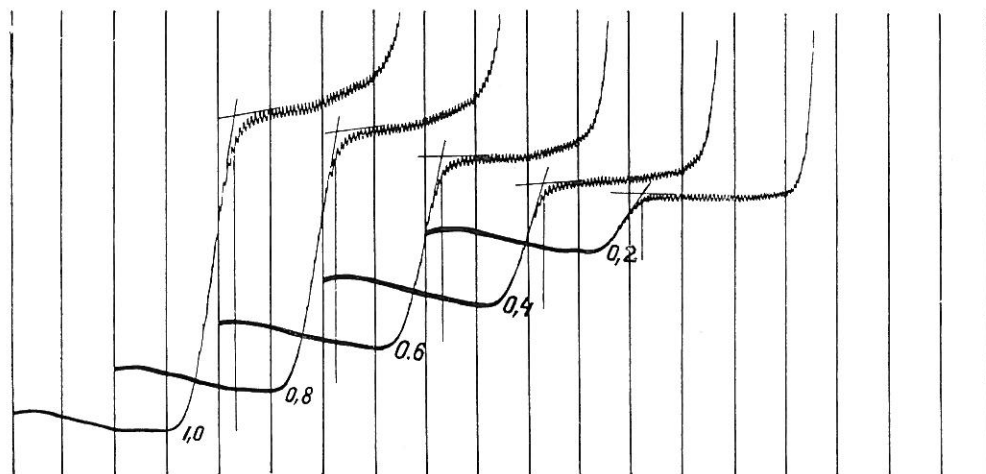
A vizsgálathoz használt morfintörzsoldat úgy készült, hogy 100 mg morfinhidrokloridot feloldottam 100 ml n-HCl-ben. Ebből 1—5 mg-nek megfelelő mennyiséget n-HCl-el 5 ml-re egészítettem ki és a bevezetésben ismertett módszer szerint eljárva felvettem az 1—5 mg morfinhidroklorid polarogramját. (1. ábra, 1—5. görbe).

A 2. ábra polarogramm sorozata úgy készült, hogy fenti törzsoldatot ötszörösére hígítottam n-HCl-el, így ennek 1 ml-e 0,2 mg morfinhidrokloridnak felel meg. Ebből a II. törzsoldatból szintén 1—5 ml-t mértem be és fentiek szerint eljárva polarografáltam. A 2. ábra görbéi tehát 0,2—1 mg morfinhidrokloridnak felelnek meg.



1. ábra.

1—5 mg morfinhidroklorid polarogrammja. Érz. 1/70, 4 V akku.



2. ábra.

0.2—1 mg morfinhidroklorid polarogrammja. PÉrz. 1/15 4 V akku.

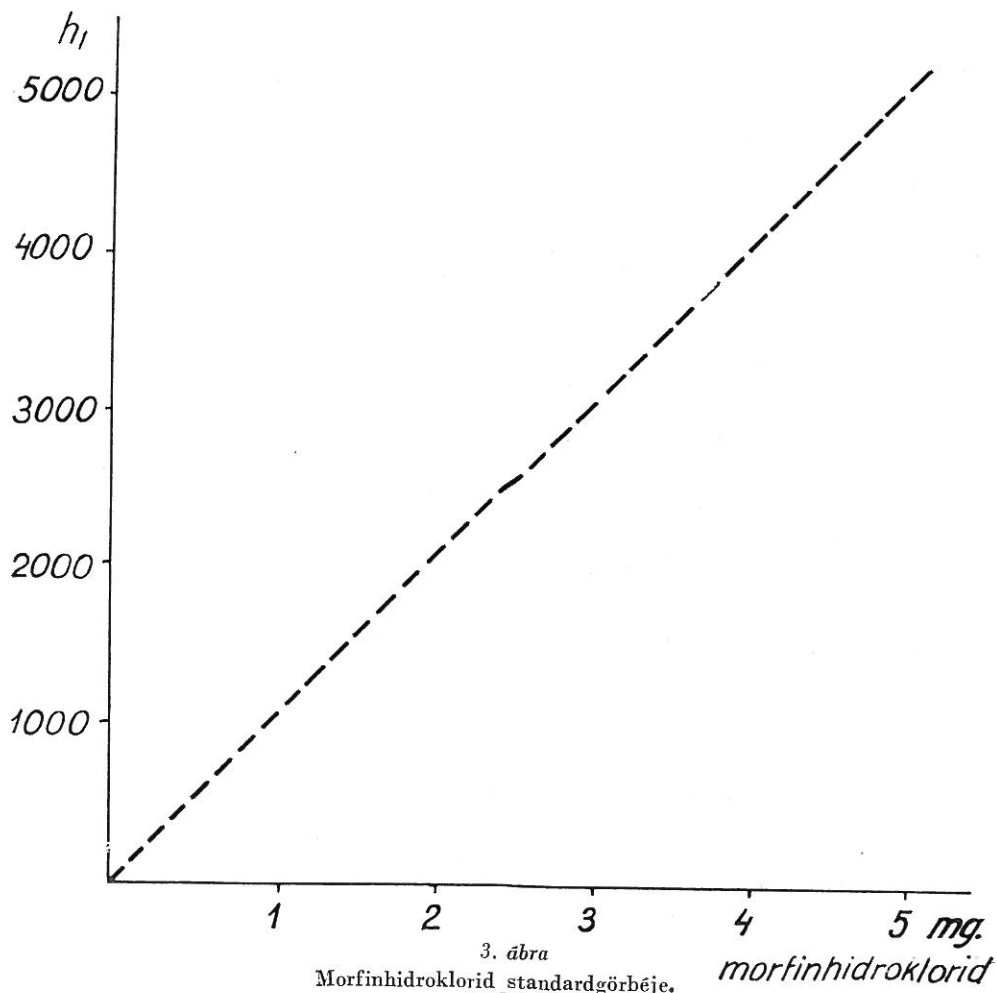
E felvételek kapcsán nyert tapasztalatok szerint a csepegő higanyelektród csepegési ideje nincs észrevehető befolyással az eredményre, ha általában 3 mp. körüli csepegési idővel dolgozunk. A galvanométer érzékenysége az 1. ábrán közölt sorozat esetén 1/70, a 2. ábrán közölnél 1/15 értékre volt beállítva. A nitrogén átáramoltatását általában 10 percig végeztük. 5 percnél rövidebb átáramoltatás esetén a kapott polarogramm első szakaszában az oldott oxigén miatt rendellenességek mutatkoztak. Ha az elektrolizáló cellára az oldatban levő alkáli vegyületek bomlási feszültségénél magasabb feszültséget adtunk, (ha pl. a hengert végigjártjuk 4 volt akkufeszültség mellett) a polarogramm felvételének esetleges

megismétlésekor kapott görbe lefutása lényegesen eltér a szabályostól. Ez sem  $N_2$  bevezetésével, sem az oldat megkeverésével nem szüntethető meg teljesen. Ilyenkor tehát új oldatot kell bemérni. E jelenség oka az lehet, hogy a magasabb feszültségen megindult elektrolíziskor keletkezett anyagok az oldat összetételét megváltoztatták.

Ha a csepegőelektród kapillárisa eldugul, igen jól bevált az a módszer, hogy a gumidugóba helyezett kapillárist szívópalackba téve, a higanytartóedényt magasra emelve, megszívjuk. Ez esetben ugyanis a kb. 1 atm. külső légköri nyomáson kívül a higany nyomása is hozzáadódik a kapillárist eltömő részecskére ható nyomáshoz és ez rendszerint elegendő volt ahhoz, hogy a kapilláris kitisztuljon.

### 3. A polarogramok kiértékelése, alapgörbe felvétele.

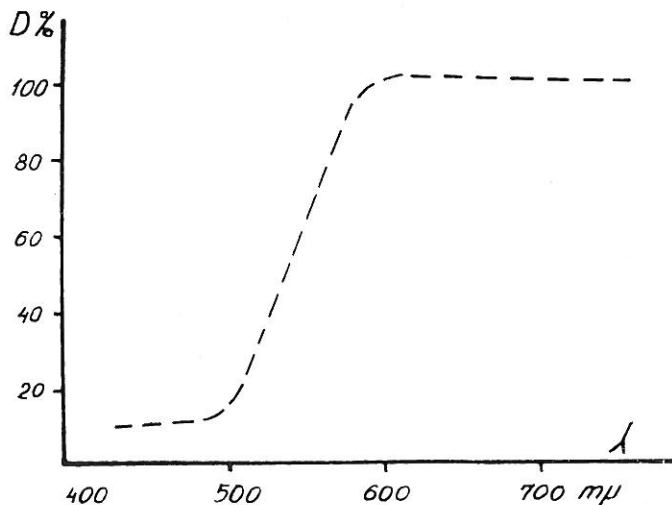
Az 1. és 2. ábra görbéin a morfinmennyiség okozta hullám magasságának kiértékelése Heyrovský (1) »3 tangens«-módszerével történt: a görbe kezdeti vízszintes középső emelkedő és az azt követő közel vízszintes részéhez húzott érintők



metszéspontjai közötti távolságok függőleges vetülete adja a keresett magasságot. Az így kapott, mm-ben mért magasságokat megszorozva a galvanométer érzékenységének reciprok értékével (az első ábra görbéi esetében, minthogy azok  $1/70$  érzékenység mellett készültek, 70-el, a második ábra görbéinél ugyanezen módon, de 15-el), megkapjuk a különböző morfinmennyiségeknek megfelelő  $h_1$  értékeket: a söntötlen, azaz teljes (1/1) érzékenységű galvanométerrel ennyi mm hullám-magasság adódnék. Így tehát lehetővé válik a különböző galvanométer érzékenységek mellett felvett görbék összehasonlítása. A bemért morfinhidroklorid mennyiségek és a megfelelő  $h_1$  értékek összefüggését a 3. ábra mutatja. Látjuk ebből, hogy az összefüggés a vizsgált határok közt egyenesarányú. A  $h_1$  értékek természetesen minden galvanométerre nézve mások és a galvanométer teljes érzékenységének abszolút nagyságától függenek. ( $m A/\alpha$ ). Nyilvánvaló az is, hogy a tükör távolsága a polarografáló hengertől szintén befolyásolja a galvanométer kilengésének értékét a polarogrammon.

#### 4. Fotometriás vizsgálatok.

Összehasonlításképpen a 0,2—5 mg morfinhidroklorid polarografiához való előkészítése során keletkezett barna oldatait (2-nitrozo-morfin K-sója) fotometriásan is megvizsgáltam. Először is megmértem az 1 mg morfinból a nitrit, KOH és tilóz hozzáadásával keletkezett barna oldat extinkcióját a Pulfrich-fotométer különböző



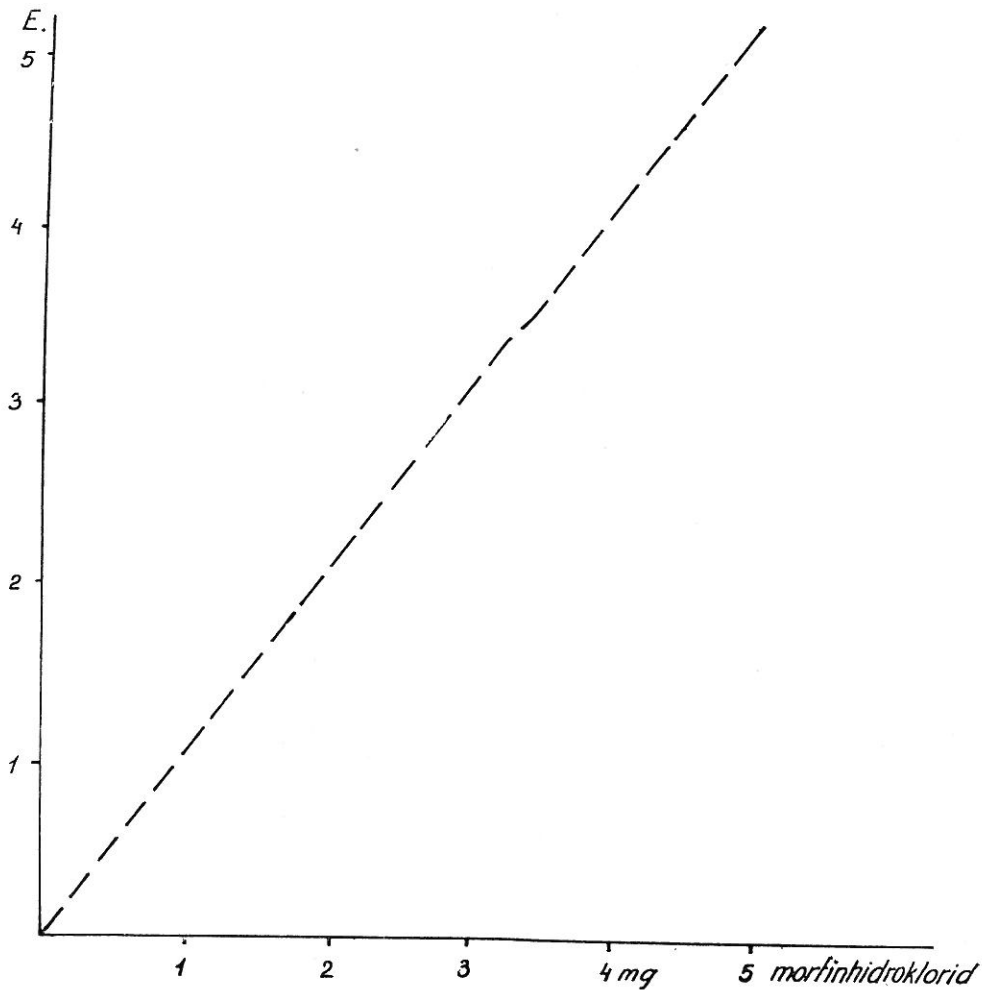
4. ábra

2 nitrozomorfin fényátbocsátása különböző hullámhosszuságú színszűrőkkel nézve Pulfrich fotométeren. Bemérés 1 mg morfinhidroklorid, 2 cm kűvetta

hullámhosszuságú szűrőivel. A fényátbocsátásra átszámított értékeket a 4. ábra mutatja. Láthatjuk ebből, hogy az oldatnak a spektrum látható részében jellemző maximuma nincs s így fotometriás mérésre nem annyira alkalmas, mint az éles maximumot mutató oldatok.

A 0,2—5 mg morfinhidrokloridból előállított sorozat extinkcióját S 47-es szűrővel megmérve, a kapott értékeket az 5. ábra mutatja. Az értékek 2 cm.

rétegvastagságú küvettára vannak számolva. Egy mg alatti mennyiségeknél ezt használtuk, 1—5 mg morfin esetében azonban a 2 cm-es küvettával kapott magas extinkciókat a látótér sötét volta miatt meghatározni nem lehetett, ezért ezeket 0,5 cm-es küvettában mértem. Az 5. ábrából láthatólag 0,2 mg morfinhidroklorid extinkciója még jól leolvasható (kb. 0,2). Ennél kisebb mennyiségekre ez a fotometriás módszer már nem érzékeny, mert a 0,2 extinkció érték alatt, különösen az S 47. kék szűrővel a leolvasás nagyon bizonytalan. Gyakorlatilag 0,2—5 mg közti morfinmennyiségek mérése fordul elő leginkább: ebből a szempontból tehát a fotometriás módszer érzékenysége is megfelelő volna. Hogy gyakorlati célra mégis a kissé körülményesebb polarografiás módszert választottuk, annak oka elsősorban az, hogy növényi anyagokból történő morfinmeghatározás esetén a kapott oldat saját színe kb. ugyanolyan barna árnyalatú szokott lenni, mint a



5. ábra

2 nitrozomorfin extinkciós alapgörbéje, 2 cm küvettára számolva

2-nitrozo-morfiné. Az oldat saját színének intenzitása pedig gyakran sokszorosán felülmúlja a 2-nitrozo-morfinét s így a saját szín okozta nagy extinkció-érték kompenzálásának hibája a morfin okozta extinkcióérték megállapítását hatványozott mértékben bizonytalanná teheti.

5. Morfinmeghatározás ópiumból.

A polarográfiás módszer biológiai anyagban való használhatóságának vizsgálata céljából meghatároztam 2-féle ópiumkivonat morfintartalmát, továbbá a hozzájuk adott 4—4 mg morfinnal együtt is elvégeztem a meghatározást.

Az I. oldat úgy készült, hogy 12 g ópiumot vízzel, majd 1%-os HCl-el digeráltuk; 10 g ópiumnak megfelelő alikvot részt 3 óra hosszat perkolátorban  $\text{CHCl}_3$ -al kivonjuk; (így kivonódik a tebain, narkotin és papaverin.). A visszamaradó HCl-es részt 10 ml 20%-os NaOH-al lúgosítjuk és perkolátoron újból kivonjuk.  $\text{CHCl}_3$ -mal. (Így a kodein is kivonódik.) Az első oldatban tehát a morfin a társalkaloidáktól el van választva.

A II. oldat készítmódja: 12 gr ópiumot 15 ml vízzel péppé dörzsölünk, éjszakán át állni hagyjuk. 110 ml 1%-os HCl-t adunk hozzá (kongóra maradandó reakció). Néhány órai állás után 1%-os HCl-lel 147 g-ra egészítjük ki, majd jól összekeverjük és szűrjük. A második oldatban tehát az ópium összes alkaloidái benne vannak.

A polarográfiás vizsgálat előtt mind az I., mind a II. oldatot HCl-re nézve normállá kellett tenuünk.

Az I. oldat 125-ml volt, hozzáadtunk 20,5 ml cc HCl-t;

a II. oldat 15-ml volt, hozzáadtunk 2,0 ml cc HCl-t.

A 6. és 7. ábra az I. és II. (sósavval megnövelt) oldat egy-egy ml-ének 4 ml normál HCl hozzáadása után a leírt módon felvett polarogramját mutatja, 1/200 galvanométer érzékenység mellett. Az I. a. és II. a. görbék ugyanígy készültek, csak 4 mg morfin-hidrokloridot is adtunk hozzá.

A közölt polarogramok kiértékelési adatait az 1. táblázat közli. Amint a táblázatból látható, az I. és II. oldathoz adott morfin-hidrokloridból a meghatározáskor »visszakaptunk« 90%-ot I. a., ill. 102,5%-ot (II. a).

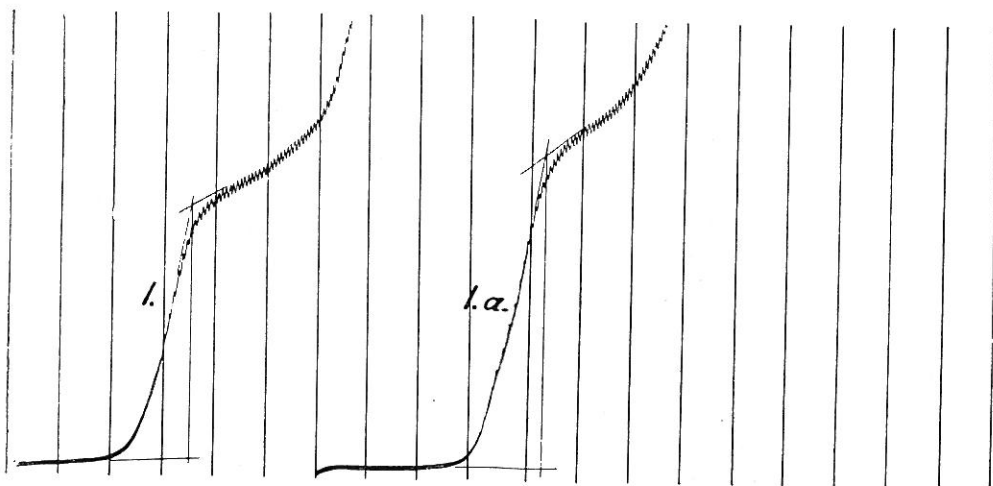
1. táblázat

Morfinmeghatározás ópiumkivonatokból

A vizsgált anyag		$h_i$ m $\mu$ m	mg morfin hidro- klorid	Ópiumra számított morfin- tartalom % * %	A hozzá adott morfinból meghatározva %
Jele	Megnevezése és mennyisége				
I.	70 mg ópiumból készült I. oldat ....	10800	10,4	11	—
I. a	70 mg ópiumból készült I. oldat + 4 mg morfinhidroklorid.....	14600	14,0	—	90
II.	70 mg ópiumból készült II. oldat ....	13400	12,9	13	—
II. a	70 mg ópiumból készült II. oldat + 4 mg morfinhidroklorid.....	17600	17,0	—	102,5

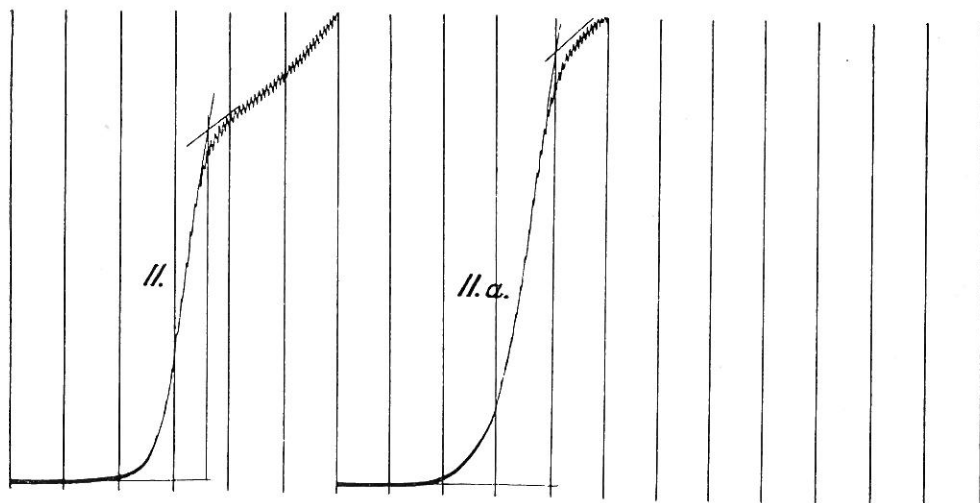
\* Anhidro-morfinban kifejezve.

Megjegyzendő még, hogy mindkét vizsgált oldat még ötszörösére hígítva is olyan sötét barna színű volt, hogy a 2-nitrozo-morfin okozta további barnulás alig volt észrevehető. Ezeket az oldatokat fotometráltni tehát illuzórikus lenne.



6. ábra

I. opiumoldat polarogramja, 4 mg hozzáadott morfinhidrokloriddal (I.a) és anélkül (I.) Érz. 1/200



7. ábra

II. opiumoldat polarogramja a, 4 mg hozzáadott morfinhidrokloriddal (II. a.) és a nélkül (II.) Érz. 1/200



### Az eredmények megbeszélése

Közölt vizsgálati adatainkból láthatjuk, hogy a morfin meghatározása mind tiszta oldatban, mind pedig igen heterogén összetételű ópiumkivonatban polarográfiásan megbízhatóan végezhető. Sorozatos vizsgálatokból az elkészített kivonathoz a meghatározás kb. 5—10 percet vesz igénybe, a munka helyes beosztásától, megszervezésétől függően. Rutinvizsgálatoknál pl. ajánlatos két csepegő-elektrodát felállítani s míg az egyikkel folyik a polarográfiás felvétel, addig a másikban végezhetjük a  $N_2$ -átáramoltatást. Így a polarográf megszakítás nélkül üzemben lehet. Jól megszervezett munkával 1 ember napi 8 óra alatt kapkodás nélkül kb. 50 meghatározást tud elvégezni. Ha növényből történik a meghatározás, akkor fenti időkhöz természetesen hozzájön a megfelelő kivonási műveletek munkája. Ez utóbbiak azonban bármely más meghatározási módszernél is fennállnak, mégpedig fokozott mértékben, mivel a polarográfiás eljárás kisebb mértékű elkülönítés mellett is használható. (Sem a »saját szín« sem a társalkaloidák nem zavarnak.) Tapasztalatunk szerint maga a készülék is üzembiztos, különösebb ápolást nem igényel s így a közölt módszer mind növénynevelési, mind gyártási, mind pedig kutatási munkák kapcsán igen jól használhatónak tekinthető.

### Összefoglalás

Vizsgálat alá vettem *Rasmussen* polarográfiás morfinmeghatározási módszerét, annak megbízhatósága, gyakorlati használhatósága szempontjából és azt minden tekintetben kielégítőnek találtam.

Közlök még néhány fogást a módszer tökéletesítésére.

Érkezett, 1951. július 1-én.

### Irodalom

1. *Heyrovsky I.*: »Polarographisches Praktikum«, Springer, Berlin, pp 118. 1948.
2. *Nosek I. & Krestynová, O.*: Cas. Cesk. Lék. 1950, 3—4. Tud. mell.
3. *Rasmussen, H. B.*: Bul. Sed. Iust. Pharm. 233. 1947.

### ПОЛЯРОГРАФИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ МОРФИНА.

Бейла Ямбор.

Электрон-микроскопическая Лаборатория Венгерской Академии Наук, Будапешт.

### Выводы.

Нами проверен метод полярографического определения морфина по Расмуссену с точки зрения его надежности и практической применимости. Обнаружено, что данный метод удовлетворяет всем требованиям.

### ОБЪЯСНЕНИЯ К РИСУНКАМ И ТАБЛИЦАМ

Рисунок 1. Полярограмма 1—5 мг кислого хлористого морфина. Чувствительность  $1/70$ ; аккумулятор 4 В.

Рисунок 2. Полярограмма 0,2—1 мл кислого хлористого морфина. Чувствительность  $1/15$ ; аккумулятор 4 В.

Рисунок 3. Стандартная кривая кислого хлористого морфина.

Рисунок 4. Светопропускаемость 2-нитрозо-морфина при измерении цветофильтром с различной длиной волны на фотометре Пульфриха. Навеска: 1 мг кислого хлористого морфина, кюветта в 2 см.

Рисунок 5. Экстинкционная основная кривая 2-нитрозо-морфина в пересчете на 2 см-ю кюветту.

Рисунок 6. Полярограмма раствора опия: с добавлением 4 мг кислого хлористого морфина (I. а); и без него (I.). Чувствительность: 1/200.

Рисунок 7. Полярограмма раствора опия: с добавлением 4 мг кислого хлористого морфина (II. а.) — и без него (II.). Чувствительность: 1/200.

Таблица 1. Определение морфина из растворов опия.

## Polarographische Bestimmung des Morphins

B. JÁMBOR

Elektronmikroskopisches Laboratorium der Ungarischen Akademie  
der Wissenschaften, Budapest.

### Zusammenfassung

Den, zur Prüfung der von *Rasmussen* veröffentlichten polarographischen Morphin-Bestimmungsmethode ausgeführten Versuchen gemäss erwies sich die Methode als praktisch brauchbar. Es werden auch einige Kniffe zur Vervollkommung der Methode mitgeteilt.

#### Erklärung der Abbildungen u. der Tabelle.

- Abb. 1. Polarogramm von 1—5 mg Morphinhydrochlorid. Empf. 1/70, Akku. 4 V.  
 Abb. 2. Polarogramm von 0,2—1 mg Morphinhydrochlorid. Empf. 1/15, Akku. 4 V.  
 Abb. 3. Eichkurve von Morphinhydrochlorid.  
 Abb. 4. Durchlässigkeit von 2-Nitroso-Morphin, gemessen im Pulfrich-Photometer mit verschiedenen Filtern. Eingewogen 1 mg Morphinhydrochlorid. 2 cm Küvette.  
 Abb. 5. Extinktionskurve von 2-Nitroso-Morphin, umgerechnet auf 2 cm Küvette.  
 Abb. 6. Polarogramm der Opium-Lösung Nr. 1. ohne (I.) und mit (I. a) zugegebenem 4 mg Morphinhydrochlorid Empf. 1/200, Akku. 4. V.  
 Abb. 7. Wie Abb. 6., mit Opiumlösung Nr. II.  
 Tab. 1. Morphinbestimmungen aus Opiumlösungen.