

CHROM. 7837

Note

Dünnschichtchromatographischer Grenzkonzentrationstest auf 2,2'-Dehydromorphin (Pseudomorphin) in Morphinampullen

H. HAMMERSTINGL und G. REICH

Institut für Wehrpharmazie und Lebensmittelchemie, München (B.R.D.)

(Eingegangen am 9. Mai 1974; geänderte Fassung eingegangen am 5. August 1974)

EINLEITUNG

Pseudomorphin ist in kleinen Mengen aus dem Rohopium isolierbar und lässt sich verhältnismässig einfach aus Morphin durch Oxydation in schwach alkalischer Lösung mit Kaliumperoxydisulfat synthetisieren¹. Pseudomorphin bildet sich aber auch in morphinhaltigen Injektionslösungen, wenn diese nicht genügend oxydationsgeschützt sind, bereits bei der Sterilisation oder aber nach mehrjähriger Lagerung². Da dieses Dimerisationsprodukt nicht nur analgetisch unwirksam ist^{3,4}, sondern sogar als toxisch gilt⁵, ist seine einfache, schnelle und vor allem spezifische Erkennung von grosser Wichtigkeit. Durch stichprobenartige Untersuchungen muss es möglich sein, unbrauchbar gewordene Chargen zu erfassen und auszusondern. Dies ist hauptsächlich für grosse Arzneimitteldepots und Krankenhäuser von Bedeutung.

In der Literatur findet sich eine grosse Anzahl von Arbeiten, die sich mit der Entstehung^{6–9} der Konstitutionsaufklärung^{10–12} und dem Nachweis^{11,13–16} von Pseudomorphin befassen. Alle zitierten papierchromatographischen und dünnschichtchromatographischen (DC) Methoden haben den Nachteil, dass sie entweder bei der Detektion das Pseudomorphin nicht spezifisch als solches zweifelsfrei erkennen lassen oder mit Modellösungen durchgeführt wurden und nicht an handelsüblichen, gelagerten Injektionslösungen, bei denen, je nach Rezeptur der verschiedenen Hersteller, zusätzlich andere, Pseudomorphin vortäuschende Substanzen enthalten sind oder während der Lagerung entstehen.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, ein Verfahren zu finden, das es ermöglicht, neben anderen Komponenten in handelsüblichen Morphinampullen Pseudomorphin spezifisch nachzuweisen. Hierbei sollte auf eine für einfach ausgestattete Laboratorien undurchführbare quantitative Bestimmungsmethode^{17–19} verzichtet werden. Als geeignetes Verfahren bietet sich ein DC Grenzkonzentrationstest an, der im Folgenden beschrieben wird.

EXPERIMENTELLER TEIL

Als Plattenmaterial wurden DC-Fertigplatten Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merck, Darmstadt, B.R.D.), nicht aktiviert, verwendet.

Reagenzien: Aceton p.a. (Merck); Ammoniakflüssigkeit 25% p.a. (Merck);

Äthanol, 70 Vol.%; Benzol p.a. (Merck); Sprühreagenz: 0.5 g Vanillin (Merck) wurden unter leichtem Erwärmen in 50 ml Schwefelsäure 95–97% p.a. (Merck) gelöst.

Als Prüflösungen dienten handelsübliche Morphinampullen (20 mg Morphinhydrochlorid pro ml). Als Vergleichslösungen wurden eine 2-prozentige Morphinhydrochloridlösung und eine 0.05-prozentige Pseudomorphinhydrochloridlösung in 0.1 *N* Salzsäure verwendet.

Fünf Mikroliter der zu untersuchenden Ampullenlösung (100 μ g Morphinhydrochlorid) wurden mit einer Mikrodosierspritze punktförmig auf eine DC-Fertigplatte Kieselgel 60 F₂₅₄ aufgetragen (Durchmesser des Auftragsflecks *ca.* 0.5 cm). In gleicher Weise wurden sowohl 5 μ l der 2-prozentigen Morphinhydrochloridlösung als auch 2 bzw. 10 μ l der 0.05-prozentigen Pseudomorphinlösung (1 bzw. 5 μ g Pseudomorphinhydrochlorid) aufgetragen. Als Fliessmittel diente eine Mischung von Benzol, Aceton, Äthanol 70% und Ammoniakflüssigkeit 25% im Volumenverhältnis 35:32.5:35:2.5. Nach einstündiger Kammersättigung wurde das Chromatogramm bis zu einer Laufstrecke von 16 cm entwickelt. Anschliessend wurde das Chromatogramm *ca.* 3 min bei 100° im Trockenschrank erhitzt und noch heiss kurz mit Vanillin-Schwefelsäure besprüht. Sodann erhitze man nochmals *ca.* 1 min bei 100°.

Aus der Fig. 1 ist die Lage der einzelnen Substanzflecken zueinander ersichtlich. Nach der Detektion mit Vanillin-Schwefelsäure erschien Pseudomorphin als grüner und Morphin als rötlich-violetter Fleck. Alle aufgeführten Substanzen mit Ausnahme des eventuell vorhandenen Atropins konnten unter UV-Licht bei 254 nm detektiert werden. Die geringe Menge Atropin in Morphin-Atropinampullen konnte durch Besprühen mit Dragendorffs Reagenz sichtbar gemacht werden.

Falls unter den gegebenen Bedingungen im Chromatogramm der zu prüfenden Ampullenlösung kein deutlich erkennbarer Pseudomorphinfleck sichtbar wird, liegt der Oxydationsgrad des Morphins mit Sicherheit unter 1% (1 μ g Pseudomorphin).

ERGEBNISSE UND DISKUSSION

In der Fig. 1 ist eine schematische Darstellung des Dünnschichtchromato-

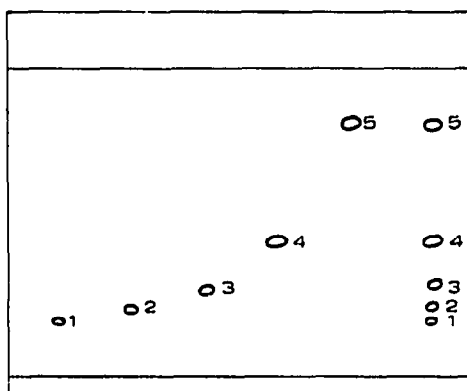


Fig. 1. Schematische Darstellung des Dünnschichtchromatogramms von Morphin und Pseudomorphin. 1 = Pseudomorphin ($hR_F = 19$); 2 = *p*-Hydroxybenzoesäure ($hR_F = 23$); 3 = Atropin ($hR_F = 35$); 4 = Morphin ($hR_F = 46$); 5 = *p*-Hydroxybenzoesäuremethylester ($hR_F = 85$).

gramms von Morphin und Pseudomorphin wiedergegeben, wozu zu vermerken ist, dass die angegebenen hR_F -Werte nur als Richtwerte zu betrachten sind und je nach vorhandenen Bedingungen schwanken können.

Die Untersuchungen wurden auch mit Morphinampullen durchgeführt, denen Atropin zugesetzt war. Das Atropin stört unter den gegebenen Bedingungen den Pseudomorphinnachweis nicht. Auch die Anwesenheit von *p*-Hydroxybenzoesäureester hat auf diesen Grenzkonzentrationstest keinen Einfluss. Allerdings ist dabei zu beachten, dass die mit *p*-Hydroxybenzoesäureester stabilisierten Ampullen fast immer freie *p*-Hydroxybenzoesäure aufweisen, die nach dem Entwickeln der Platte und beim Betrachten unter UV-Licht von 254 nm nahezu den gleichen hR_F -Wert wie Pseudomorphin besitzt. Für das Vorhandensein von Pseudomorphin ist deshalb nur die positive Reaktion mit Vanillin-Schwefelsäure, nicht jedoch die Detektion durch UV-Licht beweisend.

Ausserdem wurden Morphinampullen untersucht, die pro ml Injektionslösung 1 mg Natriumdisulfit als Oxydationsschutz enthielten. Selbst nach zehnjähriger Lagerung war in diesen kein Pseudomorphin nachweisbar.

Der beschriebene DC Grenzkonzentrationstest wird am hiesigen Institut seit vier Jahren mit Erfolg durchgeführt.

Durch diese Methode ist es möglich, Morphinampullen mit unterschiedlichen Nebenkomponten auf Pseudomorphin zu prüfen, das bei nicht genügendem Oxydationsschutz entsteht. Das beschriebene Verfahren gestattet den halbquantitativen, spezifischen Nachweis dieser Substanz.

LITERATUR

- 1 N. Thörn und A. Agren, *Collect. Pharm. Suecica*, 4 (1949).
- 2 R. Lang und G. Reich, *Wehrmed. Monatsschr.*, 12 (1969) 342.
- 3 C. F. Schmidt und A. E. Livingston, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 47 (1933) 473.
- 4 J. Travell, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 44 (1932) 123.
- 5 L. Lewin, *Gifte und Vergiftungen; Lehrbuch der Toxikologie*, Karl Haug, Ulm/Donau, 1962.
- 6 F. Dezeine, *J. Pharm. Belg.*, 2 (1920) 558.
- 7 A. K. Balls, *J. Biol. Chem.*, 71 (1927) 537.
- 8 L. Molnar, *Farmacia*, 24 (1955) 131.
- 9 C. G. von Arkel und J. H. van Waert, *Pharm. Weekbl.*, 85 (1950) 319.
- 10 K. Goto und Z. Kitasato, *Ann.*, 481 (1930) 81.
- 11 M. Amorosa, *Gazz. Chim. Ital.*, 79 (1949) 886.
- 12 K. W. Bentley und S. F. Dyke, *Chem. Ind. (London)*, (1957) 398.
- 13 M. Pesez, *J. Pharm. Chim.*, 27 (1938) 255.
- 14 S. Y. Yeh und J. L. Lach, *J. Pharm. Sci.*, 50 (1961) 30.
- 15 Pfeifer, *J. Chromatogr.*, 24 (1966) 364.
- 16 S. Kanafarska-Milotkowska, *Acta Pol. Pharm.*, 30 (1973) 297.
- 17 R. Drevon, *J. Pharm. Chim.*, 22 (1935) 97.
- 18 R. Barkman und B. Ørtengren, *Farm. Revy*, 58 (1959) 181.
- 19 B. Kakáč und Z. J. Veidělek, *Handbuch der Kolorimetrie*, Band I, Fischer, Jena, 1962, S. 172.