

STANOVENIE SKOPOLAMÍNU VEDEA NADBYTKU MORFÍNU A ETYLMORFÍNU*

O. MARKOVIČ, I. REXOVÁ

Oddelenie farmaceutickej chémie a biochémie Chemického ústavu Slovenskej akadémie vied v Bratislave

Stanovenie skopolamínu za prítomnosti väčšieho nadbytku sprievodných látok sa nedalo uspokojivo uskutočniť či už pôvodnou Vitaliho [1] reakciou kolorimetricky alebo jej modifikáciou podľa Ashleya [2].

Ako uvádza Dušinský [3], ani polarografické stanovenie skopolamínu za prítomnosti väčšieho množstva hydrochloridu morfínu, ako aj iných chloridov neposkytuje uspokojivé výsledky.

V prípade stanovenia skopolamínu vedľa väčšieho množstva morfínu a etylmorfínu bolo preto nevyhnutné najprv oddeliť skopolamín od ostatných sprievodných látok.

Oddelovanie morfínu od skopolamínu a strychnínu papierovou chromatografiou v zmesi *n*-butanol — kyselina octová — voda opisujú Mesnard a Boussemart [4]. Reichelt [5, 6, 7] používa na oddelovanie alkaloidov tropovej skupiny papier impregnovaný formamidom a mobilnú fázu benzén — chloroform, resp. ich zmesi. Po elúcii stanovuje alkaloidy kolorimetricky Vitaliho reakciou. Uvádza, že oddelenie etylmorfínu od skopolamínu je možné v uvedenom systéme iba v koncentračnom pomere 1 : 1, kým za prítomnosti veľkého nadbytku etylmorfínu (ako je to v prípade prípravku *Modiscop*) sa nedosiahne ich dokonalé oddelenie.

Keďže v prípravku *Modiscop* je skopolamín v prítomnosti 80 násobného nadbytku morfínu a 120 násobku etylmorfínu, pokúsili sme sa nájsť vhodný spôsob na oddelenie týchto látok v uvedenom koncentračnom pomere a po ich oddelení aplikovať výhodnú metódu kvantitatívneho určenia skopolamínu.

Experimentálna časť

Aplikovanie Reicheltom použitého spôsobu oddelovania alkaloidov na papieri impregnovanom formamidom za použitia chloroformu ako mobilnej fázy nám síce poskytlo určité oddelenie morfínu, etylmorfínu a skopolamínu i v koncentračnom pomere obdobnom ako v prípravku *Modiscop*, avšak paušálne reprodukovat' toto delenie sa nám nedarilo. Ďalšia nevýhoda tohto spôsobu vzhľadom na kvantitatívne vyhodnocovanie bola v difúznosti škvŕn a v uvedenom koncentračnom pomere v ich nie úplne dokonalaj separácii.

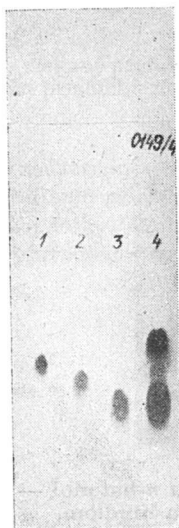
Preto sme sa pokúsili nájsť výhodnejší systém na oddelenie týchto látok. Preskúšali sme rozličné zmesi *n*-butanolu — kyseliny mravčej — vody, resp. *n*-butanolu — kyseliny

* Prednesené na schôdzke Slovenskej odbočky farmaceutickej sekcije Spoločnosti J. E. Purkyňa v Bratislave 23. mája 1956.

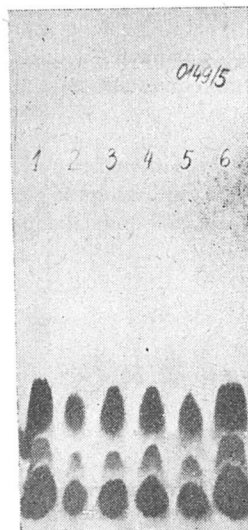
octovej — vody. Pomerne výhodným systémom sa ukázala horná vrstva zmesi *n*-butanol — voda (1 : 1), v ktorej sa zmes morfinu, skopolamínu a etylmorfinu nerozdelila ešte úplne dokonale (obr. 1). Dalo sa však očakávať, že opakovaným vyvíjaním sa dosiahne zaokrúhlenie škvŕn a lepšia separácia látok.

Už dvojnásobným vyvíjaním sa dosiahlo oddelenie morfinu, skopolamínu a etylmorfinu i v koncentračnom pomere obdobnom ako v prípravku *Modiscop* (obr. 2). Oddelenie morfinu, skopolamínu a etylmorfinu bolo prakticky dokonalé, avšak škvŕna skopolamínu sa javila zdvojenou.

Pri použití opakovaného trojnásobného vyvíjania sme dosiahli jednak dokonalé oddelenie morfinu, skopolamínu a etylmorfinu, jednak sa nám súčasne oddelila medzi škvŕnou skopolamínu a morfinu nová neznáma škvŕna, ktorá pri dvojnásobnom vyvíjaní spôsobovala náznak zdvojenia škvŕny skopolamínu. Týmto spôsobom sme dosiahli úplné oddelenie morfinu, etylmorfinu a skopolamínu i v koncentračnom pomere zhodnom s prípravkom *Modiscop* (obr. 3).



Obr. 1.



Obr. 2.

Obr. 1. Chromatogram 0149/4 bol vyvíjaný hornou vrstvou zmesi *n*-butanol — voda (1 : 1) a detegovaný postriekaním Dragendorfovým činidlom.

Vzorky: (1) 50 μg morfinu; (2) 50 μg skopolamínu; (3) 80 μg etylmorfinu; (4) 200 μg morfinu, 25 μg skopolamínu, 200 μg etylmorfinu.

Obr. 2. Chromatogram 0149/5 bol dvakrát vyvíjaný zmesou *n*-butanol — voda (1 : 1) a detegovaný postriekaním Dragendorfovým činidlom.

Vzorky: (1) 1000 μg morfinu, 125 μg skopolamínu, 1500 μg etylmorfinu; (2) 10 μl roztoku pripraveného podľa prípravku *Modiscop* s 10 násobným nadbytkom skopolamínu; (3) 400 μg morfinu, 50 μg skopolamínu, 600 μg etylmorfinu; (4) 20 μl roztoku ako pri vzorke 2; (5) 200 μg morfinu, 25 μg skopolamínu, 300 μg etylmorfinu; (6) 50 μl roztoku ako pri vzorke 2.

Vo všetkých prípadoch sme detegovanie robili postriekanim chromatogramu Dragendorfovým činidlom v Munierovej [8] modifikácii. Upevnené chromatogramy sme postriekavali pomocou celosklených rozprašovačov a kompresora za stáleho tlaku z rovnakej vzdialenosti pri postriekavaní a za použitia rovnakého množstva roztoku detekčného činidla na určitú plochu papiera.

Za účelom zistenia pôvodu novej škvrny, ktorá sa oddelila pri trojnásobnom opakovanom vyvíjaní, chromatografovali sme uvedeným spôsobom jednotlivé látky (morfín, skopolamín, etylmorfín). Po nanesení každej látky osobitne v množstvách 200—500 μg sme zistili, že morfín a skopolamín dávali iba jednu škvrnu, kým etylmorfín poskytoval aj ďalšiu škvrnu totožnú s už spomínanou neznámou škvrnou. Rozličné výrobné vsádzky etylmorfia obsahovali rôzne množstvá tejto ešte neidentifikovanej látky, a to v rozmedzí 3—5 % pri porovnaní splanimetrovaných plôch škvŕn tejto látky so škvŕnami etylmorfia.

Na obr. 3 boli na nepárnych vzorkách nanášané stúpajúce koncentrácie skopolamínu od 5—80 μg a na každú vzorku sa nanášalo 200 μg morfínu a 300 μg etylmorfínu, aby sa dosiahli koncentračné pomery podobné ako v prípravku *Modiscop*.



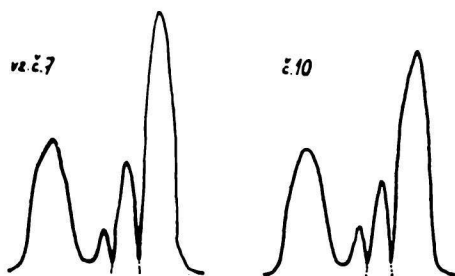
Obr. 3. Chromatogram 0149/88 bol trikrát vyvíjaný zmesou *n*-butanol — voda (1 : 1) a detegovaný postriekanim Dragendorfovým činidlom.

Vzorok: (1) 200 μg morfínu, 5 μg skopolamínu, 300 μg etylmorfínu; (2) 400 μg morfínu, 50 μg skopolamínu, 600 μg etylmorfínu; (3) 200 μg morfínu, 10 μg skopolamínu, 400 μg etylmorfínu; (4) 400 μg morfínu, 5 μg skopolamínu, 600 μg etylmorfínu; (5) 200 μg morfínu, 20 μg skopolamínu, 300 μg etylmorfínu; (6) 40 μl zmesi pripravenej podľa prípravku *Modiscop* s 10 násobným množstvom skopolamínu; (7) 200 μg morfínu, 40 μg skopolamínu, 300 μg etylmorfínu; (8) 20 μl roztoku ako pri vzorke 6; (9) 200 μg morfínu, 60 μg skopolamínu, 300 μg etylmorfínu; (10) 10 μl roztoku ako pri vzorke 6; (11) 200 μg morfínu, 80 μg skopolamínu, 300 μg etylmorfínu; (12) 5 μl roztoku ako pri vzorke (6).

Vizuálnym odhadom podľa veľkosti a intenzity skopolamínových škvŕn sa dali pri množstvách 20—80 μg rozlíšiť rozdiely skopolamínu o 5 μg . Už táto presnosť stanovenia skopolamínu v uvedenej zmesi predčila doteraz používané metódy, ktoré na viacerých pracoviskách neposkytovali žiadané výsledky.

Za účelom spresnenia stanovenia skopolamínu použili sme metódu premeriavania negatívov (po sfotografovaní chromatogramu) podľa Keila [9]. Negatívy sme premeria-

vali pomocou denzitometra používaného v spektrálnej analýze. Hodnoty získané premeriavaním sme vynášali na milimetrový papier, čím sme dostali krivky s maximami prislúchajúcimi jednotlivým látkam. Po splanimentrovaní plôch prislúchajúcich skopolamínu sme získané hodnoty vyniesli na graf v závislosti od koncentrácie. (Planimentrovanie sme uskutočňovali polárnym kompenzačným planimetrom „Reiss“.) Z grafu sa dalo zistiť presné množstvo skopolamínu v skúšanej vzorke.



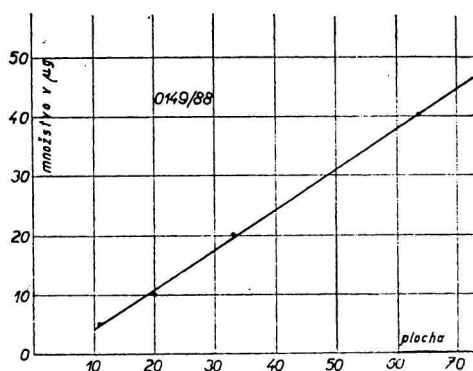
Obr. 4. Krivky získané premeraním vzoriek (7) a (10) z chromatogramu 0149/88 (obr. 3). Prvé maximum prislúcha morfinu, druhé nezidentifikovanej látke, tretie skopolamínu, štvrté etylmorfinu.

Na obr. 4 sú znázornené dve krivky získané premeraním negatívu uvedeného chromatogramu. Premerali sme vzorky, ktoré obsahovali stúpajúce množstvá skopolamínu, a jednu vzorku skúšanej látky. Po splanimentrovaní kriviek prislúchajúcich skopolamínu sme získali hodnoty uvedené v tab. 1.

Tabuľka 1

Množstvo skopolamínu v μg	Plocha nameraná planimetrom v cm^2
5	11
10	20
20	33
40	64
60	75
80	99

Po vynesení týchto hodnôt graficky sme pre množstvá 5—40 μg získali lineárnu závislosť medzi plochou kriviek skopolamínu a množstvom látky (obr. 5).



Obr. 5. Graf závislosti množstiev skopolamínu (v μg) od plôch získaných splanimetrovaním kriviek, ktoré prislúchali skopolamínu.

Na experimentálnych prácach sa zúčastnil A. Slezárik.

Súhrn

Opakovaným trojnásobným vyvíjaním chromatogramu v zmesi *n*-butanol — voda sme dosiahli úplné oddelenie morfinu, skopolamínu a etylmorfinu i v koncentračných pomeroch 80 : 1 : 120, ako je v prípravku *Modiscop*.

Pomocou vizuálneho odhadu a nanášania stúpajúcej koncentrácie štandardu oproti klesajúcej koncentrácii vzorky možno v uvedenej zmesi stanoviť skopolamín s presnosťou $\pm 15\%$.

Na presné stanovenie skopolamínu v tejto zmesi sme použili metódu premeriavania negatívov pomocou denzitometra, planimetrovania získaných kriviek a porovnávania veľkosti plôch.

V etylmorfiné vyhovujúcom podmienkam liekopisu ČSL 2 sme zistili zatiaľ nezidentifikovanú látku, ktorá bola na chromatograme pri trojnásobnom opakovanom vyvíjaní medzi škvvrnou morfinu a skopolamínu.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СКОПОЛАМИНА В ПРИСУТСТВИИ ИЗБЫТКА МОРФИНА И ЭТИЛМОРФИНА

О. МАРКОВИЧ, Л. РЕКОВА

Отделение фармацевтической химии и биохимии Химического института Словацкой Академии Наук в Братиславе

Выводы

Трехкратно повторяющейся обработкой хроматограммы в смеси *n*-бутанол — вода мы достигли полного разделения морфина, скополамина и этилморфина тоже в концентрационных отношениях 80 : 1 : 120, как это бывает в препарате *Модископ*.

S pomocí vizuálního srovnání a nanesení vzrůstající koncentrace standarda po srovnání s koncentrací испытуемой пробы возможно в приведенной смеси определить скополамин с точностью $\pm 15\%$.

Na точное определение скополамина в приведенной смеси мы применили метод измерения негативов с помощью денситометра и последующего планиметрирования полученных кривых и сопоставления величин плоскостей.

V этилморфине удовлетворяющем условиям фармакопее ЧСЛ 2, мы определили присутствие пока не идентифицированного вещества, которое на хроматограмме находится при трехкратно повторяющейся обработке хроматограммы, между пятном морфина и скополамина.

Поступило в редакцию 15. 12. 1956 г.

BESTIMMUNG VON SCOPOLAMIN NEBEN EINEM ÜBERSCHUSS VON MORPHIN UND ÄTHYLMORPHIN

O. MARKOVIČ, L. REXOVÁ

Abteilung für pharmazeutische Chemie und Biochemie des Chemischen Instituts an der Slowakischen Akademie der Wissenschaften in Bratislava

Zusammenfassung

Durch wiederholtes dreimaliges Entwickeln eines Chromatogramms in einem Gemisch von *n*-Butanol und Wasser erreichten die Autoren eine völlige Trennung des Morphins, Scopolamins und Äthylmorphins auch in Konzentrationsverhältnissen von 80 : 1 : 120, wie dies im Präparat *Modiscop* der Fall ist.

Mit Hilfe einer visuellen Schätzung und des Auftragens der steigenden Konzentration des Standards gegenüber der fallenden Konzentration des Musters ist es möglich, in dem angeführten Gemisch das Scopolamin mit einer Genauigkeit von $\pm 15\%$ zu bestimmen.

Zur genauen Bestimmung des Scopolamins in dem angeführten Gemisch verwendeten die Autoren die Methode des Nachmessens der Negative mittels des Densitometers, des Planimetrierens der erhaltenen Kurven und des Vergleichens der Grösse der Flächen.

Im Äthylmorphin, das den Bedingungen des Arzneibuchs ČSL 2 entspricht, stellten die Autoren einen bisher nicht identifizierten Stoff fest, welcher auf dem Chromatogramm bei dreimaligwiederholtem Entwickeln zwischen dem Fleck des Morphins und des Scopolamins zu erkennen war.

In die Redaktion eingelangt den 15. 12. 1956

LITERATÚRA

1. Vitali D., Z. anal. Chem. 20, 563 (1881). — 2. Ashley M. G., J. Pharm. Pharmacol. 4, 181 (1952). — 3. Dušinský G., Osobné oznámenie. — 4. Mesnard P., Boussemart E., Bull. Trav. Soc. pharm. Bordeaux 88, 175 (1951). — 5. Reichelt J., Čs. Farm. 3, 330 (1954). — 6. Reichelt J., Die Pharmazie 9, 968 (1954). — 7. Reichelt J., Die Pharmazie 10, 234 (1955). — 8. Munier R., Macheboeuf M., Bull. Soc. chim. biol. 31, 1141 (1949). — 9. Keil B., Chem Listy 48, 725 (1954).

Došlo do redakcie 15. 12. 1956