

Adatok a morfin és oxidimorfin analitikai ismeretéhez.

Keletkezik-e a szervezetben oxidimorfin a morfinból ?

Bölcsészeti doktori értekezés.

Írta:

Farkas Pál

okl. gyógyszerész

A 1493



Dolgozatom a debreceni m. kir. Tisza István
Tudományegyetem orvosi-vegytani intézetében készült.
E helyen mondok köszönetet Dr Bodnár János egyetemi ny.
r. tanár urnak, az orvosi-vegytani intézet igazgatójá-
nak szives vezetéséért és mindenkori önzetlen és jóaka-
ratu támogatásáért, amellyel munkám elvégzését lehető-
vé tette.

A morfinmérgezések nagy számának köszönhető, hogy az utóbbi nyolcvan évben igen sok szerző foglalkozott a morfinnak az emberi szervezetben és váladékokban való kimutatásával.

Ezen eljárások alapját a Stas^{1/}-féle módszer képezi, melynél a morfint NaOH-dal lugosított oldatból NH₄Cl hozzáadása után éterrel rázzák ki. A Stas-féle eljárást egyes szerzők (Dragendorff - Kauzmann^{2/}, Tauber^{3/}, Kubly - Dragendorff^{4/}, Marquis^{5/}, Cloetta^{6/}, van Rijn^{7/}, Jörgensen^{8/}, Rübsamen^{9/}, Wachtel^{10/}, Takayanagi^{11/}).

A felsorolt eljárások legtöbbje igen hosszadalmas és sok kivonószert igényel s ezért költséges is.

Cloetta eljárása pl. a szerző szerint nagy gyakorlat esetében is 14 napot vesz igénybe.

Azoknak a módszereknek, melyek a morfin kivonására amilalkoholt használnak, hátránya, hogy a amilalkohol könnyen alkot emulziókat, melyek csak nagy fáradsággal választhatók szét, továbbá magas forrpontja

és az, hogy színes anyagokat (extraktív anyagok) old ki, melyek nagymértékben akadályozzák a morfin színreakcióit. (Fröhde-, Marquis-, Wieland-Kappelmayer-, Husmann-féle). Hátránya a módszernek az, hogy az amilalkohollal való dolgozás igen kellemetlen, mert gőzei erősen izgatják a légzőszerveket.

Az idézett eljárások közül csak a Jörgensen- és Takayanagi-féle vizsgálatokkal végeztem vizsgálatokat, miután ezek látszottak legegyszerűbbnek és leggyorsabbnak.

A Jörgensen-féle eljárás a morfin kivonására használt (NaHCO_3 -al vagy NH_4OH -dal meglugosított oldatban) amilalkoholt, ecetétert, és alkoholtartalmu kloroformot, 1 - 1,5 % alkoholt tartalmazó éterrel helyettesíti. Erre azért van szükség, mert a szerző szerint az u.n. extraktív anyagok, melyek nagymértékben megnehezítik a morfin kimutatását, mert egyrészt a színreakciókat akadályozzák, másrészt az alkaloidareagensekkel csa-

padékot adnak, a felsorolt oldószerekben a morfinnal egyszerre oldódnak ki. Az alkoholtartalmu éter az extraktív anyagokat nem oldja ki. Ha nagyon szines a kivonat, NH_4OH -dal meglugositja és forró amilalkohollal, az amilalkoholt pedig savanyu vizzel rázza ki, mely a morfint sósavas sója alakjában kioldja. A savanyu vizes oldatot meglugosítás után tizszer rázza alkoholtartalmu éterrel. Az éter elpárologtatása után a morfin kikristályosodik.

Ezen eljárás a morfin kivonására nem alkalmas, mert 40 ccm desztillált vizből 1 %-os alkoholtartalmu éterrel NH_4OH -val való lugosítás után, végezve a kizrázást 10 mg morfin nem mutatható ki.

Már Kubly^{13/} megjegyzi a Stas-féle eljárásra, hogy az használhatatlan, mert a morfinbázis oldhatatlan éterben. A Takayanagi-féle eljárás más és más uton halad aszerint, hogy vizeletből, vagy szervekből akarják a morfint kimutatni.

a/ Vizelet.

A vizeletet ecetsavval gyengén megsavanyítja és vízfürdön kis térfogatra bepárolja. Ha a teljes bepárlás előtt csapadék válna le, nutschén leszívja és kevés ecetsavtartalmu vízzel utánamossa. A szűrletet 20 - 30 ccm-re bepárolja és annyi kvarchomokot kever a folyadékhoz, hogy azt épen felszívja. 30 - 40 g homok elegendő. A homokot vízfürdön kiszáritja. A kiszáritás után a savanyu tömeget mindaddig bonja ki kloroformmal, míg az elpárologtatott kloroform maradékot már nem hagy. Ily módon az összes kloroformban oldódó anyagok a morfin kivételével, melynek sója kloroformban oldhatatlan, elvannak távolítva. A kloroformot leönti a homokról és a visszamaradó kloroformot vízfürdön ledesztillálja, vagy szárítószekrényben elüzi. Örizkedni kell a homok felkeverésétől, mert ezáltal veszteség állhat elő. A homokhoz kevés vizet ad és a savanyu kémhatást NaOH-dal letompítja, majd 1 g NaHCO_3 -ot ad hozzá és az egész ele-

gyet vízfürdön kiszáritja.

b/ Szervek.

A szerveket finoman felapritja és sósavval savanyított alkohollal vonja ki. Az alkoholt vízfürdön ledesztillálja és a maradékot vízzel veszi fel. Abban az esetben, ha a műveletnél vízben oldhatatlan maradékot kap, a maradékot alkohollal felveszi, a csapadéktartalmu alkoholos oldatot leszűri és az alkohol elpárologtatása utáni maradékot desztillált vízben oldja. Sósav hozzáadása után rázótölcsérben éterrel tisztítja. A vitztisza oldatot egy csészébe önti, a rázótölcsért ~~felait~~ desztillált vízzel utánamossa. Mielőtt a mosóvizet a többi oldattal elegyitené az esetleges csapadéktól szűrőssel szabadítja meg. A vizes savanyu oldatot 40 - 50 g kvarchomokkal felitatja, a sav feleslegét NaOH-dal letompítja és 1 g NaHCO_3 -tal elkeveri és vízfürdön beszáritja.

c/ A morfin kivonása. A NaHCO_3 -tartalmu homokot finoman eldörzsöli és egy Erlenmeyer-lombikba önti. A csésze faláin esetleg megtapadó homokot alkohollal lemossa, az

alkoholt homokkal felitatja és a többi homokhoz keveri. Ily módon sikerül a morfintartalmu homokot kvantitatively a lombikba mosni. A lombikba most 200 ccm kloroformot önt és visszafolyó hűtő alkalmazásával nem forró vízfürdőn, gyakran rázogatva, 15 - 20 percig melegíti. A kloroform forrását el kell kerülni. A meleg kloroformot leönti, a maradékot pedig 2 x 40 ccm kloroformmal újra kivonja 5 - 10 percen át. A homokról az oldószert leszűri s a szűrőt 20 ccm kloroformmal utánamossa. A 300 ccm kloroformban kell az összes morfinnak lenni.

A fenti eljárásokat követve kielégítő eredményt soha sem kaptam, mert pl. 100 g májban 10 mg-nál kevesebb morfin nem volt kimutatható s emellett a kivonási maradékok mindig színesek voltak, ami a színreakciókat nagymértékben zavarta.

Szükségesnek mutatkozott tehát egy olyan kivonási eljárás kidolgozása, melynél a reakciókhoz elő-

készített kivonási maradékban színezőanyagok egyáltalában nem, vagy csak igen kismértékben vannak jelen.

Kísérleti rész.

Részben az irodalomban találhat^ó adatok, részben a saját tapasztalataim alapján sikerült az alábbiakban ismertetett eljárással a vizeletből valamint különböző szervekből (máj, agy, vegyes szervek) olyan tiszta maradékot kapni, melyben a színreakciók egész csekély mennyiségű (0.5 - 2 mg) morfin esetében is jól elvégezhetők voltak.

a/ Szervek. A darálógépen felapritott szervekhez súlyuk kétszeresének megfelelő mennyiségű 95 %-os alkoholt adunk. Híg sósavval megsavanyítjuk és vízfürdőn 50 - 60^o-on kivonjuk, 1 - 2 órán át gyakran rázogatva. Ha az alkohollal való kivonást magasabb hőfokon végezzük, sötét színű maradékot kapunk.

A kivonás befejezése után melegen, ruhán szűr-

jük, a maradékot kipréseljük. A maradékot újra alkohol-
lal vonjuk ki. Az egyesített alkoholos kivonatokat kihü-
lés után redős szűrőpapíron szűrjük és 25 - 30°-on vaku-
umban 30 - 40 ccm-re ledesztilláljuk. Ez a vizes folya-
dék, mely alkoholt már nem tartalmaz, a kiválott zsir-
tól zavaros. A zavaros folyadékot egy megfelelő magysá-
gu választótölcsérbe öntjük. A lombikot, melyben a le-
párlást végeztük, petroléterrel kimossuk és ezzel a mo-
sásra használt petroléterrel a vizes savanyu oldatot ki-
rázzuk. A kirázást mindaddig megismételjük, míg a pet-
roléter már több zsirt nem old ki. A folyadékok elválá-
sa után a vizes réteget alacsony hőmérsékletű vízfürdőn
szirupsűrűségűre bepároljuk, kihülés után cseppenként
folytonos kevergetés közben abszolút alkohollal elegyít-
jük. Az abszolút alkohol hozzáadását mindaddig folytat-
juk, míg már csapadékot nem idéz elő. A csapadékról az
abszolút alkoholt egy abszolút alkohollal nedvesített
redős szűrőn szűrjük le. A csapadékot, mely mindig visz-

szatart kevés morfint, az oldáshoz elegendő vízben oldjuk, bepároljuk és újra abszolút alkohollal kezeljük. Az egyesített abszolút alkoholos szüredékhez térfogata 1/5 -ének megfelelő desztillált vizet adunk, mely megakadályozza az alkohol felkuszását a csésze falán. A bepárlás után kapott maradékot újra abszolút alkohollal kezeljük, megismételve a kicsapást és bepárlást addig, amíg az alkohol hozzáadására csapadék nem válik ki. (3 - 5-ször). Az utolsó bepárlás után kapott maradékot 35 - 40 ccm vízzel vesszük fel és választótölcsérbe szűrjük. Az így nyert sárgásbarna savanyu vizes oldat a morfinon kívül a szinanyagokat tartalmazza. Ezek kioldása végett H. Baggersgard- Rassmunsen - Sven Aage Schu^{14/} által ajánlott 1 térfogat izopropil-alkohol+3 térfogat kloroform keverékével, melyben a só-savas morfin nem, a szinezőanyagok legtöbbje azonban jól oldódik, addig rázzuk a savanyu oldatot, míg az elváló alsó réteg már szintelen. A fenti szerzők a mor-

fin kivonását vizes oldatban végzik és a lugosításra egyenlő térfogat 4 %-os Na_2CO_3 és NaHCO_3 keverékét ajánlják. E keverék használata^a meglehetősen savanyu oldat térfogatát nagyban növeli. A vizes réteg növekedésével több kivonószer és a kivonás többszöri megismétlése szükséges. Ennek elkerülése végett a vizes oldatot szilárd NaHCO_3 -al telítjük és lugosítás után végezzük a kivonást, a fenti keverékkel. Az elválás után a kloroformos oldatot sósavval savanyított vízzel rázzuk ki, ezáltal elérjük azt, hogy a kloroform-izopropilalkoholkeverék által felvett szinanyagok a kloroformos rétegben maradnak vissza, másrészt a morfin mint sósavas só oldatba megy. A vizes savanyu oldatot vízfürdön a felére bepároljuk, a kihült oldatot NH_4OH -dal meglugosítjuk és 10 % alkoholt tartalmazó kloroformmal rázzuk ki. Az elválasztott kloroformos réteg, mely rendszerint zavaros, száraz szűrőpapíron szűrjük és közönséges hőmérsékleten állni hagyjuk, míg bepárlódik. Rendszerint

olyan tiszta maradékot kapunk, hogy azzal a morfinra jellemzőes Fröhde - Marquis - Husemann - Wieland - Kappelmayer-féle reakciók elvégezhetők.

A Wieland - Kappelmayer-reakciót úgy véghez-
zük, hogy a maradék sósavas oldatához 1 csepp 15 %-os NaNO_2 -oldatot adunk. Ilyenkor morfin jelenléte ese-
tén az oldat sárga lesz, mely NaOH -dal való lugosítás-
kor narancssárgától - piros-ba megy át.

b/ Vizelet. A vizeletet sósavval megsavanyítjuk és viz-
fürdőn 3 - 5 ccm-re bepároljuk. Kihűlés után a maradé-
kot abszolút alkohollal kezeljük, amikor a vizeletben
levő NaCl és a morfinmérgezésnél mindig jelenlevő fe-
hérje^{15/} kicsapódik. A morfinveszteségek elkerülése
végett a csapadékot leszűrjük és kevés savanyu vízben
feloldjuk, ugyanugy járva el a továbbiakban, mint azt
a szerveknél leírtam. A kirázás is ugyanugy történik,
mint a szerveknél. Ezen eljárással:

100 g májból még kimutatható 2 mg sósavas morfin

100 g agyvelőből még kimutatható 1 mg és 100 ccm vi-
zeletből 0.5 mg sósavas morfin.

Annak megállapítására, hogy a kivonás folya-
mán hol áll elő morfinveszteség a következő kísérlete-
ket végeztem, melyeknél a morfin kimutatása a már fent
említett reakciókkal történt.

1/ 200 ccm alkoholhoz 0.5 mg sósavas morfint tartalmazó
oldatot adtam, az alkoholt HCl-val megsavanyítottam és
vizfürdőn melegítettem, a meleg alkoholt ruhán szűrtem,
majd kihülés után redős szűrőpapíron. Az alkoholt 20-
30°-on vakuumban lepároltam a maradékot vízzel felhigi-
tottam és petroléterrel háromszor kiráztam. A vizes ol-
datot bepároltam, abszolút alkohollal felvettem és víz
hozzáadása után bepároltam. Ezt még háromszor megismé-
teltem. A savanyu vizes oldatot háromszor 10 ccm izopro-
pilalkohol+kloroform keverékével kiráztam. Majd NaHCO_3 -
tal meglugosítottam és a fenti keverékkel kiráztam. A
kirázási maradékban a morfint ki lehetett mutatni.

2/ 100 g megdarált májat 200 ccm sósavval megsavanyított alkohollal vontam ki. Melegen ruhán szűrtem a maradékot kiperéselés után még 100 ccm alkohollal kivontam. Ujra ruhán szűrtem. Az egyesített kivonatokat kihülés után redős szűrőpapíron leszűrtem, vakuumban lepároltam s a zavaros, zsirt tartalmazó sűrű keverékhez 1 mg sósavas morfint adtam. A zsiros keveréket forró vízzel felvettem és kihülés után leszűrtem. A színes folyadékot bepároltam és a maradékot abszolút alkohollal kezeltem. A továbbiakban úgy jártam el, amint azt fent leírtam. Ennél a kísérletnél a reakciók mind negatívak voltak.

3/ 100_g megdarált májat fenti eljárás szerint kezeltem. A szűrletet vakuumban bepároltam, a maradékot a zsirtól petroléterrel szabadítottam meg és aztán 1 mg sósavas morfint adtam az oldathoz. Bepároltam, a fehérjét abszolút alkohollal kicsaptam, a csapadékot vízben oldottam, bepárlás után újra abszolút alkohollal kicsaptam. Az alkoholos szűrletet bepároltam, a maradékot vízzel

felvettem és NaHCO_3 -tal való lugosítás után kiráztam.

A reakciók itt is negatívok voltak.

Pozitívek voltak a reakciók, ha a morfin közvetlenül a kirázáshoz előkészített oldathoz (zsir- és fehérjementes) adtam a morfint.

A fenti kísérletekből kitűnik, hogy a morfin legnagyobb része a zsir leválasztásánál és a fehérjekicsapásnál vész el.

A zsir zavaró hatásának tudható be, hogy a Takayanagi-féle módszernél, ahol a zsiros maradéknak vízzel való kezelésekor nem szűrhető emulzió keletkezik, morfinveszteség áll elő.

Annak eldöntésére, hogy a színező anyagok mennyire zavarják a reakciókat, meg kellett állapítani a színreakcióérzékenységi határát, miután az irodalomban erre vonatkozólag csak igen kevés adatot talá-lunk és azok is nagyon eltérőek. (1. 33-36. old.). A reakciókat úgy végeztem, hogy különböző morfintartalmu ol-

datokat porcelláncsészében lemértem, enyhe hőnél szárazra pároltam és a reagens egy cseppjével elegyítettem. Az oldatban végzendő reakciónál az alkaloida oldat és a reagens keveréke 1 ccm-t tett ki.

Az 1. táblázatban szereplő számok mg-okban fejezik ki a sósavas morfin mennyiségét.

Annak megállapítására, hogy a nevezett extraktív anyagok mennyire befolyásolják a morfin színreakcióit (Fröhde, Marquis) a következő kísérleteket végeztem. 100 g májat, agyat és vizeletet morfin hozzáadása nélkül kivontam és kiráztam. Az utolsó kloroformos rázadékhoz 0.05 mg morfint adtam. A színreakciók negatívek voltak. (Tíz oldatból 0.005 mg még kimutatható). A rázadékhoz 0.1 ^{mg} morfint adva pozitív reakciókat kaptam.

A Takayanagi-féle eljárásnál a kloroform nem oldja ki az összes színanyagokat a savanyu homokból, egy része visszamarad és meglugosítás után a morfinnal együtt

oldódik ki és zavarja a színreakciókat.

Befolyásolja-e a rothadás a morfin kimutathatóságát ?

Már Doepman^{16/} és Autenrith^{17/} beszámol arról, hogy a hullákban a morfin mennyire állandó^a rothadással szemben. Így Doepman 11 hónap múlva is ki tudott mutatni morfint egy hullában. Ugyancsak erről számol be Mar-me,^{18/} aki 100 g disznómájat 10 mg morfinnal hagyott a levegőn állni, termosztatban 8 hónapon át, a vizet mindig pótolva. Hasonló tapasztalatokat szereztem én is, midőn 100 g májat 2 mg morfinnal a levegőn 2 hónapig hagytam rothadni. A kenőcsszerű penészes tömegből a morfint ki tudtam mutatni. A legkisebb morfinmennyiség, amely a leírt eljárással 100 g májból kimutatható volt mindig 2 mg-ot tett ki, akár 2 hónap múlva, akár azonnal vontam ki. Ugyancsak kimutatható volt 2 mg morfin akkor is, midőn máj- vagy agyvelőpépen 3 napig le-

vegőt szivattam át, vagy a máj és agyvelőpépet toluollal antiszeptikussá tett közegben hagytam állni. E kísérletek azt a körülményt bizonyítják, hogy a morfin in vitro nem oxidálódik.

Kimutatható-e a morfin akut mérgezetek vizeletében ?

Erdmann és Uslar^{19/}, akik a kivonáshoz amilalkoholt használtak, 0.3 g morfinnak szubkutan beadásával megmérgezett nyul gyomor- és béltraktusában biztosan, a vizeletben és vérben 3 és fél óra múlva csak nyomokban találtak, az agyban pedig még nyomokban sem tudták a morfint kimutatni. Kauzmann^{20/}, aki kísérleteit embereken, kutyákon és macskákon végezte ezek vizeletében és szerveiben mindig talált morfint. Jaques^{21/} soha sem talált morfinisták vizeletében morfint, míg székletük mindig tartalmazott. Landsberg^{22/} is csak egyszer talált a vizeletben morfint, midőn 0.8 g-ot inji-

ciált. Ellentmond az eddigi eredményeknek Marme^{23/}, aki azt állítja, hogy még 0.1 g beadása után (akár szájon, akár szubkutan) mindig található kimutatható mennyiségű morfin a vizeletben. Donáth^{24/}-nak nem sikerült a vizeletben morfint kimutatni még 1.5 g beadása után sem. Stark^{25/}-nak sem sikerült a morfint kimutatni olyan egyén vizeletében, aki naponta 3 - 4 g morfint kapott.

Az orvosi-vegytani intézet törvényszéki kémiai laboratóriumába beküldött vizeletben, amely egy morfiummérgezett (szubkutan-injekció) nőtől származott, a morfint ki tudtam mutatni. Ugyancsak kimutatható volt egy öngyilkos férfi 30 ccm-nyi vizeletében is.

100 g-os fehér patkány, mely 100 mg morfint kapott 20 óra alatt összegyűlt 5 ccm vizeletében a morfint ki lehetett mutatni. Fenti adatok azt bizonyítják, hogy a krónikus morfinmérgezésnél nem a vizelettel ürül ki a

morfin, még az akut mérgezésnél a vizeletben kimutatható.

Oxidálódik-e a morfin a szervezetben oxidimorfinná ?

A morfin igen könnyen oxidálódik, lugos közegben a levegő oxigénjének hatására is, ugyancsak könnyen oxidálódik a morfin oxidimorfinná NH_4OH -dal lugosított közegben $\text{K}_3/\text{Fe}(\text{CN})_6/$, vagy neutrális oldatban KMnO_4 hatására is. Végbemegy az oxidáció növényi oxidázék hatására is, amint azt Bougolt^{26/} a *Russula delitiosa* nedvével végzett kísérleteivel kimutatta.

Miután a morfin oxidimorfinná való átalakulását akartam tanulmányozni, egyrészt a szervekben a halál után, másrészt az élő szervezetben, szükségem volt oxidimorfinra. Ennek beszerzése igen körülményes, mint azt Deniges is megemlíti s így kényszerítve voltam magam előállítani. NH_4OH -dal lugosított oldatból

$K_3/Fe(CN)_6/$ hozzáadására mindig levált ugyan oxidimorfin, de ez a $K_3/Fe(CN)_6/$ nyomaitól nem volt megtisztítható, már pedig a $K_3/Fe(CN)_6/$ nyomai az oxidimorfin színreakcióit zavarják.

A tiszta oxidimorfin előállítására a Deniges^{27/} által leírt eljárást használtam.

5 g sósavas morfint feloldottam 200 ccm forró vízben. Kihűlés után 20 ccm 10 %-os H_2O_2 oldatot adtam hozzá. A H_2O_2 t előbb fenolftalein jelenlétében n/100 NaOH-dal semlegesítettem. Az így elkészített oldathoz a következő keveréket adtam: 10 ccm 4 %-os $CuSO_4$ -oldat és annyi 7 %-os KCN-oldat, hogy a kiválótt csapadék feloldódjék. A két folyadékot elegyítettem és jól összeráztam. 2 - 3 perc elteltével zavarosodás állt elő, mely mindig erősebb lett. 4 - 5 perc múlva oxigénfejlődés közben az eleinte sárgásbarna oldat színe vörösbarnába ment át és csapadék kezdett kiválni. A csapadékról az oldatot egy óra múlva leszűrtem, előbb desztillált

vizzel, majd alkohollal, végül éterrel mostam. Az így nyert csapadék kiszáritás után sárgásbarna por, melynek súlya 1.05 g, ami a Deniges által megjelölt hozammal (20 - 25 %) megegyezik. A nyert bázist Balls és Wolff^{28/} szerint tisztítottam tovább. Az oxidimorfint hég HCl-ban oldottam és metilvörös indikátor jelenlétében NH₄OH-dal csaptam ki. Az indikátornak nem szabad a színét megváltoztatnia. (kb. p_H = 6.5). Az NH₄OH által kicsapott bázis szép fehér színű. Könnyen átmegy a szűrőn, ha sok vízből lett kicsapva, vagy sok vizzel mosva. A sósavban való oldást és rákövetkező kicsapást még egyszer megismételtam, miáltal a morfin legnagyobb részét, valamint az összes cianidot eltávolítottam. A Balls által ajánlott sósavval való kicsapás nem sikerült. Ezért az oldatot addig töményítettem vízfürdőn, míg az oxidimorfin-klórhidrát kristályos csapadék alakjában kezdett kiválni. A leszűrt maradékot kevés vizzel mostam és kiszáritás után metilalkohollal kifőz-

tem, ennek egyrészt az a célja, hogy a magasabb ~~ox~~ oxidációs termékeket eltávolítsa, másrészt pedig az esetleg visszamaradt morfinklórhidrátot kioldja. A morfin sósavas sója metilalkoholban oldódik (1 : 20) a leszűrt és kiszáritott sósavas oxidimorfin 0.6 g volt, tehát a munkába vett sósavas morfin 12 %-a.

Itt megjegyezni kívánom, hogy a Balls által állított azon tény, hogy az oxidimorfinacetát jobban oldódik, mint a klórhidrát, nem felel meg a valóságnak, mert az acetát még 1 : 3330 hígításban is ^{azonnal} kicsapódik, ~~azon-~~ ~~nal~~ natriumacetat hozzáadására, a klórhidrát vizes oldatából. A fenti eljárással kapott oxidimorfint a következő jellegzetes reakciókkal azonosítottam. (Fröhde-, Marquis-, Hoshida-, Grinbert-, Leklere-^{29/} féle Natr.acetat). Miután az irodalomban igen kevés oxidimorfinreakciónál van az érzékenységi hatás megadva, itt is megállapítottam egy néhány reakció érzékenységi határát, úgy járva el, mint a morfinnál. (2. táblázat).

Oxidimorfin kimutatása szervezetben.

Az oxidimorfin, valamint sósavas sója alkoholban oldhatatlan. Emiatt nem lehet a szervezetből alkohollal kivonni sem a fehérjekicsapást abszolút alkohollal végezni. Ha a szervek kivonását sósavval savanyított vízzel végeztem, igen sok fehérje volt az oldatban. Ha a fehérjét előzetes NaCl hozzáadása után forralással csaptam ki, nem tudtam végeredményben semmi oxidimorfint kirázni. 40 ccm vízből 1 mg oxidimorfin nátriumhidrokarbonát hozzáadása után izopropilalkohol + kloroform (1 : 3) kirázható keverékével. A bázisnak a fenti keverékben való jó oldhatósága arra indított, hogy a szervezetet meglugosítás után azonnal a keverékkel vonjam ki. Májjal végezve a kísérletet a kivonószer hozzáadása után és különösen az ezzel való melegítés alatt a máj rugalmas tömeggé alakult, a kloroformos oldat pedig nem tartalmazott alkaloidát. Balls és Wolff^{30/} egy

kvantitatív oxidimorfin-meghatározó eljárást dolgoztak ki, de ezt csak marhahusra alkalmazták.

Az eljárás abban áll, hogy a megdarált húst egyenlő mennyiségű homokkal dörzsölik el, miután az oxidimorfint hozzáadták, Ezután abszolút alkoholt adnak a homokos tömeghez és jól összerázzák. Kevés ideig állni hagyják, hogy a huscafatok vízmentesítődjenek. Majd 100 - 125 ccm benzilalkoholt adnak a keverékhez és az egészet 70° -os vízfürdőbe helyezik. A kihülés után a benzilalkoholból tetszőleges mennyiséget mérnek le és 0.5 %-os sósavval ismételten kizázzák. Mivel a benzilalkohol sűrűsége közel megegyezik a vizével, kizálás előtt egyenlő térfogat benzolt adnak az alkoholhoz. A savanyu vizes folyadékot 15 - 20 ccm-re bepárolják és KCl hozzáadása után szilikowolframsavval az alkaloidát kicsapják s a csapadékot mérik. A benzilalkohol drágasága és a vele való nehéz dolgozás arra indított, hogy azt 1 : 3 izopropilalkohol + kloroform keveré-

kével pótoljam. Balls a meghatározásaihoz a szabad bázist használta. Könnyebb mérhetőség szempontjából én a sósavas söt használtam, ez azonban nem oldódik ki a fenti keverékkel. Ezen úgy segitettem, hogy a kivonás előtt a szervekhez addig adtam NaHCO_3 -ot, míg a kémhatás lakmusszal szemben lúgos lett.

Az oxidimorfinnak a szervekben való kimutatására, általam kidolgozott eljárás, a következő. 50 g szervet eldörzsölünk ugyanannyi homokkal; ha a szerv sok vizet tartalmaz, mint pl. az agyvelő, akkor a homok mennyiségét megkétszerezzük. Aztán NaHCO_3 -tal meglugositjuk és 50 ccm abszolút alkoholt adunk hozzá. Pár percig állni hagyjuk, majd 150 ccm 1 : 3 izopropil-alkohol + kloroform keverék^yet adunk a szer^yhez. fél órán át 50 - 60°-on tartjuk, kihülés után ruhán, majd szűrőpapíron szűrjük. A kloroformot kb. 150 - 200 ccm 0.5 %-os HCl-val rázzuk ki. A vizes réteg soha sem tiszta, hanem zavaros, mely zavarosodás több órai

állítás után sem tűnik el. A kitisztulást úgy gyorsíthatjuk, hogy a vizes oldatot éterrel rázzuk össze, mikor is a rétegek elválása után a vizes réteg papíron szűrve teljesen tiszta. A savanyu oldat bepárolva az oxidimorfin reakcióit adja. Ha májat vonunk ki a fenti eljárással, a maradék nem tiszta. Ilyenkor a maradékot vízben oldjuk, NaHCO_3 -tal meglugosítjuk és a fenti keverékkel kirázzuk. A kloroformos réteget szűrőpapíron szűrjük és szobahőmérsékleten bepárologatjuk. A maradékokat a Marquis-, Fröhde-, Hoshida-, Husemann-reakciókkal azonosítottam. Ezen eljárással sikerült az 50 g májhoz hozzáadott 2 mg, 50 g velőhöz hozzáadott 1 mg és 50 g húshoz hozzáadott 1 mg sósavas oxidimorfint mint legkisebb mennyiségeket kimutatni. Vizeletből nem sikerült ezzel a módszerrel ^{az} oxidimorfint kimutatni, mert a sósavval való bepárláskor a maradék elszéneseedett és nem volt annyira megtisztítható, hogy az alkaloidát ki lehetett volna rázni.

Annak megállapítására, hogy az élő szervezetben átalakul-e a morfin oxidimorfinná, megismételtem Rübsamen^{31/} kísérletét. Rübsamen fehér patkányokba injiciált morfinmennyiségnek elég nagy %-át nem kapta vissza, még pedig

4 és fél óra mulva beadott mennyiség	22.44 %
5 " " " "	41.33 "
6 " " " "	39.82 "-át

Ha ez a hiányzó mennyiség oxidimorfinná alakult volna át, akkor azt a fenti eljárással visszakaptam volna.

Saját kísérleteim a következők.

1. 130 g súlyu fehér patkány 100 mg ~~m~~ósavas morfint kapott. 3 és fél óra mulva kloroformmal megöltem és egészben megdaráltam. Egyik felét morfinra, másik felét pedig oxidimorfinra dolgoztam fel. Elvégezve a reakciókat csak morfint kaptam vissza. Ugyanez volt az eredmény azoknál az állatoknál is, melyeket 5, 6, 20 óra

mulva dolgoztam fel. A kontrollállat ugy morfinra, mint oxidimorfinra negativ volt.

Annak megállapítására, hogy az oxidimorfin nem oxidálódik-e tovább, ugyancsak fehér patkányba 100 mg oxidimorfinklorhidrátot injiciáltam. Az állatot 20 óra mulva kloroformmal megöltem. 50 g-nyi mennyiséget oxidimorfinra dolgoztam fel. A kapott maradék jellemzően adta az oxidimorfin reakcióit.

Tehát a morfin az élő szervezetben nem alakul át oxidimorfinná, sem pedig az oxidimorfin nem oxidálódik tovább.

Összefoglalás.

1. A morfinnak vizeletben és szervekben való kimutatására kidolgozott eljárás meglehetősen egyszerűnek és érzékenynek bizonyult. Ezzel az eljárással 100 ccm vizeletben 0.5 mg, 100 g májban 2 mg, 100 g agyban 1 mg ^{morfin} még kimutatható.

A különböző morfin-szinreakciók érzékenységi határát megállapítottam és a mellékelt 2. táblázatban foglaltam össze.

2. A kivonó eljárásoknál morfinveszteség a zsír kiválásakor, illetve a fehérje kicsapásakor áll elő.

3. A kivonási eljárásoknál kapott szinanyagok a szinreakciók érzékenységét csökkentik. Szinanyagok jelenlétében kb. 10 -szer annyi morfin már nem mutatható ki, mint tiszta oldatból.

4. A kimutathatóság határára és a szinreakciók érzékenységére a rothadás nincs befolyással.

5. Akut mérgezésnél a vizeletben mindig kimutatható a morfin.

6. Az oxidimorfinnak szervezetben való kimutatására szolgáló Balls és Wolff-féle eljárás igen költséges és körülményes. Az általam kidolgozott eljárás egyszerűbb, gyorsabb és kevésbé költséges. A 3. táblázatban az oxidimorfin színreakcióinak érzékenységi határa van összeállítva.

7. A morfin a szervezetben nem oxidálódik oxidimorfinná, hanem mint morfin ürül ki a vizelettel.

8. Az oxidimorfin nem oxidálódik tovább a szervezetben.

- 1/ Stas: Bull. de. l'Acad. de. Mediz. de la Belg. 1851.
IX. 304.
- 2/ Dragendorff - Kauzmann: Pharm. Zeitschr. f. Russ.
IV. 1868.
- 3/ Tauber: Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. XXVII. 336,
- 4/ Kubly - Dragendorff: Pharm. Zeitschr. f. Russ. V. 457.
- 5/ Marquis: Pharm. Zeitschr. f. Russ. XXXV. 549.
- 6/ Cloetta: Arch. f. exper. Pathol. L. 453.
- 7/ van Rijn: Pharm. Weekblad. XLIV. 46.
- 8/ Jørgensen: ~~Anal.~~ Zeitschr. f. Analyt. Chem. XLIX.
484.
- 9/ Rübsamen: Arch. f. exper. Path. u. Phar. LIX. 227.
- 10/ Wachtel: Biochem. Zeitschr. CXX. 265.
- 11/ Takayanagi: Arch. f. exper. Path. u. Pharm. CII. 167.
- 12/ Wieland - Kappelmayer: Annal. d. Chem. CCCLXXXII. 306.
- 13/ Kubly: Pharm. Zeitschr. f. Russ. V. 457.
- 14/ H. Baggersgard - Rasmussen - Sven Aage Schu: Arch.
d. Pharm. CCLXVIII. 673.

- 15/ Gadamer: Lehrb. d. Chem. Toxikologie u. Anleitung
2. Ausmittlung d. Gifte. 542.
- 16/ Doepman: Zhem. Ztg. XXXIX. 69.
- 17/ Athenrieth: Ber. d. Deutsch. Pharm. Ges. XI. 494.
- 18/ Marme - Warnecke: Pharm. Ztg. XXVIII. 334.
- 19/ Erßmann - Uslar: Annal. d. Chem. u. Pharm. CXXI. 118.
- 20/ Kauzmann: Inaug. Dissert. Dorpat 1868.
- 21/ Jaques: Theze Bruxelles 1880.
- 22/ Landsberg: Arch. f. d. Ges. Physiol. XXIII. 413.
- 23/ Marme: Deutsch. Med. Wochenschr. 1883.
- 24/ Donáth: Fpügers. Arch. XXXVIII. 528.
- 25/ Stark: Inaug. Dissert. Erlangen 1887.
- 26/ Bougold: Compt. rend. CXXXIV. 1361.
- 27/ Denigés: Bull. Soc. Chim. de. France. IX. 264.
- 28/ Balls - Wolff: Journ. of Biologic. Chemist. LXXI. 537.
- 29/ Brimbert - Leklere: Journ. Pharm. Chim. VII. 427. 1914
- 30/ Balls - Wolff: Journ. of. Biologic. Chem. LXXI. 537.
- 31/ Rübsamen: Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. LIX. 227.

Az irodalomban található morfinra vonatkozó színreakciók érzékenységi határa.

Fröhde-féle reakció:

Dragendorff 0.005 Die gerichtlich chemische Ermittlung von Giften. 1895.

Felletar-Jahn 0.5 - 0.02 A törvényszéki kémia elemei.

Haiduschka - Heissner 0.00025 Arch. der Pharm. 458.

Vogt: 0.1 Arch. d. Pharm. 207

Marquis 0.001 Pharm. Zentralhalle. 244.

Marquis-féle reakció:

Mai - Rath 0.03 Arch. d. Pharm. 244.

Haiduschka -
0.0002 Arch. d. Pharm. 458.

Heissner

Husemann-féle reakció:

Felletar - Jahn 0.01 A törvényszéki kémia elemei.

Vogt 0.05 Arch. d. Pharm. 207.

Husemann 0.01 Zeitschr. f. analyt. Chem. 3.

H₂SO₄ melegen

Dragendorf

O.01. Die gerichtlich chemische Ermittlung von Giften.

vanilin +

n/2 H₂SO₄

van Itallie -

O.02 Arch. d. Pharm. 265.

Steenhauer

Cukor + H₂SO₄

Felletar - Jahn

O.1 A törvénytörvényes kémia elemei.

Weppen

O.1 Ztschr. f. analyt. Chem. 13.

Haiduschka - Heissner

O.01 Arch. d. Pharm. 458.

Mayer-féle reakció:

Bauer

1 : 2700 Analyt. Chem. d. Alkalöide.

Lugol-oldat

Rosenthaler

1 : 24.000 Nachweiss organ.Verbind.

Szilikowolframsav

Rosenthaler

1 : 12.000 " " "

HJO₃

Rosenthaler

1 : 12.500 " " "

HJO₃

Ga dmer 1 : 12.500 Lehrb. d. Chem.Tox.

Foszformolframsav

Rosenthaler 1 : 30.000 Nachweis org. Verbindungen.

Foszformolibdensav

Rosenthaler 1 : 33.000 " " "

Klörviz + NH₄OH

Dragendorf 1 : 1000 Die gerichtlich chem.
Ermittlung von Giften.

FeCl₃

Dragendorf 1 : 5000 Die gerichtlich chem.
Ermittlung von Giften.

K₃/Fe(CN)₆/ + FeCl₃

Lister Ermitage

Ztschr.f.analyt.Chem.28.

Az oxidimorfin reakcióira vonatkozó adatok.

Natriumacetat.

Rosenthaler 1 : 10.000 Nachweiss org. Verb.

Natriumacetat + $K_3/Fe(CN)_6/$

Grimbert - Leclère 1 : 20.000 Journ. Pharm. Chim. VII. 10.

4. táblázat

Reagens	Szineződés	mg	Reagens	Szineződés	mg
Fröhde	ibolya - kék - piszkos zöld - sárga	0.003	Mecke	kék - zöld	0.002
Marquis	ibolya - kék	0.005	HJO ₃	CCl ₃ H-al kirázható	1 : 10.000
HNO ₃ konc.	vérvörös - sárga	0.02	lugol	csapadék	1 : 50.000
H ₂ SO ₄ melegen + HNO ₃	rózsaszín vérvörös	0.05	foszfor- wolframsav	csapadék	1 : 25.000
H ₂ SO ₄ melegen + KNO ₃	rózsaszín vérvörös	0.03	sziliko- wolframsav	csapadék	1 : 5.000
H ₂ SO ₄ + K ₃ AsO ₄	sárga - barna	0.002	foszfor molibdehsav	csapadék	1 : 20.000
H ₂ SO ₄ melegen	rózsaszín	0.002	Waweletk	csapadék	1 : 10.000
vanilin + n/2 H ₂ SO ₄	vöröses ibolya	0.009	klórvíz + NH ₄ OH	sárga barna	1 : 5.000
Hexametilentatr. amin + H ₂ SO ₄	kék	0.01	Wieland- Kappelmayer	narancssárga	1 : 50.000
cukor + H ₂ SO ₄	rózsaszín	0.3	urannitrát + K ₃ /Fe(CN) ₆ /	barna csapadék	1 : 100.000
benzaldehyd + H ₂ SO ₄	sárga - piros	0.2	FeCl ₃	kék	1 : 5.000
Wasicky	piros	0.001	FeCl ₃ + K ₃ /Fe(CN) ₆ /	redukál	1 : 333.000
Mayer	csapadék	1 : 1480			

Reagens	Színeződés	mg	lúgol	csapadék	1 : 50.000
Fröhde	kék - ibolya - barna - zöld	0.001	foszfor- wolframsav	csapadék	1 : 10.000
Marquis	piros	0.009	sziliko- wolframsav	csapadék	1 : 50.000
HNO ₃ conc.	sárga	0.002	foszformolibden- -sav	csapadék	1 : 33.300
H ₂ SO ₄ melegen + HNO ₃	zöld ibolya	0.009	klórvíz + ammonia	sárga barna	1 : 25.000
H ₂ SO ₄ melegen + KNO ₃	zöld ibolya	0.01	uránnitrát + K ₃ /Fe(CN) ₆ /	barna	1 : 100.000
H ₂ SO ₄ melegen	zöld	0.005	Hawelet	csapadék	1 : 20.000
H ₂ SO ₄ + K ₃ AsO ₄	ibolya - barna	0.002	FeCl ₃	kék	1 : 5.000
vanilin + n/2 H ₂ SO ₄	zöld - barna	0.003	K ₃ /Fe(CN) ₆ / + FeCl ₃	redukál	1 : 50.000
hexametil.tetr. amin + H ₂ SO ₄	zöld	0.005	Natr. acet.	csapadék	1 : 3330
cukor + H ₂ SO ₄	zöld	0.003	natr. acet. + K ₃ /Fe(CN) ₆ /	csapadék	1 : 14.300
Mecke	ibolya - barna	0.0002	pikronsav	csapadék	1 : 5.000
Hoshida	zöld	0.00004	CdJ ₂ + KJ	csapadék	1 : 18.600
Mayer	csapadék	1 : 125.000	ZnJ ₂ + KJ	csapadék	1 : 10.000
HJO ₃	Cl ₃ CH-al kirázható	1 : 10.000			

E F 5795/1951 GY SZ