

УДК 543.544:543.84:615.78

ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СИЛИЛЬНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ КОДЕИНА И МОРФИНА

Л.А. Михеева, П.Н. Пимонова, Л.Ф. Еникеева, О.В. Фролова

Ульяновский государственный университет

В работе рассмотрен метод получения силильных производных кодеина и морфина с помощью реактива BSTFA для их количественного определения методом газовой хроматографии. Сделаны выводы о возможности и целесообразности использования данной методики в дальнейшем. Рассмотрены преимущества получения производных, а также проанализированы недостатки использованного метода.

Ключевые слова: морфин, кодеин, дезоморфин, лекарственные средства, деривация, силильные производные, BSTFA.

Введение. В настоящее время препараты из группы агонистов опиоидных рецепторов, например морфин и кодеин, широко применяются как лекарственные средства [1].

Термином «опиаты» обозначают природные и синтетические вещества с морфиноподобными анальгезирующими свойствами, влияющими на центральную нервную систему и гладкие мышцы [2, 5].

Опий представляет собой сложную смесь алкалоидов, получаемую из млечного сока снотворного мака [4].

В состав опия входит свыше 20 алкалоидов. Под алкалоидами понимают большую группу азотсодержащих органических оснований сложного состава, встречающихся в растительных (реже в животных) организмах и обладающих, как правило, сильным фармакологическим действием [9] (табл. 1).

Таблица 1

Основные алкалоиды опия

Алкалоид	Содержание в опии, %
Морфин	42
Кодеин	12
Носкапин (наркотин)	21
Тебаин	6,5
Папаверин	18

В зависимости от сорта и места произрастания снотворного мака в опии содержится от 2–3 до 15–20 % алкалоидов, главными из которых являются морфин, кодеин, наркотин, тебаин и папаверин.

В медицине опий применяется в виде порошка и галеновых препаратов (экстракты, настойки, таблетки и др.). Из алкалоидов, выделяемых из опия, в медицине применяются морфин, кодеин и др. [5].

Особое влияние опиатов на центральную нервную систему (эйфория и развивающаяся толерантность при повторном применении) приводит к возникновению физической и психической зависимости (наркомании) у потребителей. Эта особенность опиатов объясняет ограниченность их медицинского применения и показаний к немедицинскому использованию [2].

В последнее время значительно участились случаи приема препаратов из группы агонистов опиоидных рецепторов, таких как морфин и кодеин, в немедицинских целях в качестве наркотических средств. Активное изъятие этих препаратов службой по контролю за оборотом наркотиков вынуждает наркозависимых лиц искать их заменители. Одним из них стал дезоморфин, который известен среди наркоманов как «крокодил».

При его кустарном получении образуется смесь из кодеина, морфина и дезоморфина, вследствие чего в экспертном заключении требуется указание точного процентного содержания каждого из этих компонентов. Существует целый ряд методов количественного анализа содержания кодеина и морфина [3, 7, 8] в исследуемых препаратах, но наиболее перспективным в настоящее время является

метод газовой хроматографии с масс-селективным детектором (ГХ-МС) [9, 10]. Однако практическое использование данного метода осложняется тем, что из-за высокой активности гидроксильных групп исследуемые вещества адсорбируются в инжекторе и хроматографической колонке, вследствие чего происходит трансформация веществ, их потеря и искажение результатов количественного определения.

Во избежание этого при количественном определении кодеин и морфин подвергают дериватизации – преобразованию полярных гидроксильных групп в неполярные без затрагивания основной структуры вещества. Наиболее перспективным методом дериватизации является силилирование. Преимущества получаемых силильных производных состоят в том, что они более летучи, дают хорошее разделение на хроматограмме, интенсивные пики в масс-спектре, обеспечивают высокую чувствительность при определении. При этом дериват можно непосредственно вводить в хроматограф, что помогает избежать потерь при выпаривании.

Утвержденная методика силилирования уже устарела, и в настоящее время появились новые реактивы, которые могут значительно упростить этот процесс [11]. Одним из таких реактивов является BSTFA (N,O-Bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide).

Цель исследования. Получение силильных производных кодеина и морфина на основе BSTFA для их количественного определения методом газовой хроматографии.

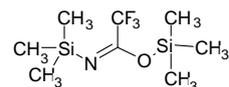
Материалы и методы. Исследования проводились в химической лаборатории Федеральной службы Российской Федерации по

контролю за оборотом наркотиков по Ульяновской области.

Для проведения анализов использовались хроматограф Agilent Technologies 6890 N Network GC System; масс-селективный детектор Agilent Technologies 5973 N Network; термостат фирмы Binder серии FD (диапазон температур от +50 до +300 °С).

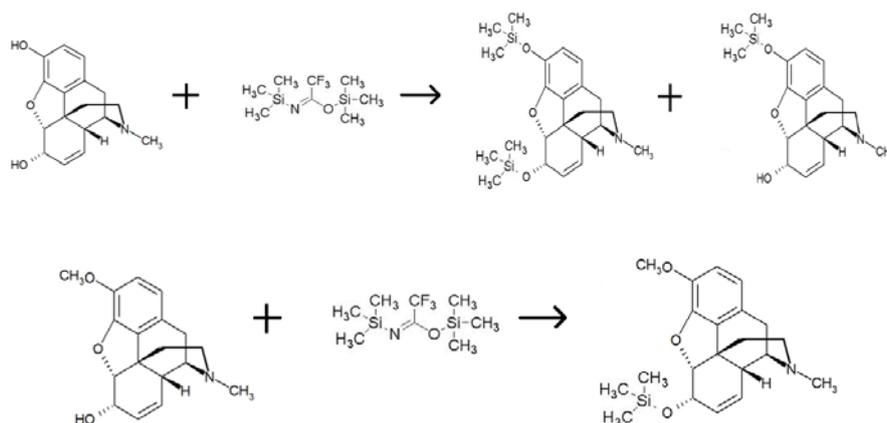
Для пробоподготовки и хроматографического анализа применялись следующие реактивы: морфин гидрохлорид х.ч., кодеин фосфат х.ч., метилстеарат х.ч. (в качестве внутреннего стандарта), ацетонитрил х.ч. (в качестве растворителя), BSTFA (в качестве силилирующего агента), триэтиламин х.ч. (в качестве средообразующего агента), дистиллированная вода.

В качестве силилирующего агента был использован BSTFA:



Количественное определение кодеина и морфина проводили с использованием внутреннего стандарта, которым являлся метилстеарат.

Для получения силильных производных брали точную навеску 0,005 г морфина гидрохлорида или кодеина фосфата. К пробе в виале добавляли 0,4 мл ацетонитрила. Смесь энергично встряхивали. При этом соли морфина и кодеина выпадают в осадок. Для того чтобы разрушить их и получить растворы чистых веществ, подщелачивали среду 1 каплей триэтиламина. Добавляли 0,4 мл реактива BSTFA. Получившуюся смесь грели в термостате при температуре 60 °С в течение 15 мин. Затем добавляли 0,005 г метилстеарата.



Полученные силильные производные с помощью BSTFA качественно определялись методом газовой хроматографии с масс-селективным детектором, а количественно – методом газовой хроматографии.

Пробоподготовку проводили по указанной выше методике, вводя в приборы непосредственно 2 мкл деривата.

Хроматографирование осуществляли в следующих условиях: колонка капиллярная кварцевая длиной 12–25 м, заполненная метилсиликоновой фазой (например, OV-101), детектор пламенно-ионизационный, температура испарителя – 280 °С, детектора – 290 °С, температура колонки меняется от 200 до 280 °С со скоростью 10 град/мин. Газ-носитель – гелий (азот).

Зная точные навески кодеина и морфина, которые использовались для хроматографического анализа, определили их относительный массовый коэффициент к метилстеарату. Расчет производили по следующей формуле:

$$X = \frac{S_{xcm} \times m}{S_{cm} \times m_n} \times K \times 100,$$

где S_x – площадь пика силильного производного морфина; S_{cm} – площадь пика внутреннего стандарта (метилстеарата); m_{cm} – масса внутреннего стандарта, мг; m_n – масса исходной пробы, мг; K – относительный массовый коэффициент.

Данные по хроматографическому определению кодеина и морфина подвергали статистической обработке с определением критерия значимости по Стьюденту.

Результаты и обсуждение. Полученные значения площадей пиков при хроматографическом определении морфина и кодеина приведены в табл. 2 и 3.

В табл. 4 приведен перерасчет относительных массовых коэффициентов кодеина и морфина к метилстеарату.

При получении силильных производных с помощью BSTFA относительный массовый коэффициент получается больше (0,99 для кодеина и 0,97 для морфина), чем при получении их по утвержденной методике (0,96 для кодеина и 0,94 для морфина). Это показывает, что силилирование проходит более полно, а значит, и чувствительность определения значительно выше.

Таблица 2

Средняя площадь пиков при хроматографическом определении морфина

Вещество	Повторность, n							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Морфин	3273,2	3301,9	3245,4	3174,9	3290,6	3256,9	3203,7	3261,3
Метилстеарат	2506,3	2456,3	2521,2	2503,6	2428,7	2569,4	2399,9	2530,6

Таблица 3

Средняя площадь пиков при хроматографическом определении кодеина

Вещество	Повторность, n							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Кодеин	3427,6	3357,9	3245,4	3400,9	3394,5	3230,9	3422,7	3395,3
Метилстеарат	2059,5	2090,4	2020,9	2072,6	2040,7	2039,9	2093,3	2032,6

Таблица 4

Пересчет относительных массовых коэффициентов

Вещество	Повторность, n								Среднее значение, m
	1	2	3	4	5	6	7	8	
Морфин	0,97	0,96	0,98	0,97	0,96	0,99	0,96	0,97	0,97
Кодеин	1,005	1,01	0,94	1,04	0,96	0,97	1,07	0,93	0,99

Заключение. По результатам проведенных исследований сделаны выводы о возможности и целесообразности использования разработанной методики получения силильных производных кодеина и морфина.

Были выявлены преимущества разработанного метода получения силильных производных:

1. Относительный массовый коэффициент получается больше, чем при получении их по утвержденной методике. Это показывает, что силилирование проходит более полно, а значит, и чувствительность определения повышается.

2. Время, затрачиваемое на проведение пробоподготовки, сокращается более чем в 3 раза.

3. Уменьшение количества реагентов, используемых в получении силильных производных, увеличивает чистоту получаемых хроматограмм, которые не засоряются лишними пиками.

Недостатком данного метода можно считать то, что реактив BSTFA, будучи активным силилирующим агентом, силилирует все задержавшиеся в колонке вещества. Поэтому после его применения необходимо чистить колонку, вводя холостую пробу, и проверять остаточную память колонки перед проведением каждого анализа.

1. *Веселовская, Н.В.* Наркотики / Н.В. Веселовская, А.Е. Коваленко. – М. : Триада – X, 2000. – 204 с.

2. *Голиков, С.Н.* Общие механизмы токсического действия. / С.Н. Голиков, И.В. Саноцкий, Л.А. Тиунов. – Л. : Медицина, 1986. – 279 с.

3. *Катаев, С.С.* Определение дезоморфина в моче / С.С. Катаев, Н.Б. Зеленинин, Е.А. Шилова // Проблемы экспертизы в медицине. – 2007. – №1. – С. 32–36.

4. Криминалистическое исследование опийного и масличного маков / А.В. Гаевский и др. – М. : Высш. шк., 1991. – 248 с.

5. *Лужников, Е.А.* Клиническая токсикология / Е.А. Лужников. – М. : Медицина, 1999. – 416 с.

6. *Мелентьев, А.Б.* Определение морфина и кодеина в крови в виде их пропионовых эфиров методом газовой хроматографии – масс-спектрометрии / А.Б. Мелентьев // Журн. аналитической химии. – 2004. – Т. 59, №6. – С. 637–641.

7. Методические рекомендации по исследованию веществ не установленной природы на принадлежность к наркотическим средствам, психотропным, сильнодействующим и ядовитым веществам с использованием методов капельных аналитических (цветных химических) реакций и тонкослойной хроматографии. – Ульяновск : Отдел специальных экспертиз ЭКЦ УВД, 2007. – 35 с.

8. *Нестерова, Е.Н.* Основы токсикологии : учебное пособие для студентов / Е.Н. Нестерова. – Брянск : Изд-во Брянской гос. инженерно-технологической академии, 2006. – 51 с.

9. *Савчук, С.А.* Разработка и применение унифицированных методов хроматографического анализа в системе химико-токсикологических и судебно-химических лабораторий / С.А. Савчук. – М. : ЭКУ Госнарконтроля России, 2003. – 21 с.

10. Сборник методических рекомендаций по криминалистическому исследованию наркотических средств и психотропных веществ. – М. : ЭКЦ МВД, 2004. – 200 с.

11. *Симонов, Е.А.* Метод тонкослойной хроматографии в исследовании наркотиков / Е.А. Симонов. – М. : ЭКУ Госнарконтроля России, 2003. – 20 с.

CHROMATOGRAPHIC DETERMINATION OF SILYLIC DERIVATIVES OF CODEINE AND MORPHINE

L.A. Mikheeva, P.N. Pimonova, L.F. Enikeeva, O.V. Frolova

Ulyanovsk State University

In this article the method of receiving the silylic derivatives of codeine and morphine is considered. The method of gas chromatography with BSTFA-reagent was used for quantitative determination. The advantages of receiving the derivatives and the lacks of using the method were analyzed.

Keywords: morphine, codeine, desomorphin, medical products, a derivation, silyl derivatives, BSTFA.