

## اندازه گیری و تعیین مقدار مرفین در ادرار انسان با سنین مختلف و ماده مخدر استعمال شده متفاوت، به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا

سعید شهابی<sup>۱</sup>، علی مراد کرمی<sup>۲</sup>، محمدرضا با عزت<sup>۳</sup>، علی اصغر امیری<sup>۴</sup>

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۵/۱۱

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۹/۲۴

### چکیده

**هدف:** مرفین از جمله مواد مخدر است که از آلکالوئیدها و اجزای مهم تریاک می باشد. اگر این ماده به صورت ناقص تهیه شود به رنگ های متفاوتی ظاهر می شود. لذا از روی رنگ آن نمی شود این ماده را شناسایی کرد. **روش:** در این مطالعه از افرادی که به مواد مخدر اعتیاد داشتند و دارای شرایط لازم جهت اخذ نمونه ادراری بودند دعوت به عمل آمد. پس از استخراج مرفین از نمونه ها به روش سم کروم، غلظت های استاندارد مختلفی از آن به دستگاه HPLC تزریق گردید و نمودارهای به دست آمده مورد تحلیل قرار گرفتند. در این مطالعه تغییراتی در روش کار جهت بهیئگی فرایند اندازه گیری و تعیین مرفین در ادرار انسان صورت گردید. **یافته ها:** مشخص شد میزان مرفین موجود در نمونه ها به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا قابل اندازه گیری بوده و همچنین می توان میزان ناخالصی های موجود در مواد مخدر که ممکن است از خود مرفین خطرناک تر باشد را تعیین کرد. **نتیجه گیری:** از این روش می توان برای تشخیص استفاده کرد.

**کلیدواژه ها:** مواد مخدر، مرفین، کروماتوگرافی، اعتیاد

۱. نویسنده مسئول: دانشجوی دکتری زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارسنجان، ارسنجان، پست الکترونیک:

shahabi1391@yahoo.com

۲. کارشناسی ارشد شیمی تجزیه، ستاد مبارزه با مواد مخدر استان فارس، شیراز، ایران  
۳. دکتری شیمی تجزیه، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد فیروزآباد، فیروزآباد  
۴. دکتری شیمی تجزیه، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد فیروزآباد، فیروزآباد

## مقدمه

امروزه پدیده مواد مخدر و اعتیاد، دیگر یک آسیب اجتماعی تلقی نمی گردد، بلکه به یک معضل تهدید کننده امنیت جهانی تبدیل شده است. تولید مواد شیمیایی و تغییر تدریجی الگوی مصرف مواد مخدر از حالت طبیعی به شیمیایی نیز یک خطر بزرگ است. بی شک شکسته شدن مرزهای جغرافیایی و مرزهای دانش بشری علیرغم تمام فواید و محاسن، در حوزه مواد مخدر باعث تنوع و تکثیر کمی و کیفی آن شده است تا جایی که علاوه بر کشت خشخاش و تولید هروئین در افغانستان، مواد مخدر صنعتی نیز در سایر نقاط جهان تولید می شود (طاهری نخست، ۱۳۷۸؛ احسان منش و کریمی، ۱۳۷۸). مرفین از آلکالوئیدها و اجزای مهم تریاک بوده و ۷ تا ۱۴ درصد آن را تشکیل می دهد. این ماده شیمیایی در آب غیر حلال بوده و به صورت پودر کریستالی به رنگ سفید مایل به کرم و گاهی نیز قهوه ای کم رنگ است. اگر این ماده به صورت ناقص تهیه شود رنگ های متفاوتی خواهد داشت. لذا از روی رنگ آن نمی توان این ماده را شناسایی کرد. هروئین ماده مخدر دیگری است که با عمل تقطیر از مرفین استخراج می شود. از هریک کیلو مرفین ۹۰۰ گرم هروئین بدست می آید که ۳ تا ۵ برابر قویتر از مرفین است (اختر محقق، ۱۳۸۵).

۱۰۸

108

در این مطالعه روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا جهت استخراج مرفین از نمونه های ادراری با یک سری تغییرات در روش کار مورد آزمایش قرار گرفت. این روش مشکلات مربوط به آنالیز نمونه ها توسط کروماتوگرافی گازی مانند تخریب نمونه ها در دمای بالا و مشکل آنالیز در روش های تعیین پروفایل ناخالصی را حل نموده است. پیشرفت موفقیت آمیز کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا از ابتدای سال ۱۹۸۰ شروع شد و متقاضیان زیادی پیدا کرد به طوری که کاربران خواهان جداسازی ای خوب بودند. اکثر ستون های کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا از فولاد زنگ نزن نوع ۳۱۶ ساخته شده اند که فولاد اوستیتی کروم - نیکل - مولیبدن می باشد و در برابر فشار معمولی کروماتوگرافی

مایع با کارایی بالا مقاوم و همچنین نسبت به خوردگی شیمیایی نسبتاً بی اثر است (اسکوگ، نیمن و هالر<sup>۱</sup>، ۱۹۹۸؛ روساک<sup>۲</sup> و روساک، ۲۰۰۷؛ شفیع، ۱۳۷۳).

تاکنون روش‌های زیادی برای استخراج مرفین و کدئین از خون و ادرار انسان صورت گرفته است (یامادا و اگوری<sup>۳</sup>، ۲۰۰۵). تقوی و همکاران در سال ۱۳۸۱ روش فاز مایع<sup>۴</sup> مایع با بازیافت بالا را برای استخراج کدئین از ادرار انسان به کار بردند و از لحاظ کمی توسط گاز کروماتوگرافی مورد بررسی قرار دادند (تقوی، ناظری، سبزواری، فکری و افشار، ۱۳۸۱). آن‌ها به این نتیجه رسیدند که با توجه به بازیافت بالا و حساسیت قابل قبول، می‌توان از این روش برای استخراج کدئین (و مرفین) سود جست. تقوی و همکاران در سال ۱۳۸۲ روش‌های مایع-مایع و فاز جامد را برای استخراج مرفین از ادرار انسان به کار بردند و توسط دانسیتومتر اسکنر لیزری مورد مقایسه قرار دادند. در هر دو روش غلظت به دست آمده در مورد مرفین در حالت هیدرولیز شده بیشتر از حالت هیدرولیز نشده بود (تقوی، ناظری، سبزواری، فکری و افشار، ۱۳۸۲). امروزه روش کروماتوگرافی مایع با کاری بالا با تغییرات جزئی و همراه با روش‌های جانبی جهت تشخیص و اندازه‌گیری مرفین به کار می‌رود (روزیلواتی، یوسفی، راملی، حسین و رسول<sup>۵</sup>، ۱۹۹۴؛ اسکانبرگ، گروبوچ، لمپ و لوفت<sup>۶</sup>، ۲۰۰۶).

در مطالعه حاضر میزان مرفین در نمونه‌های به دست آمده از افراد معتاد به مواد مخدر، و همچنین طول عمر ترکیبات مرفین پس از مصرف به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا اندازه‌گیری و متابولیزاسیون حاصل از مصرف تریاک و هروئین مورد مقایسه قرار گرفت. همچنین میزان مرفین موجود در نمونه با توجه به گذشت زمان (تخمین زمان مصرف) و نوع ماده مخدر مصرفی نیز مورد مطالعه قرار گرفت. در واقع هدف از این تحقیق بررسی و آزمودن روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا جهت استخراج مرفین از ادرار انسان با توجه به ماده مخدر مصرفی و سن افراد بود. هدف دیگر، بررسی و آزمودن این روش جهت تشخیص نوع ماده مصرفی و ناخالصی‌های ماده مصرفی در افراد

1. Skoog, Holler & Nieman
2. Rouessac
3. Yamada & Oguri
4. Ruzilawati, Yusuf, Ramli, Hussain & Rasool
5. Schönberg, Grobosch, Lampe, Kloft

معتاد به مواد مخدر و در کل کاربرد آن از جنبه پلیسی در صحنه‌های کشف مواد مخدر و ارتباط بین نمونه‌های مختلف کشف شده و فرد دستگیر شده بود.

## روش

### جامعه، نمونه و روش نمونه‌گیری

استاندارد مرفین و کدئین و حلال‌های متانول استونیتریل با درجه خلوص بالا از شرکت مرک خریداری شدند. و حلال‌های دیگر مانند الکل متیلیک، استون بدون هیچ خالص - سازی مورد استفاده قرار گرفتند. تمامی آزمایشات با استفاده از آب مقطر بدون یون (دو بار تقطیر) انجام شد.

دستگاه‌های مورد استفاده عبارت بودند از: سیستم کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا دارای سیستم گاززدایی با گاز هلیم، یک شیر تزریق شش قستی مدل با لوب ۱۰ میکرولیتری، یک آشکار ساز فلورسانسی چند طول موجی و یک ستون تجزیه‌ای (  $60\text{\AA}$ , 4 m, )  $9\text{mm}.150\times 3$  ) با ستون محافظ (  $60$  آنگستروم و  $20\times 3$  میلی‌متر). سیستم فیلتراسیون تمام شیشه‌ای به منظور فیلتر کردن حلال‌های فاز متحرک به کار رفت. از فیلتر غشایی<sup>۱</sup> برای فیلتر کردن حلال‌ها و فیلتر سرنگی  $0/45$  میکرو متر برای فیلتر کردن نمونه‌ها استفاده شد.

از آنجایی که در این مطالعه تهیه نمونه جهت آزمایشات کار بسیار مشکلی بود ولی با استقبال و همکاری پلیس مبارزه با مواد مخدر استان فارس مجوز تحقیق از بین مددجویان حاضر در آن مرکز صادر و تحقیق آغاز گردید. این افراد از موضوع تحقیق کاملاً مطلع و با رضایت کامل آن‌ها نمونه اخذ شد. لازم به توضیح است که هیچگونه مواد مخدري در اختیار این افراد قرار نگرفت بلکه این افراد از افرادی بودند که خود قبلاً مواد مخدر مصرف نموده بودند و به طرق مختلف تحت نظر پلیس مبارزه با مواد مخدر قرار گرفته بودند که انتخاب آنها حدود سه ماه به طول انجامید و در این سه ماه از کل افرادی که به مرکز منتقل می‌شدند تحقیق به عمل می‌آمد.

در این تحقیق از برخی افراد با شرایط لازم جهت اخذ نمونه دعوت به عمل آمد که به دلایل مختلفی از قبیل: میزان مصرف مواد مخدر، نوع مواد مصرفی، زمان مصرف، سن افراد و غیره، از بین آنها فقط پنج نفر با سنین ۲۴، ۲۶، ۳۰، ۵۰ و ۵۲ سال انتخاب شدند. فردی که ۳۰ سال سن داشت به ترتیب ۵، ۱۲، ۲۴ و ۳۶ ساعت بعد از مصرف مواد مخدر، از ادرار او نمونه گیری شد. از فرد ۲۴ ساله حدوداً ۷۶ ساعت بعد از مصرف هرئین، فرد ۲۶ ساله ۳۶ ساعت بعد از مصرف تریاک، فرد ۵۲ ساله ۳۶ ساعت بعد از مصرف هرئین و فردی که ۵۰ سال سن داشت ۲۴ ساعت پس از مصرف تریاک از ادرار آن‌ها نمونه برداری انجام گردید.

مقدار نمونه ادراری جهت هر بار آزمایش، ۱۰ میلی لیتر بود. دمای نمونه صرفاً در آزمایشگاه‌های تشخیص اعتیاد مساله‌ای بسیار مهم تلقی می‌شود و دمای نمونه بایستی با دمای بدن انسان تقریباً برابر باشد. بایستی نمونه گیر از عاری بودن نمونه از رنگ‌های اضافی (مخلوط شده با نمونه) مطلع باشد و نمونه عاری از هرگونه رنگ و یا مواد افزوده باشد. در این تحقیق نمونه با PH های مختلف مورد آزمایش قرار گرفت که مطلوب‌ترین آن، بین ۸/۵<sup>۰</sup> تا ۴/۵<sup>۰</sup> انتخاب گردید. وزن مخصوص نمونه نبایستی کمتر از ۱/۰۰۴ باشد و غلظت کراتین آن نبایستی از ۲۰ دسی لیتر/ میلی گرم تجاوز نماید.

در این مطالعه از روش سم کروم (کیت تشخیص مرفین- کدئین) استفاده شد که در آن داروهای زیرمورد بررسی قرار گرفت و در هیچ یک از آنها تداخل دارویی مشاهده نشد. این داروها عبارت بودند از: ادالت کلد<sup>۱</sup>، کلودیازپوکساید<sup>۲</sup>، دیکلوفناک سدیم<sup>۳</sup>، آنتی هیستامین<sup>۴</sup>، دکونژستانت<sup>۵</sup>، آمی تریپتیلین<sup>۶</sup>، استامینوفن کدئین<sup>۷</sup>، ایمی پرامین<sup>۸</sup>، کوکائین<sup>۹</sup>، حشیش<sup>۱۰</sup>، فلوکسیتین<sup>۱۱</sup>، پرفنازین<sup>۱۲</sup>، دیاپام<sup>۱۳</sup>، آتنولول<sup>۱۴</sup>، تسوفیلین<sup>۱۵</sup>، پنتازوسین<sup>۱۶</sup>،

- |                            |                     |                      |
|----------------------------|---------------------|----------------------|
| 1. Adult cold              | 2. Chlordiazepoxide | 3. Diclofenac sodium |
| 4. Antihistamine           | 5. Decongestant     | 6. Amitriptyline     |
| 7. Acetaminophen y codeine | 8. Imipramine       | 9. Kokain            |
| 10. Hashish                | 11. Fluoxetine      | 12. Perphenazine     |
| 13. Diazepam               | 14. Atenolol        | 15. Theophylline     |
| 16. Pentazocine            |                     |                      |

فنوباریتال<sup>۱</sup>، سایمتیدین<sup>۲</sup>، رانیتیدین<sup>۳</sup>، دیفنوکسیلات<sup>۴</sup>، اسپیرینولاکتون<sup>۵</sup>، متادون<sup>۶</sup>، کافئین<sup>۷</sup>، فیل بوتازون<sup>۸</sup>. در مورد سایمتیدین در غلظت بالا (حدود ۲۰ ml/μg) در نزدیکی بالای مرفین لکه‌ای ایجاد می‌شود که ممکن است روی مرفین را نیز بپوشاند. البته رنگ این لکه‌ها کاملاً زرد بوده و متفاوت با مرفین است. در صورت مشاهده چنین لکه‌هایی برای اطمینان از صحت جواب‌ها بهتر است آزمایش تکمیلی دیگری نیز با استفاده از فاز اتیل استات، متانول، آمونیاک (۵:۱۰:۸۵) استفاده شود.

برای استخراج مرفین از نمونه بایستی نمونه با یکسری محلول‌های شیمیایی که در زیر به آنها اشاره می‌شود وارد ستون کروماتوگرافی شده و از آن عبور داده شود. در این تحقیق از ستون‌های کروماتوگرافی سم کروم (کیت تشخیص مرفین-کدئین) استفاده شد. هر بسته کیت سم کروم تشخیص مرفین حاوی پودر A<sub>1</sub>، A<sub>2</sub> به عنوان فعال‌ساز و پودر B به عنوان ماده ثبوت می‌باشد. برای تهیه بافر A، می‌بایستی یک ویال از پودر A<sub>1</sub> در ۱۰۰ میلی-لیتر آب مقطر در دمای اتاق حل می‌شد. محلول A<sub>2</sub> نیز به همین ترتیب درست می‌شد. سپس ۱۰ میلی‌لیتر از محلول A<sub>1</sub> و ۹۰ میلی‌لیتر از محلول A<sub>2</sub> را با هم مخلوط کرده و به هم می‌زدیم تا بافر A آماده شود. برای تهیه بافر B، یک ویال از پودر B موجود در بسته سم کروم در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل می‌شد. بافرها بایستی یک ساعت قبل از شروع آزمایش تهیه شوند. این بافرها در شرایط آزمایشگاهی ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت یک هفته پایدارند. ستون‌های کروماتوگرافی در حفره‌های دریچه‌ی محافظه خلاء قرار داده می‌شدند. فشار پمپ تا حدود ۰/۳-۰/۲ بار تنظیم و سپس پمپ خاموش می‌شد. فاصله بین پنبه و رزین داخل ستون به آرامی توسط یک میله شیشه‌ای از بین برده می‌شد (استفاده از میله شیشه‌ای به خاطر عدم ایجاد بار الکتریکی بود). مقدار ۳ میلی‌لیتر بافر A تهیه شده با PH حدود ۸/۵ به ستون استخراج اضافه می‌شد. پس از حدود ۲ دقیقه دوباره پمپ خلاء را روشن کرده و فشار آن در ۱/۰ bar تنظیم می‌شد. سپس مقدار ۱۰ میلی‌لیتر از نمونه‌های

1. Phenobarbital  
4. Diphenoxylate  
7. Caffeine

2. Cimetidine  
5. Spironolactone  
8. Phenylbutazone

3. Ranitidine  
6. Methadone

موجود (نمونه‌ها به صورت کد گذاری شده) را به هر یک از ستون‌ها اضافه کرده و فشار پمپ خلاء نیز تا تخلیه‌ی کامل نمونه برای مقدار قبل ثابت می‌شد (1/0 bar). پس از تخلیه‌ی کامل، پنبه‌ی درون هر ستون برداشته شده و به هر ستون استخراج مقدار ۵ میلی-لیتر بافر B با PH حدوداً هشت اضافه می‌شد تا تخلیه‌ی کامل صورت گیرد (فشار برای مقدار قبل ثابت بود). پس از تخلیه‌ی بافرها، فشار پمپ خلاء را تا ۳/۰ bar افزایش داده و حدود ۱۵ دقیقه انتظار می‌کشیدیم تا عمل تخلیه و خشک شدن به‌خوبی انجام گیرد. ستون‌های استخراج را در جا لوله‌ای مخصوص قرار داده و نوک آن‌ها را در بشرهای انگشتانه‌ای که بر روی هات پلیت چیده شده بودند تنظیم می‌کردیم. به هر ستون مقدار سه میلی‌لیتر حلال الکل متلیک اضافه کرده تا عمل استخراج صورت گیرد. عمل استخراج که با تبخیر صورت می‌گرفت حدود ۱۵ دقیقه به طول می‌انجامید و پس از عمل استخراج و تبخیر، بشرها از روی هات پلیت برداشته می‌شدند. حاصل استخراج با چند قطره الکل متلیک مخلوط و به دستگاه اچ پی ال سی تزریق می‌شد.

۱۱۳

113

همه جداسازی‌ها و اندازه‌گیری‌ها روی ستون نواک سی ۱۸، در دمای اتاق انجام گرفت. مد شویسی ایزوکراتیک با فاز متحرک استونیتریل-آب (35-65 %V/V) با سرعت جریان یک میلی‌لیتر بر دقیقه به کار گرفته شد. همه فازهای متحرک از طریق فیلترهای غشایی<sup>۱</sup> مناسب فیلتر شدند. طول موج تحریکی و نشری به ترتیب ۲۳۵ و ۳۵۰ نانومتر انتخاب شد. همه نمونه‌ها قبل از تزریق به HPLC از فیلترهای سرنگی ۰۴۵ عبور داده شدند.

رایج‌ترین حلال‌های مورد استفاده در کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا در فاز معکوس، آب، استونیتریل، متانول، تتراهیدروفوران بودند که معمولاً به‌صورت دوتایی یا سه‌تایی بعنوان فاز متحرک استفاده می‌شوند. در همین راستا جهت دستیابی به زمان آنالیز کمتر و تفکیک خوب بین پیک‌ها، فازهای متحرک متفاوتی متشکل از نسبت‌های حجمی مختلف آب- استونیتریل و آب- متانول مورد بررسی قرار گرفت. نسبت‌های حجمی ۳۰-۸۰، ۳۰-۷۵، ۳۵-۶۵، ۴۰-۵۰، ۴۰-۶۰ (V/V) از مخلوط‌های دوتایی آب- استونیتریل و آب- متانول

با برنامه ریزی پمپ‌های دستگاه به ستون تجزیه‌ای، تزریق و کروماتوگرام‌های حاصله از محصول استاندارد ترکیبات مرفین در آنها بررسی شد.

## یافته‌ها

نتایج نشان داد فاز متحرک آب-استونیتریل با نسبت حجمی (v/v) ۶۵-۳۵، بهترین تفکیک بین پیک‌ها را نتیجه می‌دهد. از طرفی پلاریته فاز متحرک در حدی است که ترکیبات مزاحم قطبی سریع از ستون شسته شده و با پیک آنالیت‌ها همپوشانی نمی‌کنند. بنابراین با وجود گران تر بودن حلال استونیتریل نسبت به متانول، حلال استونیتریل به عنوان اصلاح کننده آلی فاز متحرک انتخاب شد. حلال ترا هیدرو فوران به علت خصوصیات سمی زیاد، مورد استفاده قرار نگرفت. در فازهای متحرک که مقدار آب بیش تر از ۴۰ درصد حجمی است جداسازی و تفکیک بین پیک‌ها بیشتر می‌شود ولی چون زمان آنالیز طولانی تر و پیک‌ها تحت تاثیر پهن شدگی قرار می‌گیرند همان ۳۵٪ آب انتخاب شد. سرعت جریان فاز متحرک نیز یکی از پارامترهای مهم در دستیابی به شرایط جداسازی بهتر می‌باشد لذا سرعت جریان‌های ۰/۸، ۰/۹، ۱/۱ و ۱/۲ میلی لیتر بر دقیقه مورد ارزیابی قرار گرفت و سرعت جریان یک میلی لیتر بر دقیقه که در اکثر آنالیزهای کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا به کار می‌رود، به عنوان سرعت جریان بهینه انتخاب شد. در سرعت جریان‌های بالاتر پیک‌ها با هم همپوشانی می‌کنند و در سرعت جریان‌های پایین تر، تفکیک بین پیک‌ها بهتر می‌شود ولی چون زمان آنالیز طولانی تر شده مورد استفاده قرار نمی‌گیرد. نتایج حاصل از تزریق مرفین استخراج شده از نمونه‌های مختلف به دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا در جدول ۱ ارائه شده است.



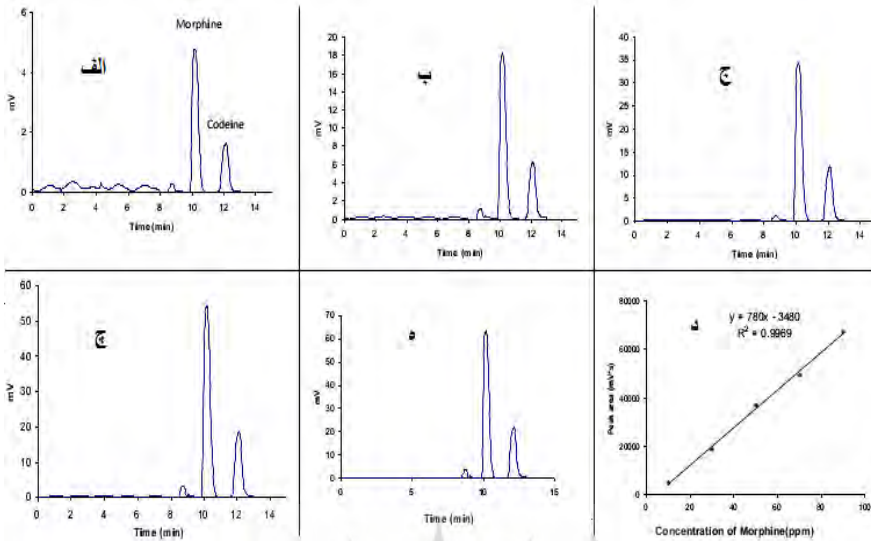
جدول ۱: نتایج تزریق مرفین استخراج شده از نمونه‌های مختلف به دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا

مقدار مرفین بر حسب ppm	RSD%	تکرار سوم		تکرار دوم		تکرار اول		ماده مصرفی از زمان سپری شده پس از مصرف - ساعت	سن	نمونه
		زمان بازداري - دقیقه	سطح پیک مرفین	زمان بازداري - دقیقه	سطح زیر پیک مرفین	زمان بازداري - دقیقه	سطح پیک مرفین			
۷۹/۳۱	۱/۱۲	۹/۸۵	۹/۷۱	۹/۹۱	۵۸۲۹۰	۹/۸۹	۵۸۹۲۰	۵ ساعت - تریاک	۳۰	A
۶۷/۶۱	۱/۴۷	۱/۲۱	۱۰/۰۷	۱۳/۱۰	۴۴۹۸۶	۹/۸۵	۴۴۸۸۰	۱۲ ساعت - تریاک	۳۰	B
۵۲/۶۹	۱/۵۵	۱/۴۰	۱۰/۲۰	۹/۹۰	۳۷۹۸۶	۹/۹۸	۳۷۸۶۰	تریاک - ۲۴ ساعت	۳۰	C
۱۷/۸۸	۱/۰۷	۲/۵۸	۹/۹۷	۹/۷۷	۱۰۲۲۸	۹/۹۳	۱۰۷۶۰	۳۶ ساعت - تریاک	۳۰	D
۱۶/۶۷	۱/۶۸	۳/۸۸	۹/۷۹	۹/۸۷	۹۶۹۰	۱۰/۱۱	۹۷۸۰	۴۸ ساعت - تریاک	۲۶	E
۳۰/۱۴	۲/۰۳	۲/۱۵	۹/۷۸	۹/۶۶	۲۰۱۳۰	۱۰/۰۵	۲۰۳۹۵	۷۶ ساعت - هروئین	۲۴	F
۳۳/۰۹	۱/۰۷	۲/۱۸	۹/۹۲	۹/۷۱	۲۱۸۸۲	۹/۸۳	۲۲۲۶۰	۳۶ ساعت - تریاک	۵۰	G
۴۵/۲۰	۱/۴۶	۱/۵۲	۱۰/۱۲	۹/۹۱	۳۲۲۵۲	۹/۸۴	۳۱۸۴۰	۳۶ ساعت - هروئین	۵۲	H

۱۱۵

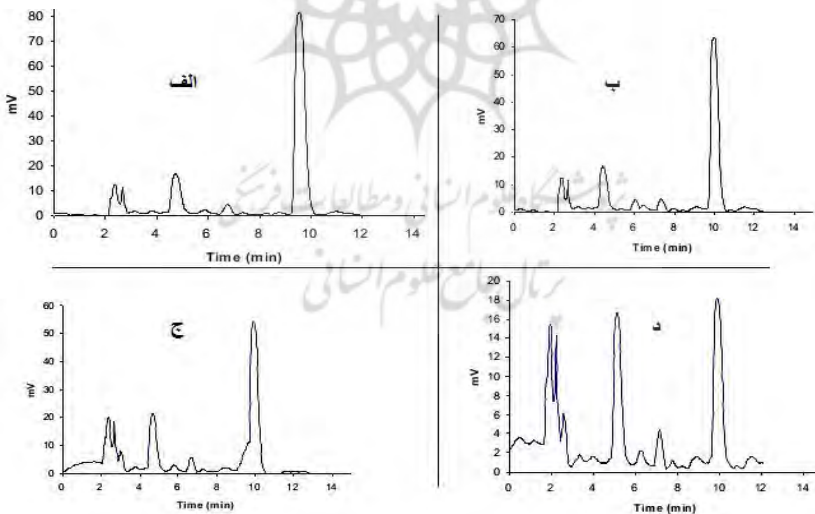
115

ابتدا غلظت‌های مختلفی از نمونه استاندارد مرفین به دستگاه اچ پی ال سی تزریق شد به طوری که در غلظت‌های ۱۰ ppm، ۳۰ ppm، ۵۰ ppm، ۷۰ ppm و ۹۰ ppm و در زمان ۱۰ دقیقه نمودارهای ۱-الف، ۱-ب، ۱-ج، ۱-چ و ۱-د به دست آمد که بعد از آن با استفاده از مساحت زیر پیک منحنی بر حسب غلظت مرفین نمودار شکل ۱-د به دست آمد که به منحنی کالیبراسیون معروف است. در این منحنی محور  $y$  بر اساس میلی‌ولت و محور  $x$  آن بر اساس غلظت مرفین رسم شد و خط راستی به دست آمد که معادله خط آن به صورت  $y = -3480 \times 780$  می‌باشد که در آن  $y$  منحنی زیر پیک به دست آمده در غلظت‌های مختلف مرفین تزریق شده به دستگاه می‌باشد که با محاسبه منحنی زیر پیک به دست می‌آید و با قرار دادن آن در معادله منحنی کالیبراسیون،  $x$  که همان غلظت مرفین است به دست می‌آید.



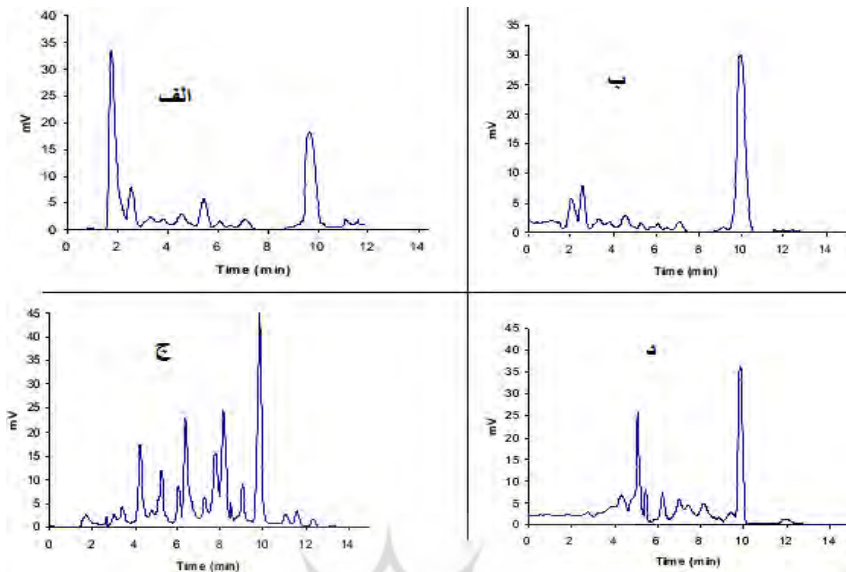
نمودار ۱: الف) کروماتوگرام محلول استاندارد ۱۰ ppm مرفین ب) ۳۰ مرفین، ج) ۵۰ ppm مرفین، چ) ۷۰ ppm مرفین، د) ۹۰ ppm مرفین، و) منحنی کالیبراسیون (سرعت جریان یک میلی لیتر بر دقیقه، فاز متحرک ۶۵:۳۵ آب-استونیتریل، ستون نواک<sup>۱</sup> C<sub>18</sub>)

۱۱۶  
116



نمودار ۲: کروماتوگرام فرد ۳۰ ساله الف) پنج ساعت، ب) ۱۲ ساعت، ج) ۲۴ ساعت، د) ۳۶ ساعت بعد از مصرف تریاک (سرعت جریان یک میلی لیتر بر دقیقه، فاز متحرک ۶۵:۳۵ آب-استونیتریل، ستون نواک<sup>۱</sup> C<sub>18</sub>)

سال نهم، شماره ۳۳، بهار ۱۳۹۴  
Vol. 9, No. 33, Spring 2015



نمودار ۳: کروماتوگرام فرد ۲۴ ساله ۷۲ ساعت بعد از مصرف تریاک، (ب) کروماتوگرام فرد ۲۶ ساله ۴۸ ساعت بعد از مصرف هروئین، (ج) کروماتوگرام فرد ۵۲ ساله ۳۶ ساعت بعد از مصرف هروئین، و (د) کروماتوگرام فرد ۵۰ ساله ۳۶ ساعت بعد از مصرف تریاک (سرعت جریان یک میلی لیتر بر دقیقه، فاز متحرک ۶۵:۳۵ آب - استونیتریل، ستون نوک C18)

همان گونه که از نمودارهای به دست آمده هویدا است تاثیر مواد خوراکی مصرف شده (با توجه به متفاوت بودن افراد) در نمونه کمترین تاثیر را در محصول استخراج داشته است. نمودار ۲-الف، ۲-ب، ۲-ج و ۲-د، کروماتوگرام حاصل از تزریق مرفین به دستگاه اچ پی ال سی در نمونه‌های استخراج شده از افراد ۳۰ ساله را به ترتیب ۵، ۱۲، ۲۴ و ۳۶ ساعت بعد از مصرف تریاک را نشان می‌دهند. نمودار ۳ کروماتوگرام افراد ۲۴، ۲۶، ۵۰ و ۵۲ ساله را نشان می‌دهد.

### بحث و نتیجه گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که میزان مرفین موجود در نمونه با این روش تنظیم شده کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا قابل اندازه گیری است. همچنین نتایج به خوبی نشان داد که در راستای اهداف تحقیق میزان ناخالصی‌های موجود در مواد مخدر، میزان ماندن مرفین در بدن افراد مصرف کننده ماده مخدر در فاصله‌های زمانی معین قابل تخمین است.

همچنین می توان رابطه میزان مرفین و سن افراد در یک بازه زمانی پس از مصرف مواد مخدر را بدست آورد. در بررسی نتایج به دست آمده از میزان مرفین موجود در نمونه چنین استنباط گردید که رابطه مستقیمی بین گذشت زمان از مصرف مرفین و میزان ماندن مرفین در بدن وجود دارد. از این رو میزان مرفین استخراج شده در فواصل زمانی پس از مصرف، سیر نزولی داشته است. به طوری که بعد از گذشت پنج ساعت از زمان مصرف مقدار مرفین به  $79/31$  ppm، بعد از گذشت ۱۲ ساعت از زمان مصرف تریاک مقدار مرفین استخراج شده در نمونه به  $61/67$  ppm، بعد از گذشت ۲۴ ساعت از زمان مصرف مقدار مرفین استخراج شده در نمونه به  $52/69$  ppm و بعد از گذشت ۳۶ ساعت از زمان مصرف تریاک مقدار مرفین استخراج شده در نمونه به  $17/88$  ppm رسیده است. این نتایج مربوط به فردی ۳۰ ساله بود که مواد مخدر مصرفی وی از نوع تریاک بوده است که بر این اساس در چهار زمان مختلف نتیجه به دست آمده نموداری منظم را نمایش می دهد. شکل ۳ کروماتوگرام مرفین استخراج شده در دو فرد ۵۲ و ۵۰ ساله را نشان می دهد که فاصله سنی آن ها نزدیک به هم است با این تفاوت که فرد ۵۲ ساله هروئین مصرف کرده بود و بعد از ۳۶ ساعت نمونه او مورد آزمایش قرار گرفت و مرفین آن استخراج گردید که پس از محاسبه به میزان  $45/20$  ppm رسید. ولی فرد ۵۰ ساله تریاک مصرف کرده بود و بعد از ۳۶ ساعت میزان مرفین استخراج شده از نمونه وی محاسبه و به میزان  $33/09$  ppm رسیده بود. لذا با وجود اینکه هر دو نفر در مدت زمانی برابر پس از مصرف، نمونه داده اند و فاصله سنی نزدیک به هم داشته اند ولی میزان مرفین موجود در فرد ۵۲ ساله حدود  $12$  ppm بیشتر بوده است و علت آن در میزان مرفین موجود در مواد مصرفی بوده که مواد مصرفی در فرد ۵۲ ساله هروئین ولی در فرد ۵۰ ساله مواد مصرف شده تریاک بوده است. میزان مرفین موجود در هروئین بیشتر از میزان مرفین موجود در تریاک و متابولیزه شدن هروئین در بدن نسبت به تریاک سریع تر است.

از جنبه پلیسی با تجزیه و تحلیل داده ها می توان نتایجی را در صحنه های کشف مواد مخدر و ارتباط بین نمونه های مختلف کشف شده و فرد دستگیر شده به دست آورد. نتایج حاصل از چنین تحقیقی می تواند در تشخیص مالکیت مواد مخدر کشف شده در مکان-

های مختلف، تخمین مکان جغرافیایی تولید یا توزیع مواد مخدر بر اساس آنالیز ترکیبات مواد مکشوفه، اولویت بندی اخذ نمونه از افراد در شرایط خاص، اثبات اظهارات مجرمین در مصرف مواد روانگردان و حالت غیر طبیعی در زمان ارتکاب به جرم، تشخیص نوع مواد مصرفی و ارتباط مظنونین با صحنه جنایی، کمک کننده و مفید واقع شود. تریاک و مشتقات آن مانند هرویین، مرفین، و کدئین از صمغ خشخاش به دست می آید، هرویین به سرعت متابولیزه شده و به مرفین تبدیل می شود. از این رو می توان هر دو ترکیب مرفین و گلیکواورونید مرفین را در نمونه ادراری افراد مصرف کننده هرویین یافت. بدین ترتیب وجود مرفین و یا متابولیت آن در نمونه اخذ شده از افراد بیانگر استفاده از هرویین و مرفین است. با آغاز علم شیمی، بشر استفاده های متفاوتی از آن داشته که یکی از آن ها در شناخت آلکالوئیدهای تریاک به خصوص مرفین در نمونه های بیولوژیک بوده است. دفع مرفین توسط قسمت های مختلف بدن با افزایش سن کاهش می یابد یعنی با افزایش سن، متابولیسم قسمت های مختلف بدن سیر نزولی داشته و عملکرد آن کاهش می یابد از این رو دفع مرفین نیز کاهش پیدا می کند که دلیل آن به کاهش عملکرد اجزای بدن با افزایش سن بر می گردد. با بررسی میزان مرفین دفع شده در افراد چنین استنباط می شود که در یک فرد با گذشت زمان میزان دفع مرفین کاهش پیدا می کند و این موضوع به تجزیه مرفین در بدن به مواد دیگر و کاهش میزان اولیه موجود در بدن بر می گردد. در مقایسه میزان مرفین دفع شده در افراد با سنین تقریباً برابر ولی با نوع مواد اولیه مصرفی متفاوت، چنین استنباط می شود که هر اندازه میزان مرفین مواد اولیه مصرفی بیشتر باشد به همان میزان مقدار دفع مرفین در نمونه بیولوژیک خارج شده از بدن بیشتر خواهد بود. بنابراین، می توان تا حدودی نوع مواد اولیه مصرفی در افراد را حدس زد. با بررسی نوع و میزان مرفین موجود در نمونه بیولوژیک می توان رابطه بین افراد مختلف در صحنه های جنایی مجهول و جرائم مجهول پلیسی را رقم زد. انجام تحقیقات مشابه در افراد دارای بیماری های خاص، بررسی میزان مرفین با گذشت زمان بر اساس جنسیت نمونه، و همچنین انجام تحقیق مشابه در شرایط محیطی متفاوت و با نمونه اخذ شده از خون یا بزاق افراد پیشنهاد می شود.

## منابع

- طاهری نخست، حمیدرضا (۱۳۷۸). روند جهانی سوء مصرف مواد مخدر، فصلنامه تازه‌های علوم شناختی، ۱(۲)، ۳۰-۲۲
- تقوی، سید عباس؛ ناظری، سید علی، سبزواری، امید؛ فکری، منیره و افشار، مهشید (۱۳۸۱). استخراج کدئین از ادرار انسان به کمک فاز مایع-مایع با بازیافت بالا و بررسی کمی آن توسط گاز کروماتوگرافی، پژوهش در پزشکی، ۲۶(۴)، ۲۹۰-۲۸۷
- تقوی، سید عباس؛ ناظری، سید علی، سبزواری، امید؛ فکری، منیره و افشار، مهشید (۱۳۸۲). استخراج مرفین از ادرار انسان به کمک روش‌های مایع-مایع و فاز جامد و مقایسه آن‌ها توسط دانسیتومیتراسنکتر لیزری، پژوهش در پزشکی، ۲۷(۱)، ۲۷-۲۳
- شفیعی، عباس (۱۳۷۳). *کروماتوگرافی و طیف سنجی*. تهران: انتشارات دانشگاه تهران،
- احسان منش، مجتبی و کریمی، عیسی (۱۳۷۸). نگاهی به تاریخچه و برخی پژوهش‌های انجام گرفته در زمینه اعتیاد در ایران، فصلنامه اندیشه و رفتار، ۵(۳)، ۱۰۰-۶۲
- اختر محقق، مهدی (۱۳۸۵). جامعه شناسی اعتیاد. تهران: نشر مولف
- Skoog, D. A., Holler, F. J., & Nieman, T. A. (1998). *Principles of Instrumental Analysis*. Philadelphia: Saunders College Pub
- Rouessac, F & Rouessac, A. (2007). "Chemical Analysis Modern Instrumentation Methods and Techniques" 2nd Edition, England, John Wiley & Sons Ltd.
- Yamada, H and Oguri. K. (2005). "Morphine and its analogues." *Drugs and Poisons in Humans*. Springer Berlin Heidelberg, 195-206.
- Ruzilawati, A. B., Yusuf, W. W., Ramli, N., Hussain, Z., & Rasool, A. H. G. (2013). Determination of Morphine in Human Urine by A Simple Reverse Phase High-Performance Liquid Chromatography Method with UV Detection. *International journal of pharmaceutical Sciences and Drug Research*. 5 (1), 18-22.
- Schönberg L, Grobosch T, Lampe D, Kloft C. (2006). New screening method for basic compounds in urine by on-line extraction highperformance liquid chromatography with photodiode array detection. *Journal of Chromatography A*, 1134 (1° 2), 177° 85