

興奮性薬物の検出 (第1報)

ガスクロマトグラフィーによる中枢神経興奮薬の検出

Detection of Stimulant (Part 1)

Detection and Identification of Some Central Nervous System Stimulants by Gas Chromatography

金 島 弘 恭 森 三佐雄

Hiroyasu Kaneshima and Misao Mori  
(Hokkaido Institute of Public Health)

緒 言

興奮性薬物を尿中から検出確認する方法として比色分析<sup>1,6)</sup>、微量結晶試験、紫外部または赤外部吸収測定、ペーパーまたは薄層クロマトグラフィー(TLC)<sup>1,5,9)</sup>ガスクロマトグラフィー (GLC)<sup>1-7)</sup>、GLCと質量分析を併用する方法 (GC-MS)<sup>1,5)</sup>などが知られている。特にGLCを用いる方法はGC-MSと並び微量でかつ特異的な分析が可能とされている。今回法律で一般の使用が禁止されているアンフェタミン(Am)、メチルアンフェタミン(MAm)を始め、フェンメトラジン(Ph)、フェンジメトラジン(Phd)とニケタミド(NK、普通薬)などの中枢神経興奮薬をとりあげその不正使用防止のため、これら薬物の迅速な分析法を確立する目的でGLCによる検出法を検討した。同時にその類似化合物で交感神経興奮薬であるエフェドリン(E)、メチルエフェドリン(ME)、メトキシフェナミン(MX)についても同様に検討を加えた。GLCによる検出法として内部標準法および誘導体法(パーフルオールシル誘導体)を試みた。またこれらの応用例として実際に薬物投与尿から薬物の検出をEについて行なった。

実験方法

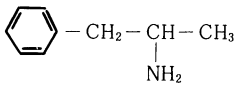
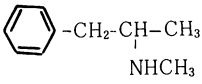
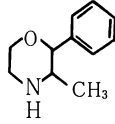
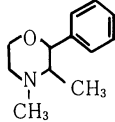
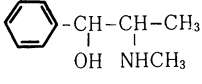
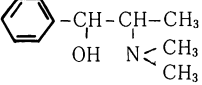
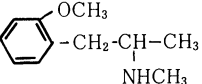
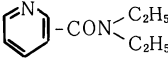
1) 使用薬物

実験に使用した薬物とその構造式をTable Iに示す。Ph、Phdはロンドン大学のベケット教授の厚意により入手したものを使用した。またこれらの薬物は塩酸塩あるいは硫酸塩(Amのみ)なのでアルカリ性水溶液からクロロホルム抽出を行ない遊離塩基としたものをGLCに用いた。

2) GLC

GLCの測定はベケットらの方法<sup>5)</sup>を多少改変して

Table I. Structural formulae of Central Nervous System Stimulants

Drug	Structural formula
Amphetamine	
Methylamphetamine	
Phenmetrazine	
Phendimetrazine	
Ephedrine	
Methylephedrine	
Methoxyphenamine	
Nikethamide	

行なった。用いた機器と測定条件はTable IIに示す

とおりである。

Table. II GLC Systems

System	Tubing	Liquid phase	Solid support	Oven temp. (°C)	Inject. temp. (°C)
A	3 m × 3 mm (stainless)	5% Carbowax 6000 5% KOH	Chromosorb G A/W DMCS treated 80-100mesh	155	190-200
B	1 m × 3 mm (Stainless)	2% Carbowax 20M 2% KOH	"	140	180-190
C	2 m × 3 mm (glass)	2.5% SE-30	"	130	180

Hitachi 063 gas-chromatograph with FID  
Carrier gas : N<sub>2</sub> 30ml/min.  
Chart speed : 10mm/min.  
Injection volume : 1 μ l.

3) 同 定

薬物の同定は内部標準法とパーフルオルアシル誘導体を合成する方法で行なった。

a) 内部標準法

内部標準物質としてAカラムではNN-ジメチルアニリン (DA), BおよびCカラムの場合はジフェニル (DP) を用い標準物質と各薬物との相対保持時間 (RRt) を求めて薬物を同定した。

b) パーフルオルアシル誘導体

各薬物の遊離塩基を含む醋酸エチル溶液に同量のトリフロロ無水醋酸 (TFA) またはヘプタフロロ無水ラク酸 (HFB) を加え大久保の方法<sup>8)</sup>でTFAまたはHFB誘導体を合成し, これを醋酸エチルに溶解してCカラムでGLCを行なった。また内部標準物質としてDPを用い, 各誘導体とのRRtを求めた。

実験結果ならびに考察

1) 内部標準法による薬物の同定

各薬物の酸塩を水に溶かし(遊離塩基として2 mg/ml) その0.1 mlずつを先細試験管にとり, ついで5 N-NaOH 0.5 mlを加えてアルカリ性とし, 数mlのエーテルで3回振盪抽出を行なう。エーテル層を集めて少量の無水硫酸ナトリウムで脱水後, 濾過, 少量のエーテルで洗滌し, 濾液および洗液を合わせ室温下N<sub>2</sub>ガスを通じてエーテル層が少量になるまで濃縮し, 最後は自然蒸発でエーテルを除く。濃縮残渣に内部標準物質として0.1% DAまたは0.2% DPのクロロホルム溶液0.1

mlを加えて溶解しその1 μ lをGLCに用いた。A, B, Cの各種カラムに於ける各薬物のクロマトグラムをFig 1~3に, 保持時間 (Rt) をTable IIIに示した。MAmがAカラムでテーリングの傾向を示したNKがBカラムでや、ブロードなピークを示した以外はいづれも良好なピークを示した。またBカラムではEとPhが, CカラムではEとDPが同じRtを持ち, 重なり合ったピークを示したが, B, Cカラムを併用するこ

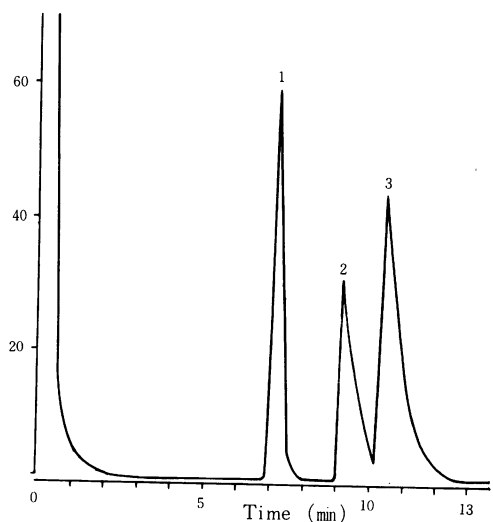


Fig. 1 Gas-chromatogram of two stimulants on Column A.

1. NN-Dimethylaniline, 2. Methylamphetamine, 3. Amphetamine, Sensitivity : 10×4

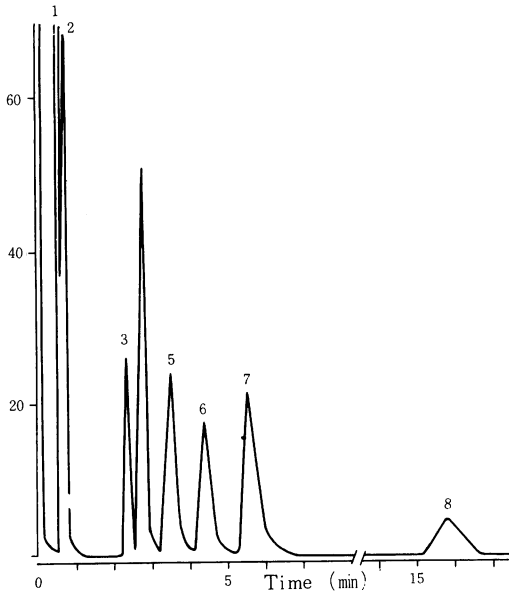


Fig. 2 Gas-chromatogram of some stimulants on Column B.

1. Methylamphetamine, 2. Amphetamine,
3. Methoxyphenamine, 4. Diphenyl,
5. Phendimetrazine, 6. Methylephedrine,
7. Phenmetrazine & Ephedrine,
8. Nikethamide, Sensitivity : 10×64

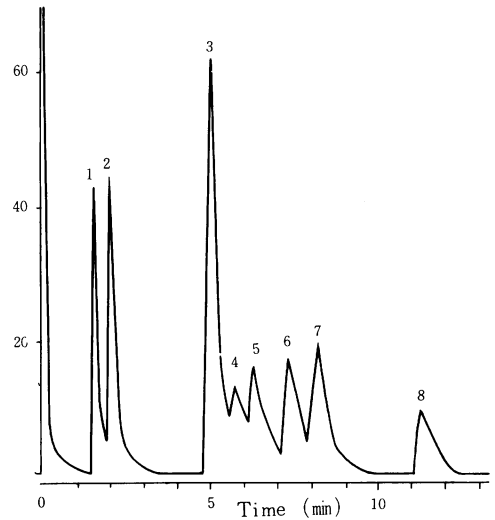


Fig. 3 Gas-chromatogram of some stimulants on Column C.

1. Amphetamine, 2. Methylamphetamine,
3. Diphenyl & Ephedrine, 4. Methoxyphenamine
5. Methylephedrine, 6. Phenmetrazine,
7. Phendimetrazine, 8. Nikethamide,
- Sensitivity : 10×32

Table. III Retention data of Stimulants on Column A, B and C

Drug	A		B		C	
	Rt *1 (min)	RRt *2	Rt (min)	RRt	Rt (min)	RRt
Amphetamine	10.50	1.45	(0.7)	0.25	1.60	0.31
Methylamphetamine	9.30	1.28	(0.6)	0.22	2.10	0.40
Ephedrine	—	—	5.60	2.00	5.20	1.00
Methylephedrine	—	—	4.35	1.57	6.30	1.23
Phenmetrazine	—	—	5.50	2.00	7.45	1.43
Phendimetrazine	—	—	3.50	1.27	8.25	1.58
Methoxyphenamine	—	—	2.30	0.84	5.75	1.10
Nikethamide	—	—	15.80	5.75	11.35	2.17
Diphenyl *3	—	—	2.75	1.00	5.20	1.00
NN-Dimethylaniline	7.25	1.00	—	—	—	—

- \*1 Rt : Retention time
- \*2 Relative retention time
- \*3 Internal standard

とでEとPhの同定は可能である。またAmとMAmはA、Cカラムでそれぞれ分離したピークを示したが、Bカラムではほとんど分離せずしかもRtが非常に短いのでAmとMAmのBカラムによる同定は適当でないと考えられる。ベケットらはCカラムの測定温度を120°で行なっているが10°高い130°の方が全体にシャープなピークを示した。また各薬物で定量性を検討したところ0.1~10μgの範囲で直線的な定量性を示した。

2) パーフルオルアシル誘導体による同定

今回とり上げた8種の薬物のうちパーフルオルアシ

ル誘導体を作ると考えられる5種の薬物のTFAおよびHFB誘導体を合成し、適当量の0.2%DP醋酸エチル溶液に溶かしCカラムを用いてGLCを行なった。各薬物のTFAおよびHFB誘導体のクロマトグラムをFig 4およびFig 5に、そのRtをTable IVに示した。MEのTFA誘導体は他の薬物のTFA誘導体に比較し不安定であり、短時間で副ピークを生成するのでHFB誘導体として同定を行なった。各誘導体とも良好なピークを示しそれぞれのRtも遊離塩基のそれと異なり、従ってDPに対するRRtも大きな差異を

示した。このことからパーフルオールアシル誘導体による同定は各薬物の再確認に有効であると考え。なお大久保<sup>8)</sup>はパーフルオールアシル誘導体の確認に2%OV-17カラムを用いて良い結果を得ているが、今回用いた2.5%SE-30カラムで十分な同定が可能であり遊離塩基と同一測定条件で連続分析が出来る利点から誘導体の確認にCカラムの利用は好ましいと考える。

3) 尿中より薬物の検出確認

正常人にE30mgを経口投与し、3時間後に採尿してその10mlを共栓試験管にとり以下前と同様にエーテル抽出を行なう。エーテル層を集め室温下N<sub>2</sub>ガスを通

じて濃縮し、濃縮残渣にクロロホルム0.1mlを加えて溶解し試料液とした。前述したとおりEはCカラムでDPと重なり合ったピークを示すのでCカラムでは内部標準法を行わず試料液のみを用いて遊離塩基としてのEのRtを求めた。Bカラムには約30 $\mu$ lの試料液に適当量の0.2%DPクロロホルム溶液を加えた混合液を注入し内部標準法でEのDPに対するRRtを求めた。また試料液50 $\mu$ lを用い一旦クロロホルムを除き、その残渣を醋酸エチルに溶解し前述の方法で

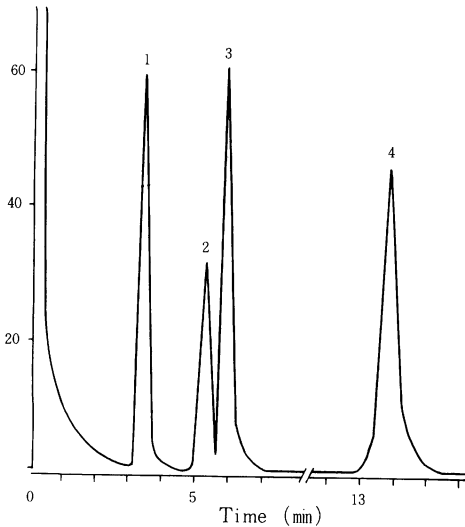


Fig. 4 Gas-chromatogram of trifluoroacetyl derivatives of some stimulants on Column C

- 1. Amphetamine-TFA, 2. Diphenyl,
  - 3. Methylamphetamine-TFA & Ephedrine-TFA,
  - 4. Methoxyphenamine-TFA
- Sensitivity : 10 $\times$  8

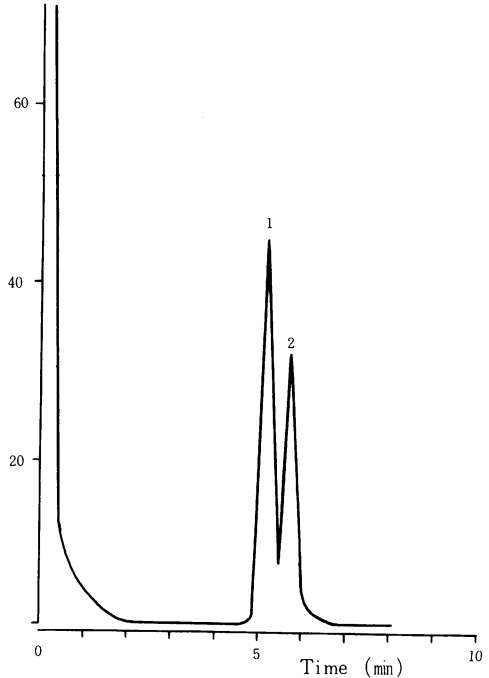


Fig. 5 Gas-chromatogram of heptafluorobutyryl derivative of methylephedrine on Column C

- 1. Methylephedrine-HFB, 2. Diphenyl
- Sensitivity : 10 $\times$  4

Table. IV Retention data of perfluoroacyl derivatives of some stimulants on Column C

Drug	TFA-derivative		HFB-derivative	
	Rt *1 (mn)	RRt *2	Rt (mn)	RRt
Amphetamine	3.35	0.64		
Methylamphetamine	5.85	1.11		
Ephedrine	5.90	1.12		
Methoxyphenamine <sub>2</sub>	13.80	2.63		
Methylephedrine	—		5.20	0.90
Diphenyl *3	5.25	1.00	5.75	1.00

\*1 Rt : Retention time  
 \*2 RRt : Relative retention time  
 \*3 : Internal standard

E-TFA誘導体を合成し、0.01%DP醋酸エチル溶液を適量加えて溶解したのち直ちにCカラムでGLCを行なった。以上の結果をFig 6~8に示したが尿中成分の妨害はほとんど見られず、また図中に示したRt および各RRt もTable III, IVに示した標準物のそれと一致したのでこれらのピークは尿中の未変化のEと同定できた。なお現在ベケットらの方法<sup>5)</sup>でEのアセトン体、N-アセチル体などの簡単な誘導体についても検討中である。またGLCとTLCなどの他の分析手段との併用も薬物の同定を一層確実にすると考えられるので検討中である。

結 語

1. 8種の興奮性薬物のGLCをTable IIに示す3種類のカラムを用いて行ない0.1~10 $\mu$ gの範囲で各遊離塩基を十分に同定できた。
2. 薬物の同定は内部標準法とパーフルオルアシル誘導体によったがパーフルオルアシル誘導体は薬物の再確認に有効である。
3. 上記の方法を用いてE投与尿から尿成分の妨害をほとんど受けずに未変化のEを検出確認できた。
4. 以上の実験結果から興奮性薬物の検出にGLCは有効な分析手段であると考ええる。

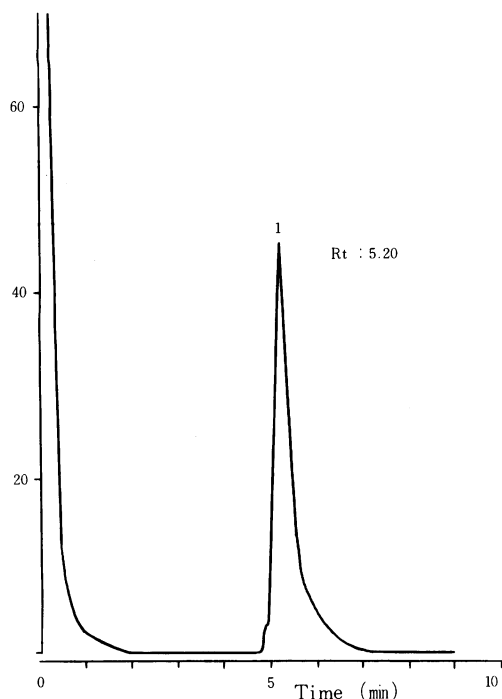


Fig. 6 Gas-chromatogram of ephedrine extracted from the urine on Column C  
1. Ephedrine  
Sensitivity : 10 $\times$  8

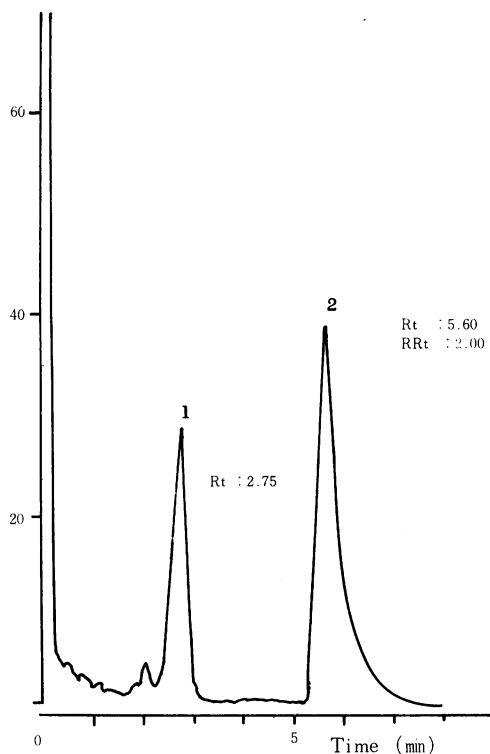


Fig. 7 Gas-chromatogram of ephedrine extracted from the urine on Column B  
1. Diphenyl, 2. Ephedrine  
Sensitivity : 10 $\times$  8

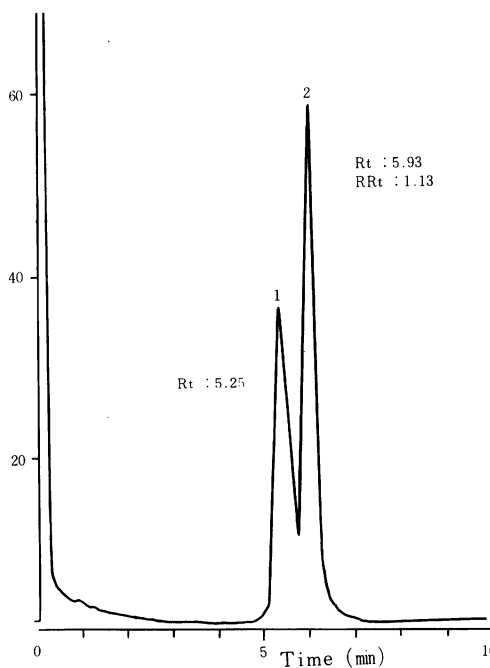


Fig. 8 Gas-chromatogram of trifluoroacetyl derivative of ephedrine extracted from the urine on Column C  
1. Diphenyl, 2. Ephedrine-TFA  
Sensitivity : 10 $\times$ 16

終りに御鞭韁ならびに御校閲頂いた当所橋高毅薬学部長に深謝致します。

Hiroyasu Kaneshima and Misao Mori  
(Hokkaido Institute of Public Health)

### 文 献

- 1) Clarke, E. G. C. : Isolation and Identification of Drugs, The Pharmaceutical Press, London, (1969).
- 2) Parker, K. D. et al. : Anal. Chem., **34**, No. 10, 1345(1962).
- 3) Brooks, C. J. W. and Horning, E. C. : *ibid.*, **36**, No. 8, 1540(1964).
- 4) Beckett, A. H. and Rowland, M. : J. Pharm. Pharmacol., **17**, 59(1965).
- 5) Beckett, A. H. et al. : *ibid.*, **19**, 273(1967).
- 6) Karawya, M. S. et al. : *ibid.*, **20**, 650(1968).
- 7) 何川涼他 : 日法医誌, **22**, No. 1, 16(1968).
- 8) 大久保義夫 : 日体協 スポーツ科研報告., **No. X**, 1(1969).
- 9) Heaton, A. M. and Blumberg, A. G. : J. Chromatog., **41**, 367(1967).

#### Detection of Stimulant (Part 1)

Detection and Identification of Some Central Nervous System Stimulants by Gas Chromatography

Attempt was made to offer a rapid and sensitive method of detecting and identifying some central nervous system stimulants by gas chromatography (GLC).

The condition of GLC used is shown in Table I and identification was based on a modification of the method of Beckett. et al (1967). GLC was used with NN-dimethylaniline and diphenyl as the internal standard, while each drug was identified as free base or perfluoroacyl derivative respectively (detection limit ; 0.1 g).

Further, using these method administered epinephrine was successfully separated and identified from the urine.

The method described above is suitable for the detection of central nervous system stimulant in urine.