

報 文

マスキロマトグラフィーによるコデインの定量

出 来 三 男*

マスキロマトグラフィーによる製剤中のコデイン定量法について検討した。カラム充てん剤 **SE-30(3%)**, **Chromosorb GAW(80~100 メッシュ)3m**, カラム温度 **250℃**, 走査間隔 **7 秒** の条件で, スコポラミンを内部標準としてコデインを定量した。コデインの定量精度は, 標準偏差 **0.96**, 変動係数は **0.53%** であり, コデイン **70~800 μ g/ml** の濃度範囲でコデインと内部標準スコポラミンの重量比とピーク面積比との間には直線関係が認められた。実際試料についてこの方法を適用し, フェナセチン, カフェイン, アスピリンの共存下でコデインを定量できた。

1 緒 言

あへんアルカロイドの成分であるコデイン及びその塩類を含む製剤については, 麻薬としての取締基準が各国において異っており, わが国ではコデイン及びその塩類を含む製剤は, その含有量が **1%** 以下のものは, 他の麻薬類を含有しない限り麻薬取締法の対象とならないこととされている。したがって, コデイン及びその塩類を含有する製剤については, 麻薬該当品であるか否かの鑑定に当ってその含有量を知る必要がある。単一コデイン及びその塩類の定量法は, 日本薬局方に記載されているが, この方法は, アスピリン, フェナセチン, カフェイン, 賦形剤などを含む製剤には直接そのまま適用できない。このような場合には, あらかじめ溶剤によりコデインを分別抽出したのち定量する方法が行われており, このほか, いくつかの定量法も試みられている。^{2)~4)}

Martin ら⁵⁾ はコデイン及びモルヒネを **TMS** 化後ガスクロマトグラフィーにより分離定量している。最近高速液体クロマトグラフィーによるあへんアルカロイド類の分析が多数報告されているが, コデインの分離定量についての試みは少ない。^{6)~2)} 一方, マススペクトルによる医薬品混合物の分析については多数の報告があり, 立松ら^{13)~15)} はアルカロイド混合物のマススペクトルによる分析について詳細な報告を行っている。さらに, 立

松¹⁶⁾ は直接導入法により得られた混合アルカロイドのマススペクトルから, 分子イオンピークのピーク高さをを用いてコデインを **2~5%** の精度で定量している。しかし, 直接導入法による混合物のマススペクトルでは, 混合物の各化合物の蒸気圧の相違, リザーバー内での減少率の違い, さらに共存成分によるイオンピークの重りなど, いくつかの問題が残されている。これに対して, マスキロマトグラフィーは, コンピューターによるデータ処理を必要とする難点はあるが, **GC-MS** において分離不十分な成分でも, 各化合物に特徴的なフラグメントイオンについて検出するので容易に分離確認できる利点がある。マスフラグメントグラフィーとマスキロマトグラフィーは本質的な相違はないが, マスキロマトグラフィーでは, 同時に多数のフラグメントイオンについて作図ができることに特徴がある。これまでマスフラグメントグラフィーについては多数の報告があり, 麻薬類の分析例として渡辺¹⁷⁾ らが **0.01 μ** 程度の **LSD** を検出した報告がある。一方, **Stömberg**¹⁸⁾ は, マスキロマトグラフィーにより大麻樹脂中の微量成分の確認を行っている。

ここでは, 密輸物品の鑑定分析のひとつとして, コデイン及びその塩類を含有する製剤中のコデイン含有量をマスキロマトグラフィーにより定量する方法について検討した結果を報告する。

2 実験方法

* 大蔵省関税中央分析所 271 千葉県松戸市岩瀬 531

2・1 標準試薬及び材料

りん酸コデインは日本薬局方品をそのまま使用した。

コデインはりん酸コデインを水に溶かし、これに2規定水酸化ナトリウム溶液を加えてアルカリ性としたのち、クロロホルムで抽出し、抽出液を濃縮乾固し、これについてメタノールで再結晶を繰り返して調製した。

カフェイン、アスピリン、フェナセチン及びスコポラミンは市販品を用いた。

実際試料としては、摘発した密輸嫌疑物件を実験に供した。

2・2 装置及び測定条件

装置：島津 LKB-9000 ガスクロマトグラフー質量分析計，データー処理は島津 GC-MS PAC 300。

測定条件：

カラム充てん剤 SE-30(3%)，chromosorb G-WA(80～100 メッシュ)，ガラスカラム 3m×3mm，カラム恒温槽温度 250℃，注入口温度 280℃，ヘリウム流速 20ml/min，Scan Interval 7 sec，イオン化電圧 20eV，イオン加速電圧 3.5kV，イオン電流 60 μ A。

2・3 操 作

りん酸コデインをメタノールに溶かし、コデイン含量 5～1000 μ g の濃度範囲で標準液を調製した。各濃度の標準液に約 500 μ g のスコポラミン(塩酸塩)を内部標準として正確に加え、これを検体とし、その約 1～2 μ g を注入した。

実際試料は、その約 1.4g を正確に秤り取り、メタノールを加えて溶かし 10ml とした。賦形剤としてでん粉を含むので、これを遠心分離したのち上澄液を集め、これに内部標準としてスコポラミン約 500 μ g を正確に添加し検体とした。

マスキングクロマトグラムの作図は、コデイン(M^+ 299)，スコポラミン(M^+ 303)，カフェイン(M^+ 194)，フェナセチン(M^+ 179)では分子イオンピークを用い、アスピリン(M^+ 180)ではフラグメントイオン m/e 120 を用いて行った。

3・1 ターゲットイオンとイオン強度

マスキングクロマトグラムの作図に当っては、検出感度を高めるうえから、特徴的なイオンピークのなかで、できるだけイオン強度の高いピークを選択するのがよい。特徴的なイオンピークとしては、分子イオンピークが適しているが、分子イオンピークが観察されない化合物ではその化合物に特有なフラグメントイオンが対象となる。マスキングクロマトグラフィーでは、直接導入法によるフラグメントイオン分析とは異って、混合成分はガスクロマトグラフィーにより予め分離されている場合が多いのでガスクロマトグラム上でのピーク成分の重なりがないものについては、イオン強度の大きいフラグメントイオンを選択すればよい。

SE-30 をカラム充てん剤とし、カラム温度 230℃として分離するとコデインとスコポラミンは完全に分離したクロマトグラムを示すが、カラム温度を 250℃にすると、両者は僅かに重なったピークとして現われる。分析所要時間の短縮化とピークの対称性のためにカラム温度は 250℃とした。直接導入法によると、混合成分のマススペクトルでは、各成分のフラグメントイオン強度は各混合成分の気化率、気化温度及びイオン化電圧によって著しく変動することが知られている¹⁵⁾

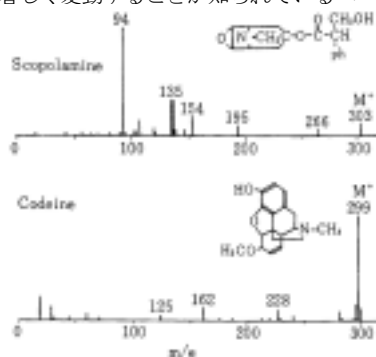


Fig.1 Mass spectra of codeine and scopolamine
Ionizing potential:20 eV.

Fig.1に示したように、コデインでは分子イオンピークが基準ピークとなっているが、スコポラミンではフラグメントイオン m/e 94 が基準ピークとなっており、分子イオンピークの相対強度は約 25%である。イオン化電圧を変えて測定した結果もほぼ類似した傾向を示している。分子イオン及び近接するフラグメン

3 結果と考察

トイオンについてイオン化電圧とイオン強度との関係を見ると、Table1 に示したように、コデインで

Table1 Relative intensities of molecular ion and other peaks with various ionizing potential

m/e	ev	Ionizing potential				
		10	20	30	50	70
Codine	299	100 (17.7)	100 (17.7)	100 (17.7)	100 (18.0)	100 (15.9)
	300	23.5 (4.2)	23.8 (4.1)	24.0 (4.2)	23.4 (4.2)	23.6 (3.8)
	301	3.0 (0.5)	3.2 (0.6)	3.2 (0.6)	3.2 (0.6)	2.9 (0.5)
	303	0	0	0	0	0
Scopolamine	299	0	0	1.7 (0.2)	1.5 (0.2)	2.1 (0.2)
	301	0	0	0	0	0
	303	24.9 (2.8)	23.8 (2.4)	25.8 (2.9)	24.9 (2.7)	4.9 (0.6)
	304	5.2 (0.6)	5.5 (0.5)	6.1 (0.7)	5.5 (0.6)	0

Column:SE-30(3%), 3mm×3m, Column temperature: 250°C. The data in parenthesis are total ion intensities.

は 10eV～70eV の範囲では M^+ , M^++1 , M^++2 , M^++4 の各イオン強度に著しい変動はなく, M^++4 (303)イオンの生成もなくスコポラミンの分子イオン M^+303 との重なりはない。一方、スコポラミンでは、10eV から 50eV の範囲では分子イオン強度に著しい変動はないが、30eV～70eV の範囲で M^+-4 (m/e290)の生成がみられる。このフラグメントイオンの相対強度は 2%程度であるが、コデインの分子イオン M^+299 と重なっている。イオン化電圧 70eV ではスコポラミンの分子イオン強度は減少し、20eV の場合に比較して約 5 分の 1 である。検出感度を高めるうえから相対強度の大きい m/e94 をスコポラミンのターゲットイオンとして使用するのが好ましいが、m/e94 はコデインのマススペクトルでも僅かに観察されるので、定量誤差を考慮してコデインでは分子イオン M^+299 , スコポラミンでは分子イオン M^+303 を作図イオンとして用いた。

共存成分としてフェナセチン、カフェイン、アスピリンなどの挙動について検討した。Fig.2 に示したようにカフェイン、フェナセチンでは分子イオンが顕著であるため、それぞれ分子イオンを作図イオンに用

いた。アスピリンでは分子イオン M^+180 はほとんど観察されない。分子イオンから脱 CH_3COOH によって生成したイオン m/e120 が基準ピークとなっており、このフラグメントイオンは共存する他の成分では観察されないので m/e120 を作図イオンとした。これらの共存成分は、SE-30、250°Cの条件のガスクロマトグラフィーでは速かに分離してくるのでコデイン、スコポラミンのピークを妨害しない。また、りん酸コデインと遊離コデインは同一のガスクロマトグラム及びマススペクトルを示した。

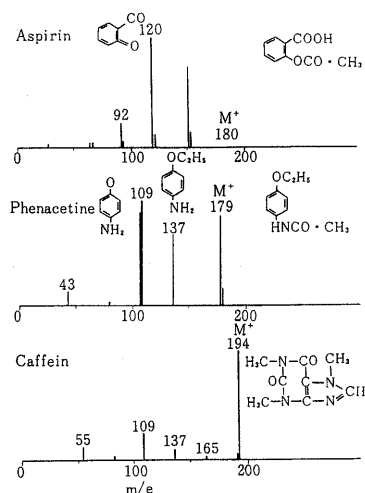


Fig.2 Mass spectra of aspirin, phenacetine and caffeine
Ionizing potential :20 eV.

3・2 各成分のマスクロマトグラム

Fig.3 に示したように、SE-30 をカラム充てん剤とした場合、コデインとアスピリン、フェナセチン、カフェインとの分離は良好であり、これらの成分はコ

Table 2 Reproducibility of analytical data

Exp. No.	Area ratio	Weight ratio	Codeine found(μg)
1	4.988	0.4063	182.01
2	4.986	0.4062	181.97
3	4.978	0.4055	181.66
4	4.999	0.4072	182.42
5	4.930	0.4017	179.95
Av.			181.61

σ :0.962, C(%):0.530

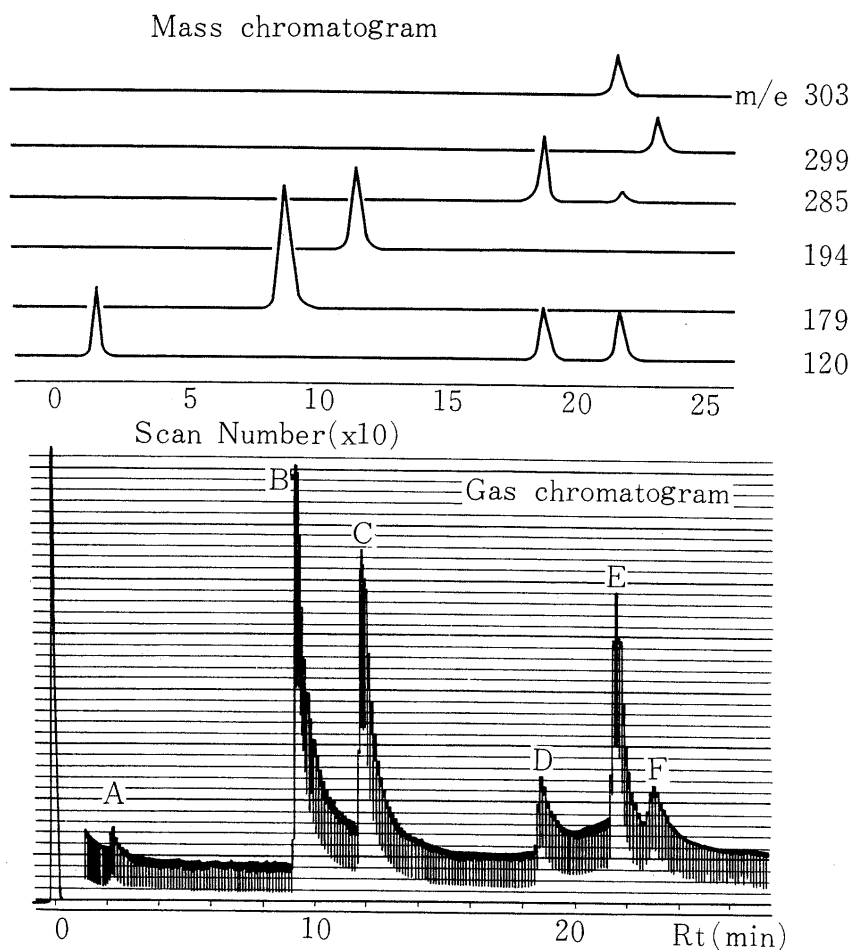


Fig.3 Mass chromatogram and gas chromatogram
of some drugs

A : Aspirine, B : Phenacetine, C : Caffeine, D : Morphine,
E : Scopolamine, F : Codeine.

Column : SE-30(3%), 3mm×3m, Column Temperature :
150—250°C, 5°C/min. Scan interval:7 sec.

デインの定量を妨害しないことがわかる。内部標準のスコポラミンとコデインは比較的近接して現われている。このガスクロマトグラムの全領域について、7 sec.間隔で0~350質量数までのマススペクトルを測定し、コンピュータにより、それぞれ $m/e120$, $m/e179$, $m/e194$, $m/e285$, $m/e299$, $m/e303$ の各イオン強度の作図を行った。Fig.3 に示したように、マスキロマトグラムはガスクロマトグラムによく対応しており、近接するピーク間の分離もよい。スコポラミンのガスクロマトグラムにおけるモル感度はコデインのそれとほぼ類似しているが、マスキロマトグラムにおけるス

コポラミンの検出感度は、同一濃度におけるコデインの感度の10%に過ぎない。

マスキロマトグラムの作図に用いたコデイン及びスコポラミンの分子イオン強度の安定性は、繰り返し精度で明らかのように、高い安定性を示した(Table2)。

3・3 検量線の作成

コデイン(77~800 $\mu\text{g/ml}$)の各標準液に内部標準としてスコポラミン約450 μg を正確に加え、これをガスクロマトグラフ—質量分析計の注入口から約2 μl 注入したのち、7 sec.間隔でマススペクトルを測定した。

$m/e303$ 及び $m/e299$ について、コンピューターによりマスクロマトグラムを作図し、各マスクロマトグラムのピーク面積を半値幅法で求めた。3 回の繰り返し測

定によって得られた面積値について $m/e299/m/e303$ の比を求めた。

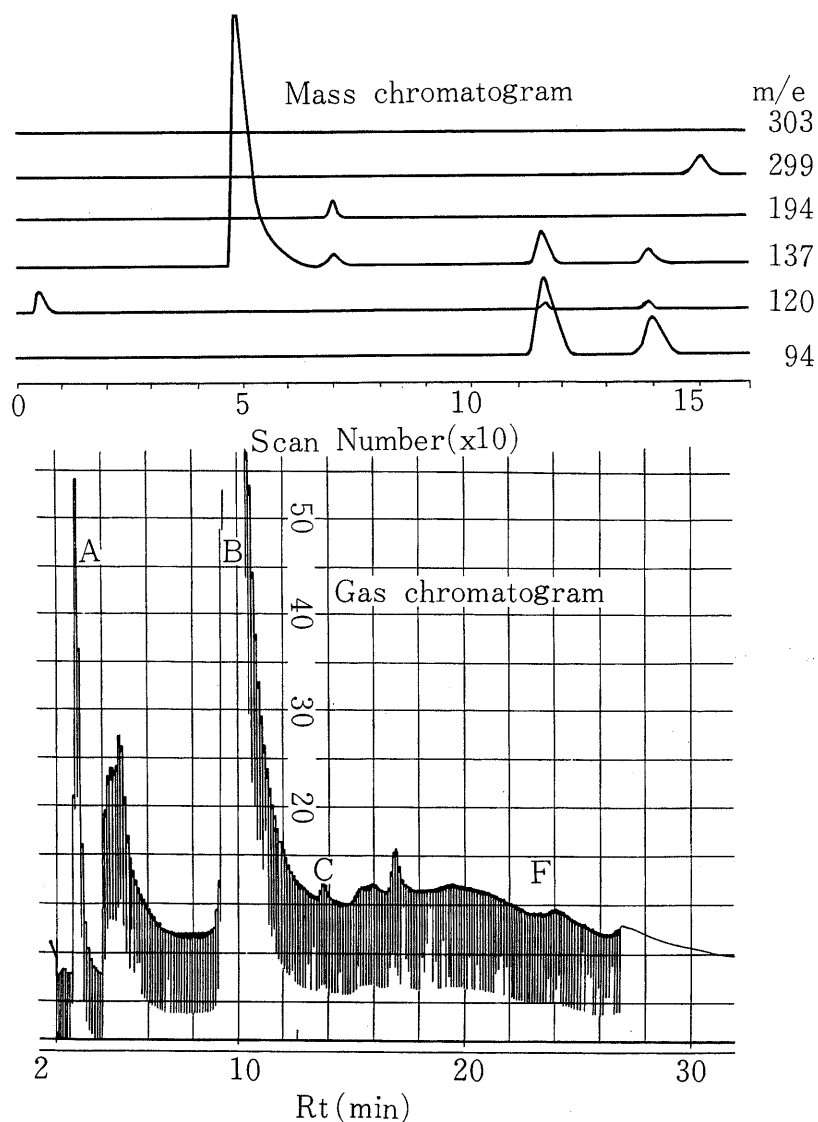


Fig.4 Mass chromatogram and gas chromatogram of sample

A : Aspirine, B : Phenacetine, C : Caffeine, F : Codeine

Analytical conditions are the same as in Fig.3.

Table 3 The area ratio and weight ratio of codeine to scopolamine in a mass chromatogram of authentic sample

Exp. No	Codeine (μg)	Scopolamine (μg)	Weight Ratio(X)	Area Ratio(Y)
1	73.64	447.977	0.1644	1.928
2	184.10	447.977	0.4110	4.996
3	257.74	447.977	0.5753	7.083
4	368.20	447.977	0.8219	10.367
5	552.30	447.977	1.2329	15.156
6	625.94	447.977	1.3973	17.788
7	736.40	447.977	1.6438	20.366
av			\bar{x} 0.8924	\bar{y} 11.098

$$\hat{Y} = \bar{y} + \frac{\sum Xy}{\sum X^2}(X - \bar{x}) \quad b = \frac{\sum Xy}{\sum X^2} = 12.571$$

$$y = 12.571X - 0.1201$$

Table3 に、重量比の面積比の回帰分析結果を示した。すなわち、回帰係数 **b=12.571** であり、回帰直線は原点を通ることが確認された。5 回の繰り返し測定の結果、コデイン含量 **18.2mg/100ml** の濃度において標準偏差 **0.962**、変動係数は **0.53%** であり、高い精度で定量できることを明らかにした。

3・4 実際試料の分析

不正所持の嫌疑で鑑定依頼された検体は、白色錠剤であり、賦形剤として乳糖、でん粉が用いられている。ガスクロマトグラフィーにより分離すると、Fig.4 に示したように数個のピークが検出される。マスキングマシナから顕著なピーク成分はフェナセチンであり、このほか、アスピリン、カフェインの存在が確認された。さらに、高沸点領域に幅広く弱いピークが検出されるが、これはマスキングマシナから定性的にコデインと認めた。

この検体 **1.4g** を **100ml** 容のメタノールに溶かし、これに内部標準としてスコポラミン約 **450 μg** を正確に加え、3・3 で記述した方法に従ってマスキングマシナを作図した。

Table4 に示したように、5 回の繰り返し測定によるコデインの平均含量は **0.98%** であり、この濃度での標準偏差は **0.00748**、変動係数は **0.76%**、誤差の範囲は **±0.009** であった。

Table4 The analytical result of sample

Exp. No.	Weight ratio	Area ratio	Codeine content	
			mg/ 10ml	(%)
1	0.1527	1.800	13.681	0.977
2	0.1535	1.809	13.753	0.982
3	0.1555	1.835	13.932	0.995
4	0.1546	1.823	13.852	0.989
5	0.1529	1.802	13.699	0.979
Av.				0.984

σ : 0.00748, C(%): 0.760, tSx : ± 0.009

Table 5 The yield of codeine to the sample

Codeine added (μg)	Codeine contents (μg)		Yield (%)
	Calculated	Found	
Original	-	68.899	-
36.82	105.719	104.92	99.24
73.64	142.539	142.14	99.72
110.46	179.359	179.62	100.14
147.28	216.179	216.98	100.37
		AV.	99.87

Internal standard: Scopolamine 447.977 μg

実際試料に各濃度のコデインを添加し、その回収率をみると平均回収率は **99.8%** であった。この方法は、配合剤などを含む製剤中のコデイン定量法として十分に使用できることを知った(Table 5)。

4 要 約

コデイン又はその塩類の定量法は、単一品については日本薬局方収載の方法により容易に定量できる。しかし、風邪薬など製剤中のコデインは、一般に多種類の配合薬を含んでいるので、定量に際してはこれらの夾雑物と分離しなければならない。溶剤による分別はフェナセチン、カフェインなどアルカロイド類を共存する場合にはコデインとの分離が十分でない。マスキングマシナは、化合物に特有なフラグメントイオンをターゲットイオンとしているので共存成分との分離が不十分な化合物の定性又は定量分析に適しており、さらに超微量分析も可能である。さらに、もう一つの特徴は、共存物の含量に無関係であり、多量

に存在する成分中の微量成分の定量が容易であるという利点を持っている。立松ら¹⁵⁾は直接導入法により、分子イオンピークの強度からコデインを定量しているが、マスクロマトグラフィーにおいては共存成分の蒸気圧、イオンの安定性などを考慮する必要がなく、ごく短時間でコデインを定量できることを知った。マスクロマトグラムの作図においては、イオン強度の高いフラグメントピークを用いるのがよいが、ここでは分子イオンピークを用いた。内部標準として用いたスコ

ボラミンのイオン強度は、コデインのイオン強度の 10 分の 1 に過ぎないが、イオンの安定性が高く、かつ、コデインの分子イオンピークとの重なりもないことから、作図イオンとして良好であった。この方法を密輸嫌疑物件として鑑定依頼された実際試料に適用し、多量のフェナセチン、カフェイン、アスピリンの共存下で、試料を前処理することなく直接ガスクロマトグラフに注入する方法で 1% 程度のコデインを定量することができた。

文 献

- 1) 日本公定書協会編：第八改正日本薬局方第一部解説書，広川書店 (1972).
- 2) 郡 定之，玉木良夫，藤田昌子：薬誌，**81**，986 (1961).
- 3) M. W. Andres and G. J. Manneling : *Anal. Chem.* , **34**, 730 (1962).
- 4) S. J. Mule : *Anal. Chem.* , **36**, 1907 (1964).
- 5) G. Martin and J. S. Swinehart : *Anal. Chem.* , **38**, 1789 (1966).
- 6) 出来三男，水城勝美：本誌，No. **14**，45 (1973).
- 7) J. L. Frahn and R. J. Illman : *J. Chromatogr.* , **87**, 187 (1973).
- 8) R. A. Heacock, K. R. Langille : J. D. MacNeil and R. W. Frei : *J. Chromatogr.* , **77**, 425 (1973).
- 9) J. H. Knox and J. Jurand : *J. Chromatogr.* , **82**, 398 (1973).
- 10) J. S. Mayell and C. F. Hishery : *Anal. Chem.* , **46**, 449 (1974).
- 11) T. H. Beasley and D. W. Smith : *J. Am. Offic. Anal. Chem.* , **57**, 85 (1974).
- 12) H. Audia, M. Fetinon, Ginsdurg, A. Mandelbaum and Th. Ruel : *Tetrahedron Letters*, **1**, 15 (1965).
- 13) 立松晃，後藤俊夫：薬誌，**85**，631 (1965).
- 14) 立松晃，後藤俊夫：薬誌，**85**，152 (1965).
- 15) 立松晃，後藤俊夫：薬誌，**85**，778 (1965).
- 16) 立松晃，後藤俊夫：薬誌，**85**，786 (1965).
- 17) 渡辺敬三，牧野由紀子，岡本敏彦：薬誌，**92**，517 (1972).
- 18) L. Stömberg : *J. Chromatogr.* , **121**, 313 (1976).

Quantitative Determination of Codeine by Mass Chromatography

Mitsuo DEKI*

*Central Customs Laboratory, Ministry of Finance,
531, Iwase, Matsudo-shi Chiba-ken, 271 Japan

A mass chromatographic method has been developed for the quantitative determination of codeine or its salts in multicomponents drug products. The instruments used in this study was a LKB-9000 gas chromatograph-mass spectrometer connected to a Shimadzu GC-MSPAC300 computer system. The GC column used was a glass tube (3mm x 3m) packed with Chromosorb GWA (80~100 mesh) which was coated 3% SE-30. The column temperature was 250°C. The analyses were carried out by the method of continuous scanning with a scan time 7 sec. The electron energy was 20 eV.

Scopolamine hydrochloride was used as an internal standard. Mass chromatograms were constructed at 299 and 303 a.m.u(the molecular weight of codeine and scopolamine). The calibration graph was constructed by plotting the weightrratios of codeine to scopolamine on the abscissa against their peak area ratios on the ordinate.

The calibration curve for codeine was linear over the range $70 \mu\text{g}$ - $800 \mu\text{g/ml}$. For authentic samples the standarddeviation and coefficient of variation are 0,96 and 0.53% in the range of $182 \mu\text{g/ml}$, respectively. This method was applied to the determination of codeine in illicit drug contains paregoric and antifebrile.

The presence of aspirine, phenacetine and caffeine in drug does not appear to interfere in the analysis. The results indicate good precision.

—Received Sept. 19, 1977—