ノート

モルヒネのけい光分析

片　岡　憲　治, 嶋　田　　勝, 西　田　良　信*

Fluorometric Analysis of Morphine

Kenji KATAOKA, Masaru SHIMADA and Yoshinobu NISHIDA*
*Central Customs Laboratory, Ministry of Finance
531, Iwase Matsudo－shi, Chiba－ken, 271 Japan

The fluorescent derivative of Morphine was prepared by a reaction with dansyl chloride (DNS－Cl).

The reaction products were separated by high－performance liquide chromatograph (HPLC) using the silica gel column with acetonitrile－H_2O (85:15 V／V, as a mobile phase) and the silica gel thin layer chromatography using acetonitrile－H_2O (85:15 V／V, as developing solvent).

It was found that the fluorometric analysis was useful for a detection of illegal drugs such as Morphine, Methamphetamine and so on.

－Received May31, 1990－

1　緒　　言

モルヒネは，アヘンアルカロイドの代表で鎮痛・鎮静作用を有している。しかしながら，慢性的中毒症状（耽溺性）を有しているため麻薬取締法に該当し，裁判化学において，覚せい剤及びコカイン等と同様に不法薬物として取り扱われている。

最近，正常者の尿中からもモルヒネ及びコデインが存在することが報告されており [1]，今後，裁判化学的にもますます極微量検出が重要となるものと考えられる。

モルヒネの検出法には，Marquis 試薬による呈色反応，薄層クロマトグラフィー及びガスクロマトグラフィー等が一般的である。高感度検出として，最近注目されているけい光検出を用いた方法が報告されている。Jane らは，モルヒネをフェリシアン酸化により発けい光性のプソイドモルヒネ（モルヒネの二量体）として，高速液体クロマトグラフィー（HPLC）で分離・検出（検出限界はカラム注入量として 4ng であった。）している [2]。また，Tagriazo らは，モルヒネをダンシル誘導体化し，HPLC で．順相系による分離・検出を行っている [3]。我々は，覚せい剤及び大麻のダンシル誘導体化－HPLC 法による微量検出について報告してきた。今回，Tagriazo らの報告を参考にモルヒネの逆相系による微量検出について検討したので報告する。

*大蔵省関税中央分析所　〒271　千葉県松戸市岩瀬 531

2　実　　験

2．1　試　薬

ダンシルクロリド（DNS－C1；5－ジメチルアミノナフタレン－1－スルホニルクロリド）（東京化学）

TLC プレート（Kieselgel60：厚さ 0.25mm，10×20cm）（メルク）

2．2　装　置

質量分析計；日立 M－80B 型二重収束質量分析計

分光蛍光光度計；日本分光 FP－550 型

高速液体クロマトグラフ；島津 LC－3A

蛍光検出器：島津 RF－535

2．3　モルヒネのダンシル化

モルヒネの蛍光誘導体化（ダンシル化）は，試料（モルヒネの水溶液）1ml にダンシルクロリドのアセトン溶液(約 0.5%)2ml 及び 0.2N 炭酸ナトリウム溶液 1ml を加え，湯浴上で 10 分間反応させた。

冷却後，トルエン 1ml で抽出した。

3　結果及び考察

3．1　モルヒネのダンシル化物の確認

2. 3 で生成した誘導体の確認を質量分析計で行った。直接導入法により得られたマススペクトルを Fig. 1 に示す。M／Z518 に分子イオン，M／Z284，170 等にフラグメントイオンが認められることから，モルヒネのダンシル化物の生成が確認された。

3．2　蛍光スペクトル及び励起スペクトル

モルヒネのダンシル化物（HPLC により分画したもの）の蛍光スペクトル及び励起スペクトルを Fig. 2 に示す。励起光 340nm 及び蛍光 470nm 付近で最大強度を示した。

3．3　液体クロマトグラフィーによる分離

Tagriazo らは順相系の条件で分離しているが，我々は化学発光法にも応用可能な逆相系での分離を試みた。一般に，逆相系のカラムとしては ODS がよく用いられるが，このカラムでは DNS－Morphine のピークが得られず満足な結果は得られなかった。

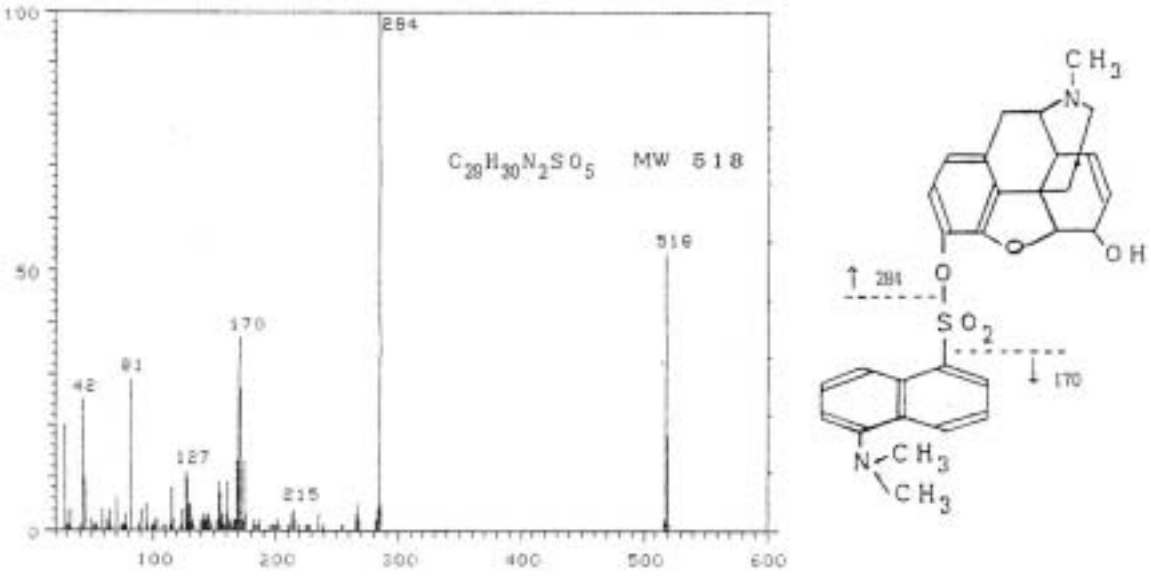

Fig. 1　Mass Spectrum of DNS－Morphine

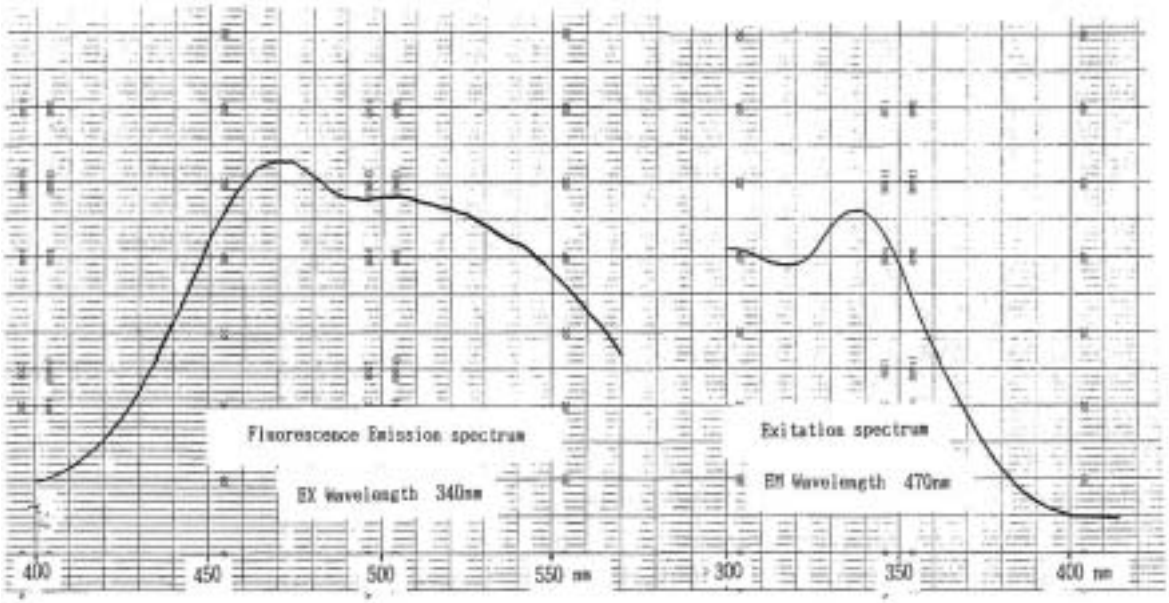

Fig. 2　Fluorescence and Exitation Spectrum of DNS－Morphine

そこで，市販のガードカラム（50mm×4.6mm）シリガゲル（through200mesh；和光純薬）を詰めたものを分離カラムとした。

移動相にアセトニトリル－水（85：15V／V）を用いた場合のクロマトグラムを Fig. 3，4 に示す。DNS－Morphine は，後半のブロードなピークであると認められる。最初のピークは，反応副生成物によるものと考えられる。また，蛍光波長 470nm では副ピークは比較的小さいが，HPLC の検出器の感度としては蛍光波長 510nm（第２極大波長）を用いた方が良好と認められた。

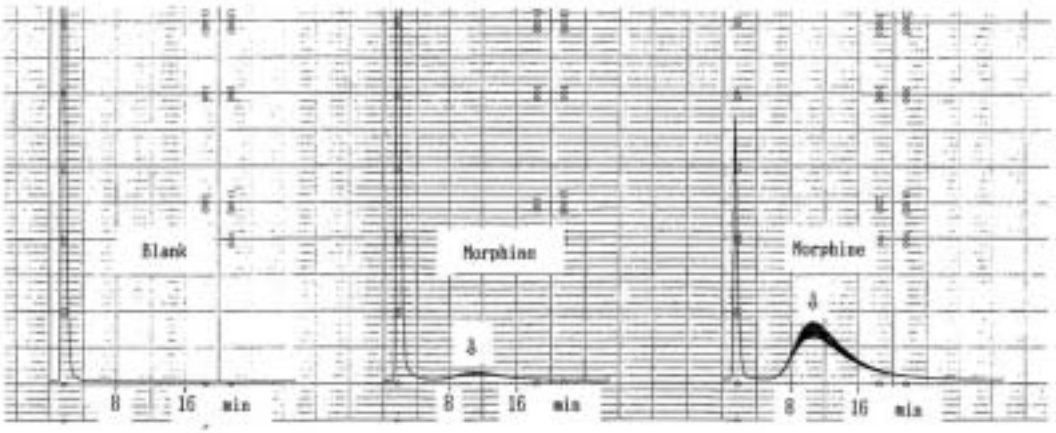

Fig. 3　HPLC of DNS－Morphine
mobile phase；CH_3CN：H_2O (85:15V／V)
detector；EX340nm EM470nm
←；DNS－Morphine

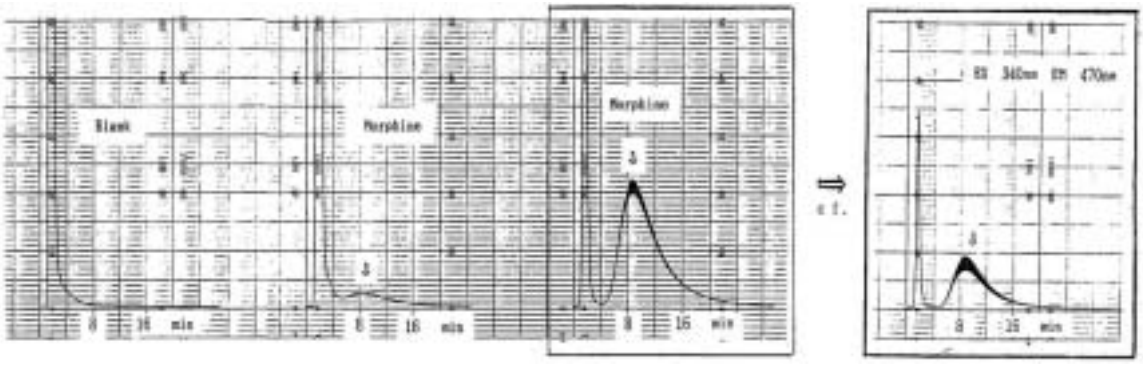

Fig. 4　HPLC of DNS－Morphine
mobile phase；CH_3CN：H_2O (85：15V／V)
detector；EX340nm EM510nm
←；DNS－Morphine

Fig. 5　Thin－layer Chromatograms of DNS－Morphine
solvent system；CH_3CN：H_2O (85：15V／V)
detector；UV254nm

なお，この分離条件では脂肪族アミン類および覚せい剤のダンシル誘導体は最初のピークに統合される。

３．３　薄層クロマトグラフィーによる分離

2．3 で生成した誘導体を薄層クロマトグラフィーによる分離を試みた。

展開相はアセトニトリル－水（85：15V／V）である。UV254nm で観察したクロマトグラムを Fig.5 に示す。中央のスポットが DNS－Morphine と考えられる。

実験では紫外線下の肉眼観察で，塩酸モルヒネとし

て約 10ng まで確認でき，発色法に比べ高感度であった。

4 要　約

モルヒネの蛍光ラベル化剤としてダンシルクロリドを用いた。生成した誘導体は，市販のガードカラム（50mm×4.6mm）にシリカゲル（through 200mesh）を詰めたものを分離カラムとして，移動相にアセトニトリル－水（85：15）を用いたところ，良好な結果が得られた。

これらの手法は不法薬物の微量検出に十分応用可能と考えられる。

文　献

1）松原和夫，福島正充，食見忠弘，赤根　敦，長谷川正紀，塩野　寛：衛生化学，35，354（1989）
2）田村善蔵，石橋信彦ら：LC－けい光分析（講談社）
3）F. Tagriazo, A. Frigerio, R. Dorizzi, G.Lubli and M. Marigo；J. Chromatography，330，323（1985）