

ノート

ガスクロマトグラフィーによる向精神薬等の光学異性体の分離

朝 長 洋 祐, 廣 瀬 達 也, 葉 山 良 子, 氏 原 覚*

Separation of enantiometric isomers in Psychotropic drugs by gas chromatography

Hirosuke TOMONAGA, Tatsuya HIROSE

Yoshiko HAYAMA and Satoru UJIHARA*

*Osaka Customs Laboratory

4-10-3, Chikkou, Minato-ku, Osaka-shi, 552 Japan

In Aug. '90, Japanese Narcotics Control Law was revised to Narcotics and Psychotropic Substances Law. In this new law, threo-2-Amino-1-phenylpropan-1-ol (except laevo-form) has been under the control as the one of psychotropics. So we were required to separate enantiomers in order to identify this substance.

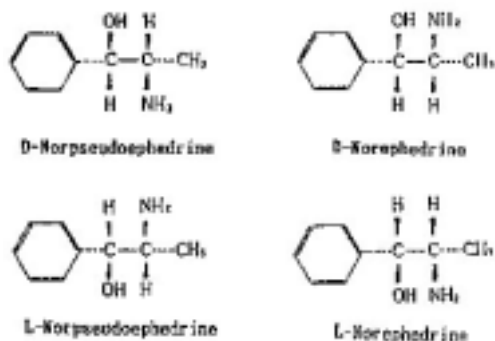
WILFRIED A KÖNIG separated optical isomers by capillary gas chromatography with modified cyclodextrin stationary phases. On the other hand, some enantiometric isomers, such as ephedrine, amphetamine, methamphetamine and phenylpropanolamine, were separated by carbowax 20 M packed column gas chromatography after diastereomerizing with TPC reagent. We practiced to separate some enantiometric isomers by these two ways and succeeded in identifying d-threo-2-Amino-1-phenylpropan-1-ol.

1. 緒 言

90 年の暮れ, “DEXATRIM”という痩せ薬にカチンが入っているのではないか, という分析依頼があった。カチンはトレオ-2-アミノ-1-フェニルプロパン-1-オール (右旋性のもの) の俗称である (Fig. 1)。

薬の外装に Phenylpropanolamine HCL を含有するという表示があったが, Phenylpropanolamine (別名 Norephedrine) の異性体である Norpseudoe-phedrine のうち右旋性 (Dextro-) のものであるカチンは, 欧米においては痩せ薬として用いられることがあるということ, また, “DEX-”という商品名か

*大阪税関輸入部分析部門 〒552 大阪市港区築港 4-10-



らもカチンを含有する可能性が考えられたからである。

Norephedrine と Norpseudoephedrine とは融点や赤外吸収スペクトルが異なり、純品では判別は困難ではないと思われる。しかし、製剤から微量成分を抽出する際には不純物の共存を考慮しなければならない。このため融点が著しく降下することがあるので、赤外吸収スペクトルの比較を主な判定材料とするがこれだけでは鑑定は不十分である。

また、Norpseudoephedrine である可能性があった場合、その両エナンチオマーでは赤外吸収スペクトル、融点とも近似（あるいは一致）しているため、これらで判定するのは不可能である。比旋光度の測定も微量では困難である。さらに、D-、L-混合物の可能性まで考慮すると、物理恒数は鑑定の材料にならない。

その後、91年春にD-Norpseudoephedrine を含有するという表示のある“Mirapront N”というカプセル製剤の分析依頼があったので、“DEXATRIM”と併せて、2種のGC法により光学異性体の分離を試みたので報告する。

2 実 験

2.1 分析試料

- ① DL-Norephedrine*1
- ② L-Norpseudoephedrine*2
- ③ “DEXATRIM”抽出物*3
- ④ “Mirapront N”抽出物*4
- ⑤ DL- α -Aminoethylbenzene (和光純薬)
- ⑥ DL- α -Phenylethyl alcohol (和光純薬)

*1, *2: DL-Norephedrine HCl (Aldrich chemical), L-Norpseudoephedrine HCl (Aldrich chemical) にそれぞれ

1N NaOH を加えアルカリとして塩酸塩を FREE BASE にし、エーテル抽出し乾燥した。

*3: エーテルで脂溶性物質を除去後、1N NaOH でアルカリとして塩酸塩を Free base とし、エーテル抽出し、乾燥した。

*4: 1N NaOH アルカリとしてエーテル抽出し、乾燥した。

2.2 ①～④の赤外吸収スペクトル

分析試料①～④の赤外吸収スペクトルを Fig.2～5 に示す。③“DEXATRIM”抽出物の赤外吸収スペクトルは、①にほぼ一致した。④の赤外吸収スペクトルは、②の特性吸収の他、少量の不純物の存在を示唆する。

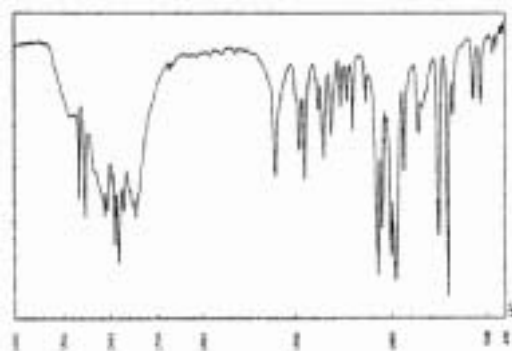


Fig.2 Infrared spectra of DL-Norephedrine

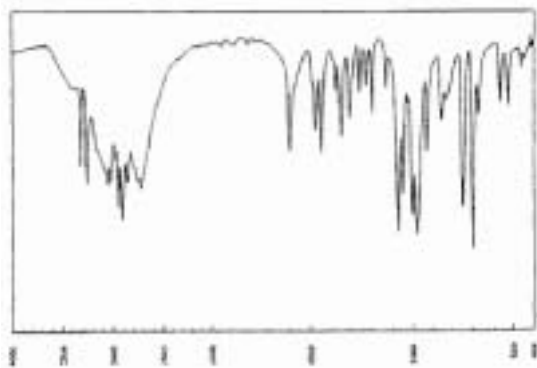


Fig.3 Infrared spectra of “Extract of DEXATRIM”

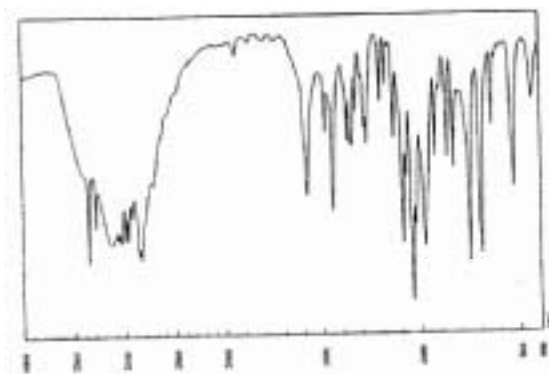


Fig.4 Infrared spectra of L-Norpseudoephedrine

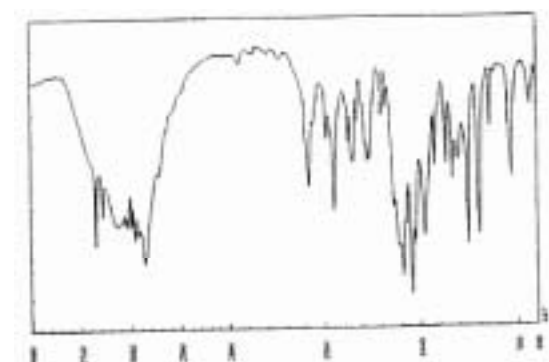


Fig.5 Infrared spectra of "Extract of Mirapront N"

2. 3 ①～④の薄層クロマトグラフィー

Thin layer : Kieselgel 60 F₂₅₄ 0.25mm
Thickness (Merck)

Solvent system : (a)CHCl₃ : Aceton : MeOH :
NH₄OH (15 : 12 : 3 : 0.1)
: (b)MeOH : NH₄OH (100 : 1.5)

Visualize : UV

薄層クロマトグラフィーの結果、Solvent system(a)により、Norephedrine と Norpseudoephedrine とは区別できた。DEXATRIM 抽出物は、Norephedrine の位置に、Mirapront N 抽出物は、Norpseudoephedrine の位置にスポットがあらわれた (Fig.6)。Solvent system(b)では、両者の区別はできなかった。

Solvent system(a), (b)とも光学異性体の分離はできなかった。

2. 4 ガスクロマトグラフィー

2. 4. 1 シクロデキストリン誘導体を固定相と

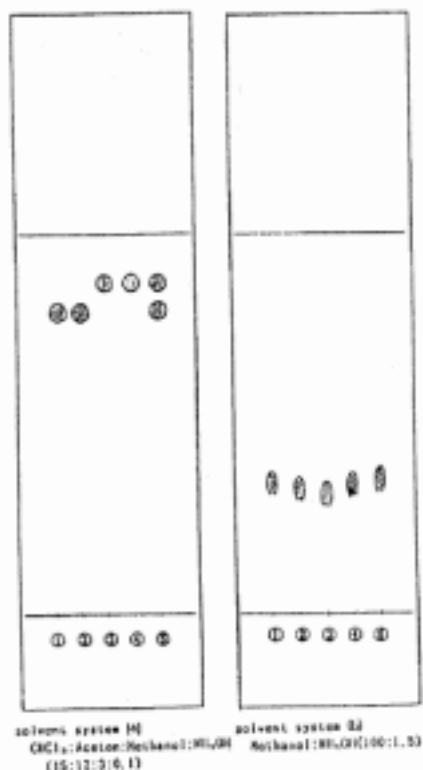


Fig.6 Thin layer chromatograms

- ① DL-Norephedrine
- ② Extract of DEXATRIM
- ③ L-Norpseudoephedrine
- ④ Extract of Mirapront N
- ⑤ ①+③

するキャピラリーGC

近年、 α -, β -, γ -シクロデキストリン誘導体を固定相とする GC 用キャピラリーカラムが開発され、各種の光学異性体の分離に成功した報告がある⁽¹⁾。W. A. KONIG は、DL-Norephedrine を Dipentyl, Monoacetyl 置換 β -cyclodextrin を固定相とするキャピラリーカラムで分離している⁽²⁾。

これらのキャピラリーカラムはすでに商業ベースで生産されているので、市販のカラムで分析試料の分離を試みた。

Capillary Column : ChiralDEX B-DA (Dipentylated
 β -cyclodextrin coated fused
silica)
0.25mm I. D. $\times$ 20m $\times$ 0.125 film
thickness

(ASTEC Inc. U. S. A.)

Gaschromatograph : Shimadzu GC-15A

Injection temp. : 160°C

Detection temp. : 160°C

Detector : FID

Carrier gas : He, 0.70ml/min.

Split ratio : 105/1

Chromatopac : Shimadzu C-R4A

試料 1.0 mg → スクリュー管 (1 ml, マルエム製)
 + CH₂Cl₂ 0.1 ml, TFAA* 0.2 ml
 60°C, 30 min.
 * : TFAA = Trifluoroacetyl Anhydride
 冷 却
 N₂ ガスを吹き込んで、蒸発乾固
 + CH₂Cl₂ 0.1 ml
 0.3 μl を GC に注入

分析試料①～④のクロマトグラムで示すように、①は 2 個のピークに分離される (Fig.7)。③は①と同じリテンションタイムに同様に 2 個のピークを検出することから Norephedrine の D-, L-混合物と認められる (Fig.8)。④及び②は、単一ピークを検出し、④と②の混合物は 2 つに分離したので、④は D-Norpseudoephedrine と認められる (Fig.9～11)。

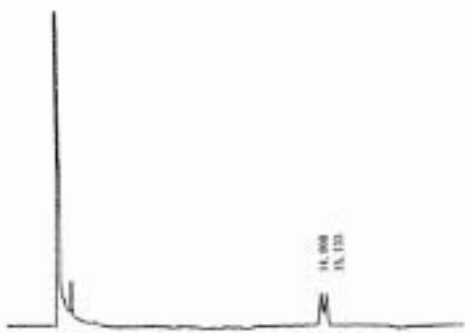


Fig.7 gas chromatogram of DL-Norephedrine (trifluoroacetylated)
 column : chiraldex B-DA, 145°C

⑤は、分離できなかった。⑥は TFA 化せずそのまま注入したところ、分離できた。 (Fig.12)。

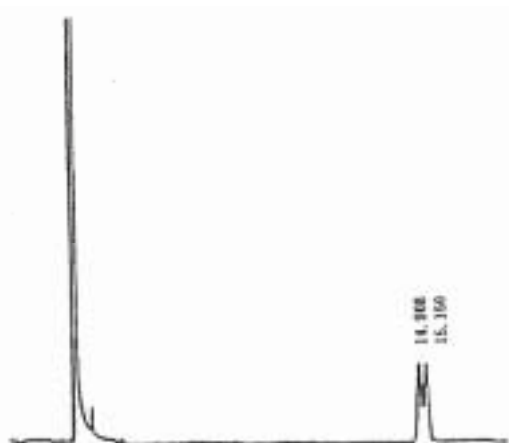


Fig.8 gas chromatogram of "Extract of DEXATRIM" (trifluoroacetylated)
 column : chiraldex B-DA, 145°C

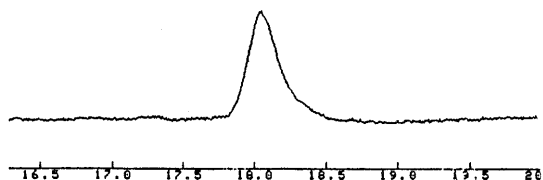


Fig.9 gas chromatogram of L-Norpseudoephedrine (trifluoroacetylated)
 column : chiraldex B-DA, 140°C

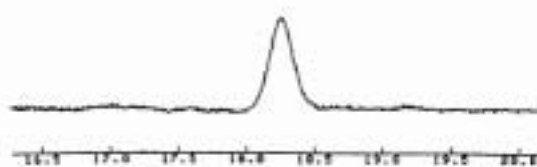


Fig.10 gas chromatogram of "Extract of Mirapront N" (trifluoroacetylated)
 column : chiraldex B-DA, 140°C

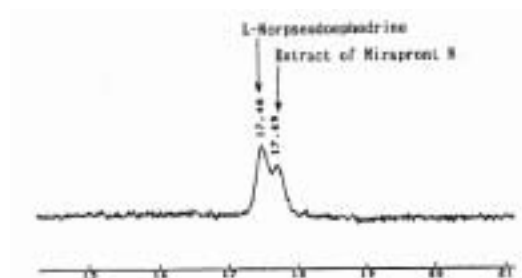


Fig.11 gas chromatogram of "Extract of Mirapront N" plus "L-Norpseudoephedrine" (trifluoroacetylated)
column : chiralDEX B-DA, 140°C

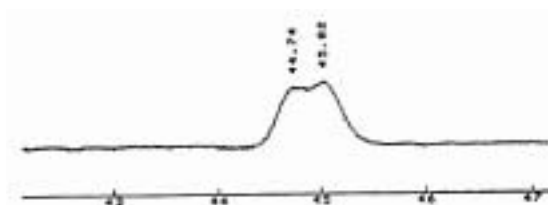


Fig.12 gas chromatogram of DL-α-Phenylethyl alcohol
column : chiralDEX B-DA, 80°C

2. 4. 2 ジアステロマー化試料のパックドカラム GC による分離^③

ラセミ体にキラルな化合物を作用させジアステロマー化する。たとえば、光学分割したい物質を(±)-Aとする。この(±)-Aにキラルな化合物、仮に(±)-Bを作用させ、(+)-A・(+)-Bおよび(-)-A・(+)-Bという化合物にする。この2つの化合物はもはやエナンチオマーの関係ではなく、ジアステロマーの関係にある。ジアステロマーは、化学的、物理的性質が異なるのでパックドカラムで分離することができる。

Packed Column : Carbowax20 M 0.75% Gas Chrom Q

3mm I.D. ×1.0m

Gas chromatograph : Shimadzu GC-15A

Injection temp.: 250°C

Detection temp.: 250°C

Detector : FID

Carrier gas : N₂, 50ml/min.

Chromatopac : Shimadzu C-R4A

試料の処理 (TFAP 化)
試料 1.0 mg → ガラス密栓なす瓶フラスコ (20 ml 容)
← Benzene 2 ml (完溶させる)
← TPC reagent* 1 ml
70°C, 5 min.
室温に冷却
← 1% NH₃ 1 ml
瓶とり後, 5 min. 静置
Benzene 数 ml を GC に注入

*TPC reagent : 1-proline 1.1g をガラス密栓フラスコにとり、減圧・125°Cで 15min. 乾燥し、室温に冷ます。あらかじめ4°Cに冷やしておいた TFAA 1.6ml を加え密栓し、完溶するまで温める。栓を外し、加温せずに減圧下で酢酸臭が無くなるまで蒸発させる。ロータリーエバポレータで粘液になるまで蒸発させたのち、真空乾燥機で蒸発させる。Thionyl chloride 約 10ml を加え、緩く栓をして 15min. 沸騰しないよう加温 (80°C) する。その後 N₂ ガスを通じつつ、穏やかに加温 (75°C) して Thionyl chloride を蒸発させる。残留物 (Trifluoroacetyl-1-prolyl chloride = TPC) は Benzene 100ml に溶かす。ガラス密栓フラスコで、4°C 以下で保存する。この試薬は微褐色透明液である。

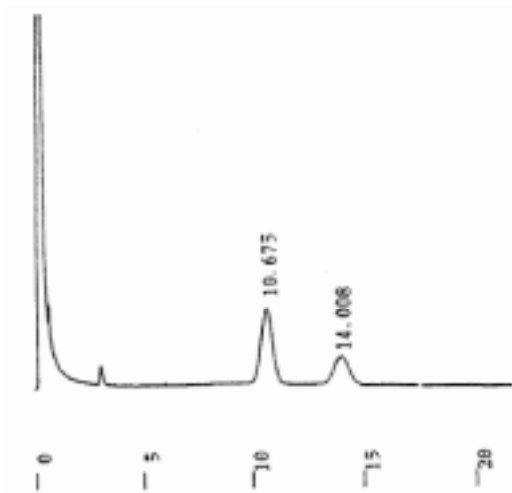


Fig.13 gas chromatogram of DL-Norephedrine (substituted by trifluoroacetyl-1-prolyl chloride)
column : carbowax 20 M 0.75% 1m, 205°C

上記 GC の結果, ①, ③は同じ R. T. に, それぞれ 2 個のピークを検出することから, ③は Norephedrine の D-, L-混合物と認められる (Fig.13,14)。④及び ②は, ほぼ単一のピークを検出し, ④と②の混合物は 2 つに分離したので, ④は D-Norpseudoephedrine と認められる (Fig.15~17)。

⑤は分離できた (Fig.18) が, ⑥は分離できなかった。

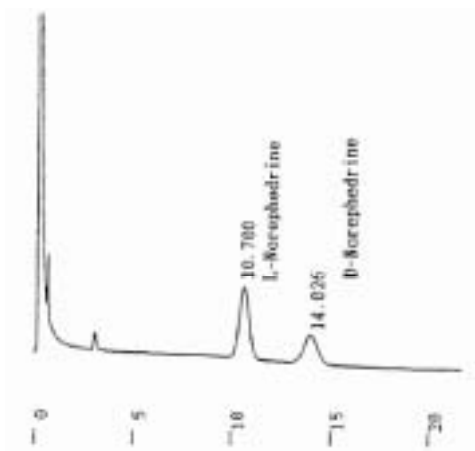


Fig.14 gas chromatogram of "Extract of DEXATRIM"
(substituted by trifluoroacetyl-1-ploryl chloride)
column : carbowax 20 M 0.75% 1m, 205°C

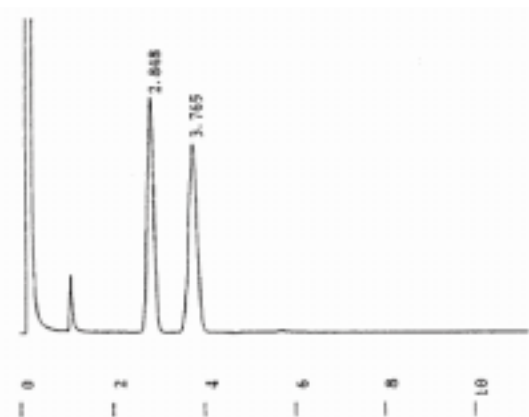


Fig.15 gas chromatogram of L-Norpseudoephedrine
(substituted by trifluoroacetyl-1-ploryl chloride)
column : carbowax 20 M 0.75% 1m, 205°C

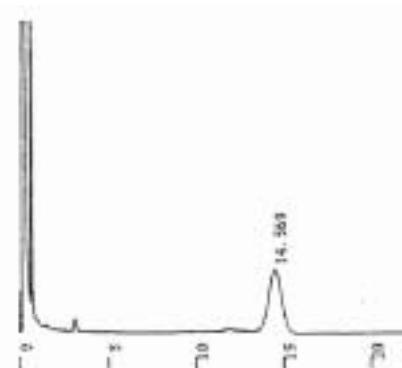


Fig.16 gas chromatogram of "Extract of Mirapront N"
(substituted by trifluoroacetyl-1-ploryl chloride)
column : carbowax 20 M 0.75% 1m, 205°C

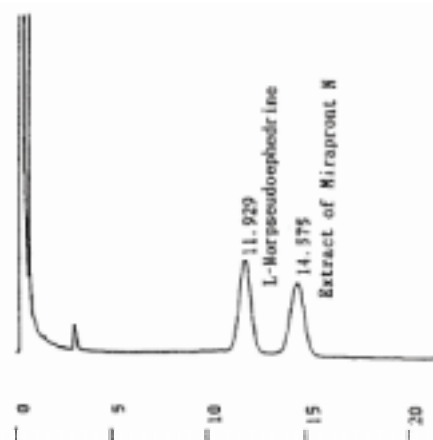


Fig.17 gas chromatogram of "Extract of Mirapront N"
plus "L-Norpseudoephedrine"
(substituted by trifluoroacetyl-1-ploryl chloride)
column : carbowax 20 M 0.75% 1m, 205°C

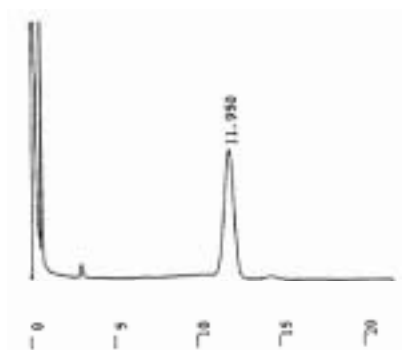


Fig.18 gas chromatogram of DL-Aminoethylbenzene
(substituted by trifluoroacetyl-1-ploryl chloride)
column : carbowax 20 M 0.75% 1m, 190°C

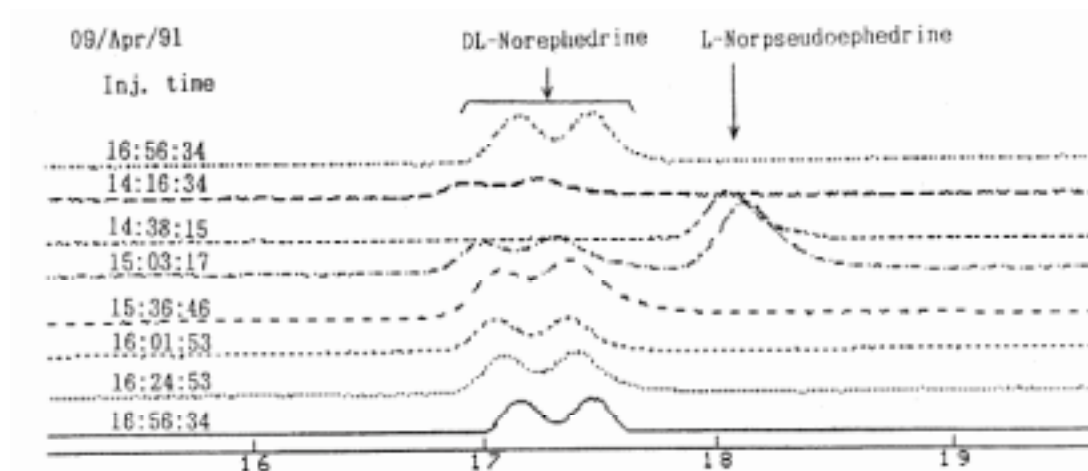


Fig.19 delay of retention time(Chiraldex B-DA)

3 結果と考察

3.1

“DEXATRIM”抽出物は、赤外吸収スペクトル及び薄層クロマトグラフィーにより Norephedrine と認められ、ガスクロマトグラフィーにより D-体、L-体の混合物と認められた。

“Mirapront N”抽出物は、赤外吸収スペクトル及び薄層クロマトグラフィーにより Norpseudoephedrine と認められ、ガスクロマトグラフィーにより D-体のもの(カチン)と認められた。

3.2

シクロデキストリン誘導体を固定相とするキャピラリーGC では、シクロデキストリンの大きさや誘導体の種類により、分離できる光学異性体が制限される。分離できるかできないかは、試してみないと判らないといわれているが Norephedrine 及び Norpseudoephedrine については分離できることが確認できた。D-体と L-体のリテンションタイムが近接し、分析回数を重ねると時間経過にしたがって僅かずつずれていく (Fig.19) が、ずれは大きなものでなく試料に標準品を添加して分析を行えば問題ない。ジアステレオマー化試料の Packed column GC による分離では、Norephedrine, Norpseudoephedrine と両エナンチオマーのリテンションタイムは大きく異なり、完全に分離できた。

上記いずれの GC 法でも Norephedrine 及び Norpseudoephedrine の光学異性体の分離が可能であった

が、キャピラリーカラムによる分離は、試料の前処理は簡単であるが、カラムがバックドカラムと較べ高価かつデリケートであるため取り扱いに注意を要する。

一方、バックドカラム GC では、ジアステレオマー化に用いる TPC reagent が、保存はできるが調製に時間がかかる(少なくとも3時間)ので、常に貯えておかねばならぬ。3mm×2.0m のカラムではリテンションタイムが大きく、ブロードなピークとなり適当でない。また、高濃度の充填剤もカラムの極性が強すぎるため適当でない。

4 要 約

シクロデキストリン誘導体を固定相とするキャピラリーGC 及びバックドカラム GC により光学異性体の分離を試みた結果、いずれの方法によっても目的とした d-threo-2-Amino-1-phenylpropan-1-ol を分離できた。税関の分析室において今後増加が予想される向精神薬の鑑定に際し、これらの方法は有用であることが判明した。

文 献

- (1) Daniel W. ARMSTRONG, Weiyong LI and Apryll M. STALCUP *Analytica Chemica Acta*, 234, 365 (1990)
 - (2) Wilfried A. KONIG, *Carbohydrate research*, 192, 51 (1989)
 - (3) “analysis of drugs”, Bureau of Narcotics and Dangerous Drugs U. S Department of Justice
(その他)
- 化学総説 (日本化学会編), 6 “光学異性体の分離”, (1989)