

## ノート

## 麻薬及び向精神薬の光学異性体の判別

柴田正志, 松本啓嗣, 野口大, 山崎光廣, 印出進\*

### Discrimination of Optical Isomers of Narcotics and Psychotropic Substances

Masashi SHIBATA, Yoshitsugu MATSUMOTO, Hiroshi NOGUCHI

Mitsuhiro YAMAZAKI and Susumu INDE

Tokyo Customs Laboratory

5 - 5 - 30, Konan, Minato - ku, Tokyo 108 - 8469 Japan

3 - Methoxy - N - methylmorphinan and threo - 2 - Amino - 1 - phenylpropane - 1 - ol are regulated by Narcotics and Psychotropic Substances Law. But 3 - Methoxy - N - methylmorphinan (except laevo - form) and threo - 2 - Amino - 1 - phenylpropane - 1 - ol (except dextro - form) are not regulated. Therefore we must distinguish enantiomeric isomers.

3 - Methoxy - N - methylmorphinan is often included in general cold medicine which contain lots of drugs, so we must separate it from other drugs. We studied the separation and distinction of optical rotation 3 - Methoxy - N - methylmorphinan by using of HPLC with Diode Array Detector (DAD) and optical rotation detector. 3 - Methoxy - N - methylmorphinan was separated from other drugs on - cyclodextrine bonded polymer column with 20mM phosphate buffer (pH4.9) – acetonitrile (95 : 5) as the mobile phase, and its optical form were distinguished.

There are four isomers of 2 - Amino - 1 - phenylpropan - 1 - ol as isomers of cathin. These four isomers were easily separated with 20mM phosphate buffer (pH6.0) as the mobile phase, and their optical form were distinguished with optical rotation detector.

It was found that optical isomers regulated by Narcotics and Psychotropic Substances Law were distinguished by using of HPLC with DAD and optical rotation detector.

### 1. 緒言

麻薬及び向精神薬取締法で規制されている薬物の中には、その光学異性体によって規制対象から外れるものがある。最近、分析依頼される製剤の中に、3 - メトキシ - N - メチルモルヒナン（メトルファン）を含有するものがよく見受けられるようになった。この 2 種類の光学異性体のうち、左旋性のもの（レボメトルファン）は、麻薬として麻薬及び向精神薬取締法で規制されているが、右旋性のもの（デキストロメトルファン）は規制対象外であるため、両者を識別するために、旋光性を確認する必要がある。分析依頼物品が純粋のものであれば、旋光度計で右旋性、左旋性を判別することは可能であるが、旋光度の測定には多量の試料が必要であり、現実には測定が困難である。

一方、他の薬物、賦形剤、結合材、滑沢剤等が共存している場合には、これらの共存物質により影響されるため、そのまま

では目的の薬物の旋光度を測定することはできない。また、抽出操作を行っても、完全に目的の薬物のみを単離することは難しい。ガスクロマトグラフィーや高速液体クロマトグラフィーは、目的とする薬物を共存する他の薬物等と分離する有効な手段である。近年、シクロデキストリン結合カラム等の光学異性体分離カラムによる光学分割の研究がされている<sup>1)</sup>。これらのカラムを用いれば、これら 2 種類の光学異性体を分離することが期待できるが、レボメトルファンの標準品の入手が難しいため、リテンションタイムからレボメトルファンを同定することは困難である。

また、2 - アミノ - 1 - フェニルプロパン - 1 - オールについても 4 種の立体異性体があるが、この中でカチン（トレオ - 2 - アミノ - 1 - フェニルプロパン - 1 - オールの右旋性のもの）だけが向精神薬として規制されているため、旋光性を確認する必要がある。ガスクロマトグラフィーにより光学異性体を

分離し、他の3種の異性体とリテンションタイムの違いから判別する方法が報告されている<sup>2), 3)</sup>が、カチンの標準品の入手が難しいため、カチンを同定することが困難である。

今回は、分析依頼のあった製剤について、主に高速液体クロマトグラフィーにより製剤中の目的物質を共存薬物等と分離し、旋光度検出器を用いて光学異性体を判別することを試みたので報告する。

## 2. 実験

### 2.1 試料

分析依頼品A：メトルファンを含有する錠剤

分析依頼品B：カチンを含有するカプセル

臭化水素デキストロメトルファン（和光純薬）

1 - Norpseudoephedrine Hydrochloride (Aldrich Chemical)

d - Norephedrine Hydrochloride (和光純薬)

l - Norephedrine Hydrochloride (和光純薬)

### 2.2 装置及び測定条件

#### 2.2.1 高速液体クロマトグラフィー (HPLC)

装置図をFig.1に示す。

装置：HP1090

検出器：ダイオードアレイ検出器

旋光度検出器：Shodex OR-2

カラム：Shodex CDB-453HQ 150×4.6mm id

移動相：20mM リン酸緩衝液 (pH4.9) / アセトニトリル

カラム温度：40

流速：0.2ml / mm

### 2.2.2 ガスクロマトグラフィー質量分析法(GC - MS)

装置：HP5890 SERIES / HP5972

カラム：HP - 5MS 30m×0.25mm id×0.25 μm

キャリアーガス：ヘリウム

注入口温度：320

カラム温度：100 (3分) 20 / min (11分) 320 (8分)

注入量：1 μl

### 2.2.3 赤外分光法

装置：Nicolet 社製 Magna - IRTM System750 Series

### 2.2.4 薄層クロマトグラフィー (TLC)

薄層板：MERCH Kieselgel 60 F254

展開液：クロロホルム：アセトン：メタノール：アンモニ

ア = 50 : 40 : 10 : 1

### 2.3 試料調製

#### 2.3.1 メトルファンを含有する錠剤(分析依頼品A)

錠剤1錠を粉碎し、クロロホルムで抽出したものをGC - MSで測定した。クロロホルムを除去した残留物についてFT - IRで測定した。また、残留物について極少量の移動相に溶かし、0.45 μm のメンブランフィルターでろ過したものをHPLC用の試料溶液とした。

#### 2.3.2 カチンを含有するカプセル(分析依頼品B)

カプセル内容物をクロロホルムで洗浄した後、IN - HClで抽出後、蒸発乾固した。これに、クロロホルムを加えて抽出し、除去したものをFT - IRで測定した。残留物を極少量の移動相に溶かし、0.45 μm のメンブランフィルターでろ過したものをHPLCの試料溶液とした。

また、カプセル内容物をIN - NaOH 塩基性にし、クロロホルムで抽出したもについて、GC - MSで測定した。

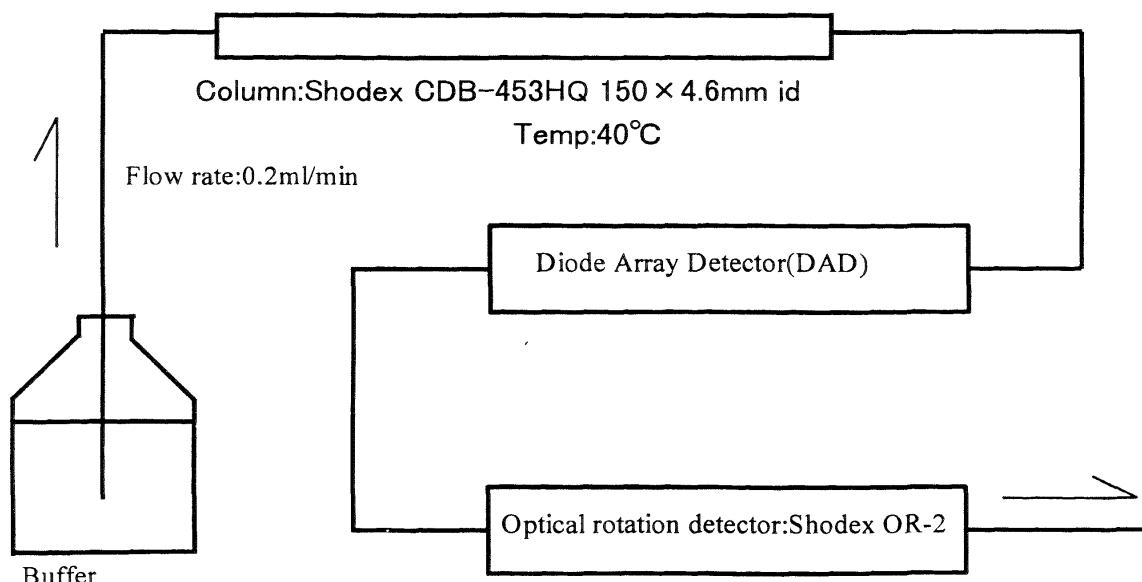


Fig.1 Diagram of HPLC

### 3. 結果及び考察

#### 3.1 メトルファンを含有する錠剤

##### 3.1.1 赤外線吸収スペクトルの測定

標準のデキストロメトルファンとレボメトルファンの赤外線吸収スペクトルを Fig.2 に示す。それぞれを比較してもほとんど違いがみられないため、メトルファンのみを含有する錠剤でも、2つの異性体を判別することは困難である。

錠剤のクロロホルム抽出物の赤外線吸収スペクトル (Fig.3) は、トータルイオンクロマトグラムで最大のピークを示すサリ

チルアミドを主体とした吸収を示し、メトルファンの吸収はほとんど見られなかった。

##### 3.1.2 GC - MSによる測定

Fig.4 にクロロホルム抽出物のトータルイオンクロマトグラムを示す。メトルファン、サリチルアミド、カフェイン、クロルフェニラミン及びアセトアミノフェンのピークを分離することができた。Fig.5 に標準のデキストロメトルファンとレボメトルファンの質量スペクトルを示す。いずれも同様のスペクトルを示し、質量スペクトルからは、メトルファン2種の異性体の判別は難しい。

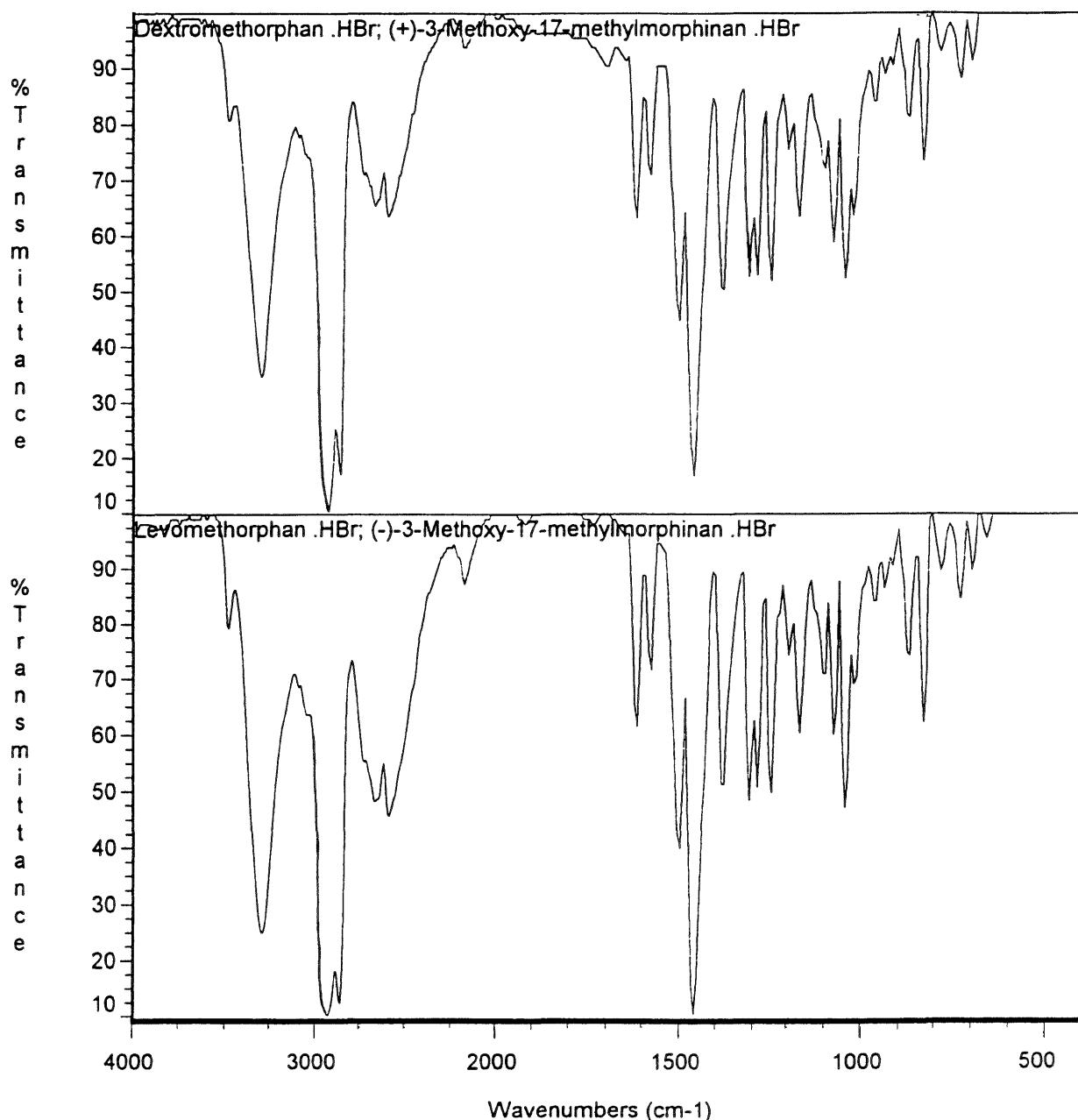


Fig.2 Standard Infrared Spectra

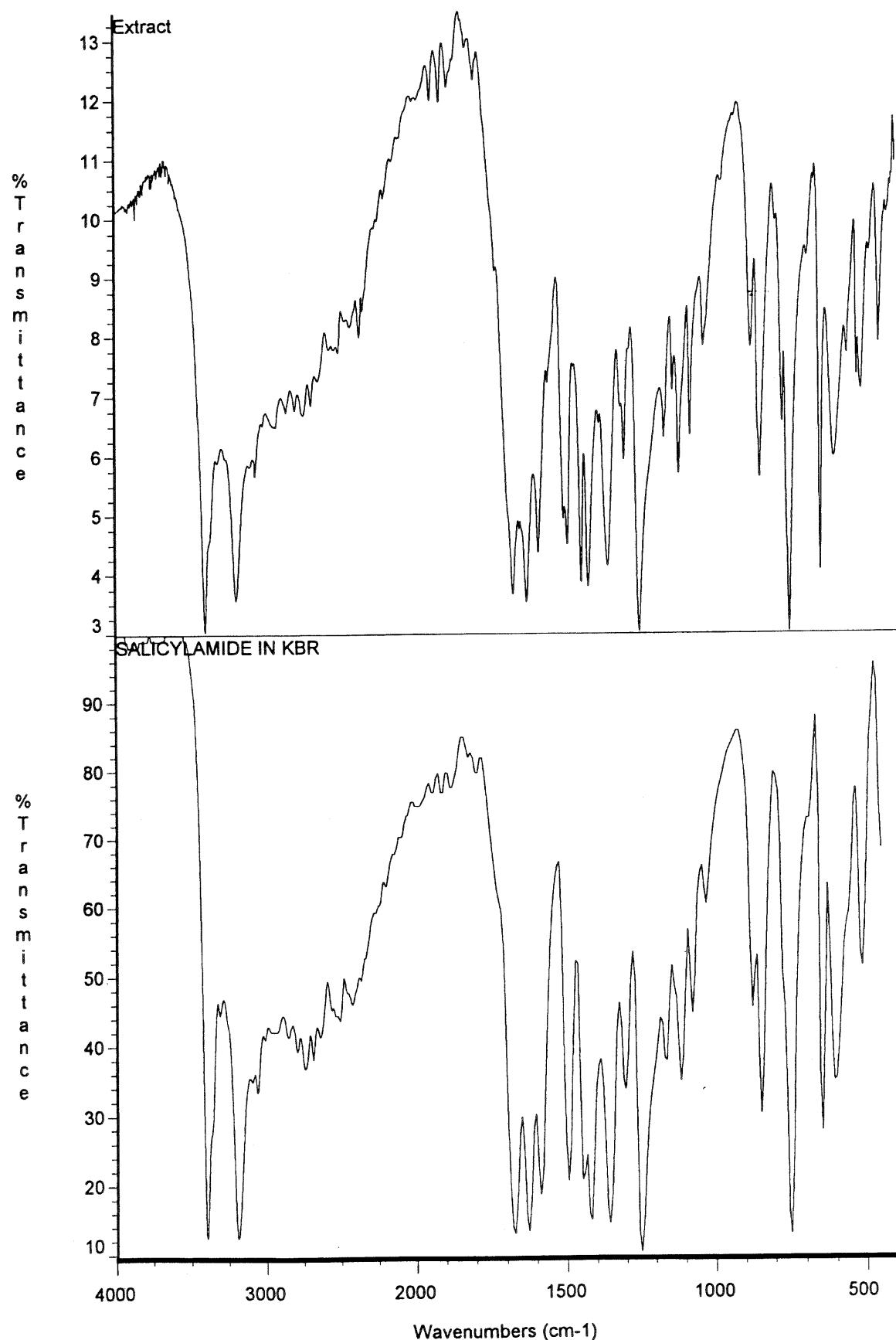


Fig.3 Infrared Spectra of extract of tablet

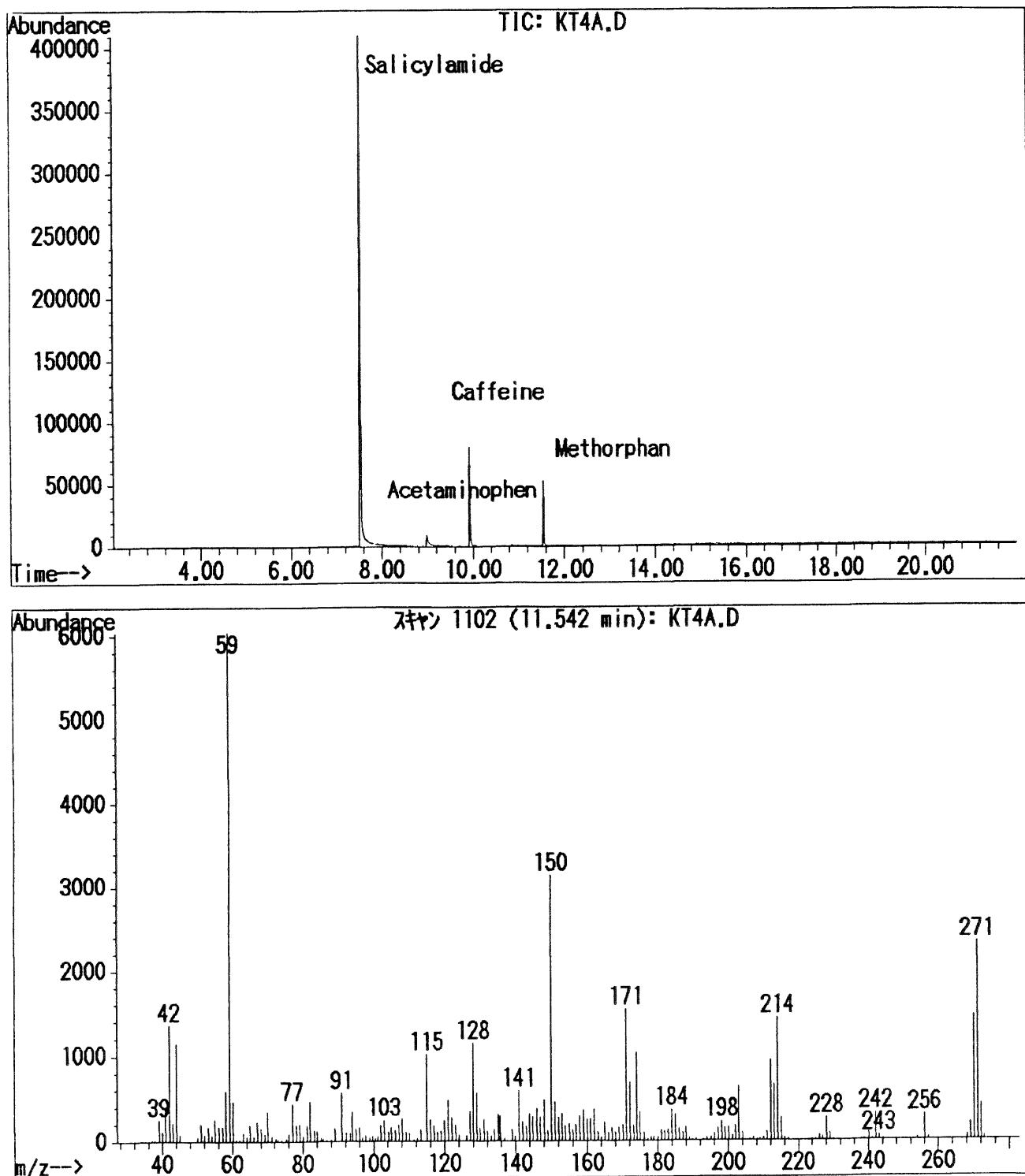


Fig.4 Total Ion Chromatogram and Mass Spectra of Extract of tablet

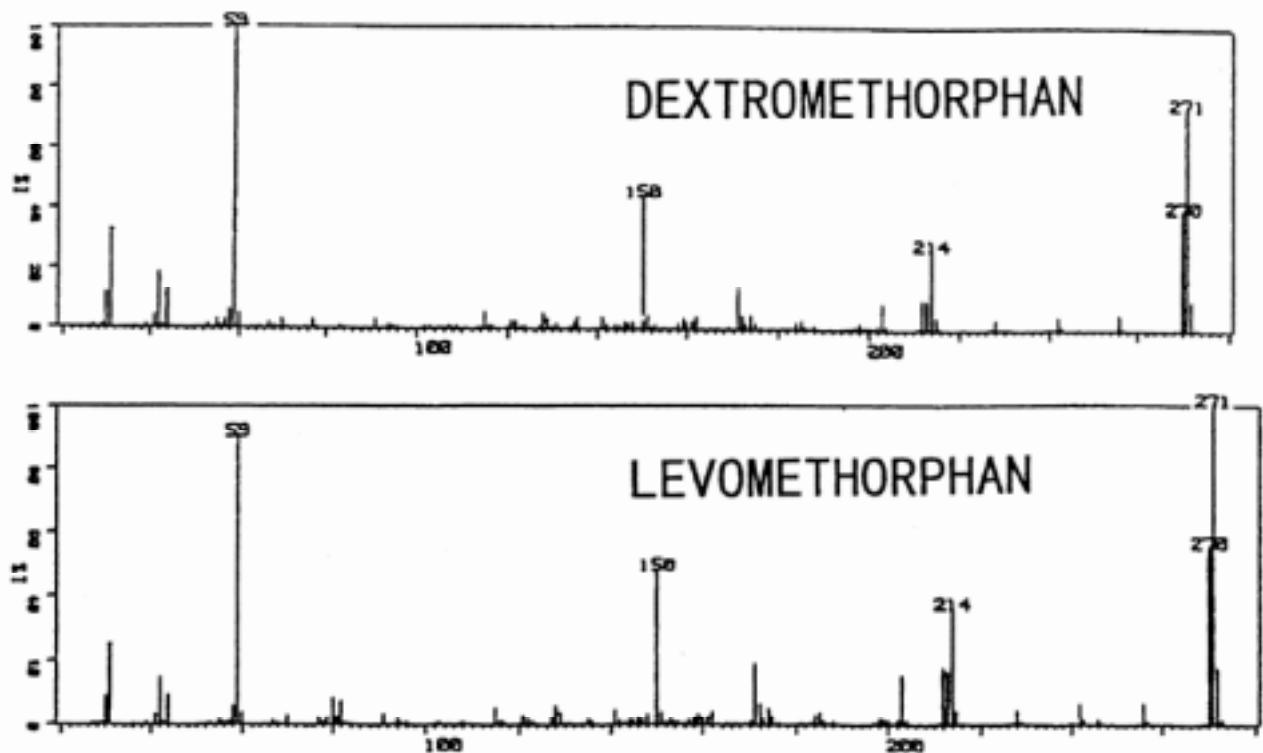


Fig.5 Standard Mass Spectra of Levomethorphan and Dextromethorphan

しかし、他のピークとの分離が可能なので、GC - MS はメトルファンの検出には有効と考えられる。

### 3.1.3 HPLC による分離と旋光性の判別

#### 3.1.3.1 カラムの検討

以下のカラムを用いて、メトルファンの溶離条件を検討した。

##### ODS カラム (HP HYPERSIL ODS)

通常、当閲分析室で麻薬・向精神薬の分析に使っている ODS カラムでは、水・メタノール、リン酸緩衝液・アセトニトリル等の移動相で溶離条件を検討したがピークは検出されなかった。

##### シリカゲルカラム (GL Sciences INERTSIL SIL)

ヘキサン、メタノール、クロロホルム、濃アンモニア = 250:100:50:0.2 を移動相として用いるとピークを検出することができた (Fig.6)。しかし、ピークがテーリングしているため、複数成分の製剤では分離が困難である。ま

た、通常行われている薬物、糖等の分析は水系であるが、この条件は非水系なので他の実験に支障がある。

#### シクロデキストリン結合カラム (Shodex CDB - 453HQ)

このカラムは、光学異性体疎水性の部分構造をシクロデキストリンの環状内部に包接することにより、光学異性体を分離するものである。シクロデキストリン環の大きさによって分離に適した物質が決まるが、本実験で用いたカラムは、- シクロデキストリンを用いたもので、最も汎用性の高い光学分割用カラムとされている。

このカラムを用いたところ、移動相として 20mM リン酸緩衝液 (pH4.9) / アセトニトリル = 85 / 15 を用いることにより、ピークを検出することができ、ピーク形状は良好であった (Fig.7)。

#### 3.1.3.2 分離条件の検討

シクロデキストリン結合カラムを用い、移動相を 20mM

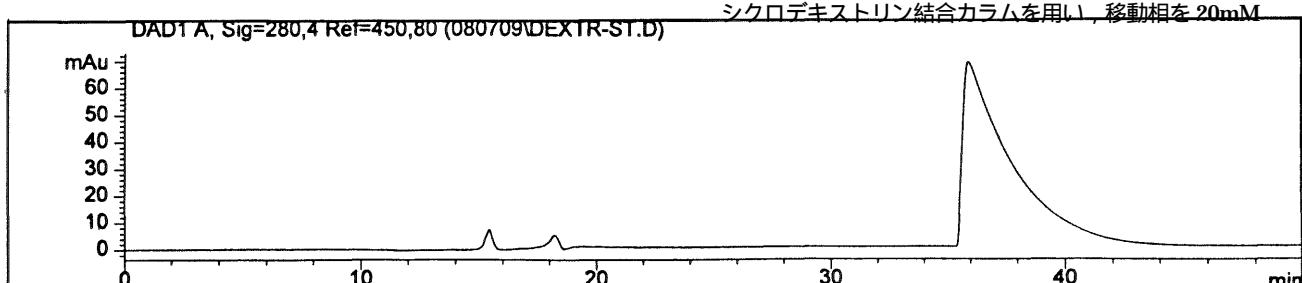


Fig.6 Liquid Chromatogram of Dextromethorphan

(Column : GL Sciences INERTSIL SIL )

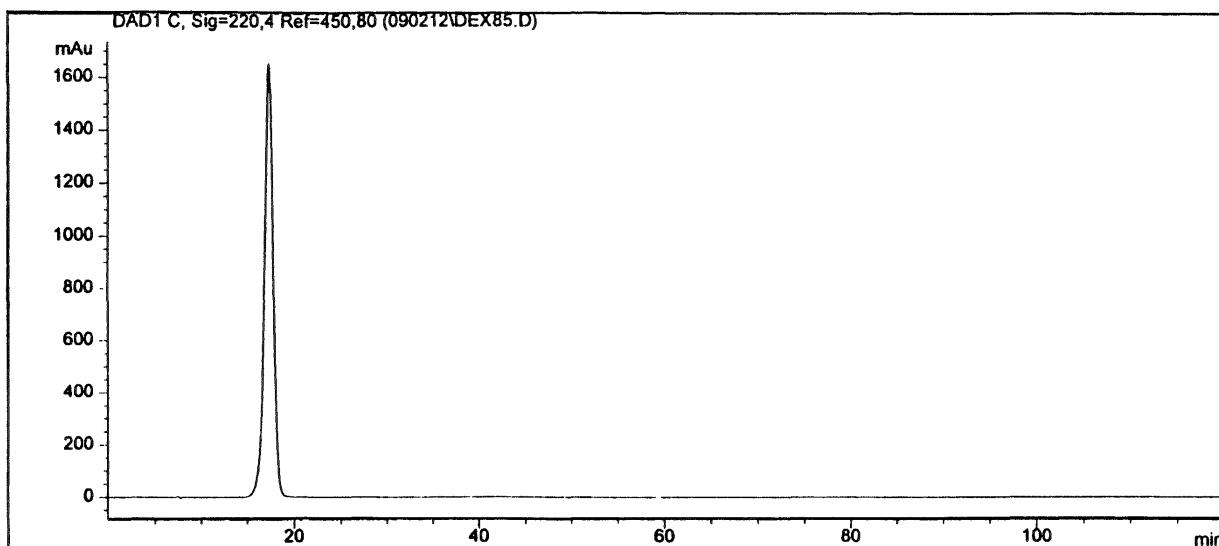


Fig.7 Liquid Chromatogram of Dextromethorphan  
(Column : Shodex CDB - 453HQ)

リン酸緩衝液 (pH4.9) / アセトニトリル = 85 / 15 として、分離条件を検討した。錠剤中にデキストロメトルファンと共に存することが多いいくつかの薬物について、上記の条件における保持時間を Table . 1 に示す。ほとんどの薬物はデキストロメトルファンに影響を与えない位置にピークが検出されたが、アセトアミノフェンはデキストロメトルファンと同位置にピークが検出された。この分離条件では、デキストロメトルファンとアセトアミノフェンのピークが重なってしまうため、メトルファンの旋光性を確認することはできない。

そこで、アセトニトリルの割合を変化させ、メトルファンと共に存する物質の分離挙動を検討した。Fig.8 に示すように、アセトニトリルの割合を減少させていくにつれて、アセトアミノフェンとデキストロメトルファンが良好に分離されることがわかった。Fig.9 に、総合感冒薬の中のおもな成分について、アセトニトリルの割合に対する共有物質

のリテンションタイムの変化を示す。このように、アセトニトリル 0 ~ 5% の範囲では、デキストロメトルファンは他の薬物と良好に分離されることがわかった。アセトニトリル 0% では分析に要する時間が長くなるため、20mM リン酸緩衝液 (pH4.9) / アセトニトリル = 95 / 5 を移動相条件とした。

### 3 . 1 . 3 . 3 旋光性の確認

旋光度の絶対値は個々の物質によって異なるが、旋光度検出器の感度はそれほど高いものではない。デキストロメトルファンについては、S/N = 2 を検出限界とすると、 $4.3 \times 10^{-1} \text{ mg/ml}$  であった。同条件で、DAD210nm のピークと比較すると 1 / 285 でしかない。また、通常の総合感冒薬では、アセトアミノフェン、サリチルアミド、エテンザミド等の成分が主で、デキストロメトルファンは微量である。そこで、製剤を多量のクロロホルムで抽出した後、蒸発残留物に対して、極少量の移動相で抽出し、試料濃度を高めた。

Fig.10 に、DAD210nm 及び旋光度検出器による液体クロマトグラムを示す。DAD では、メトルファン、サリチルアミド、カフェイン、クロルフェニラミン、アセトアミノフェン及びフェニルプロパノールアミンの UV スペクトルを示すピークが認められた。また、DAD のメトルファンに対応するピークは、旋光度検出器では右旋性を示した。したがって、このピークは、デキストロメトルファンと判別することができた。

### 3 . 1 . 4 メトルファンを含有する錠剤一般への応用

以上の結果から、メトルファンを含有する錠剤の分析手順を Fig.11 に示す。

Table 1 Retention Time of Drugs in general cold medicines

Drug	Retention Time (min.)
Aspirine	70.7
Salicylamide	26.3
Acetaminophen	17.5
Dextromethorphan	17.4
Etenzamide	11.8
l-Chlorpheniramine	10.5
l-Norephedrine	9.90
d-Chlorpheniramine	9.90
Guifenesin	9.66
d-Norephedrine	9.28
Triprolidine	8.14
Caffein	7.62
d-Methylephedrine	7.56
l-Methylephedrine	7.56

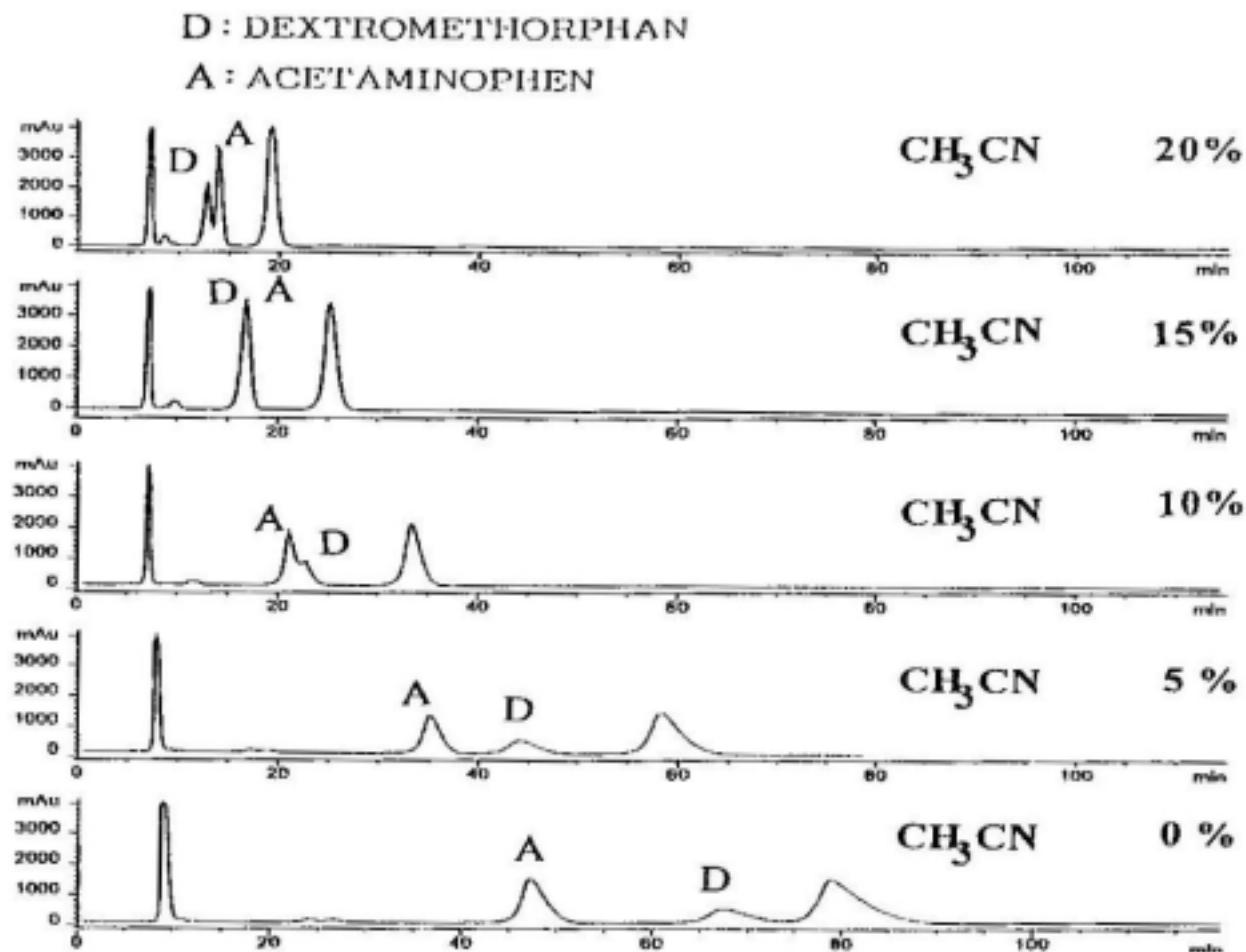


Fig.8 Liquid Chromatogram of Dextromethorphan, and the other drugs

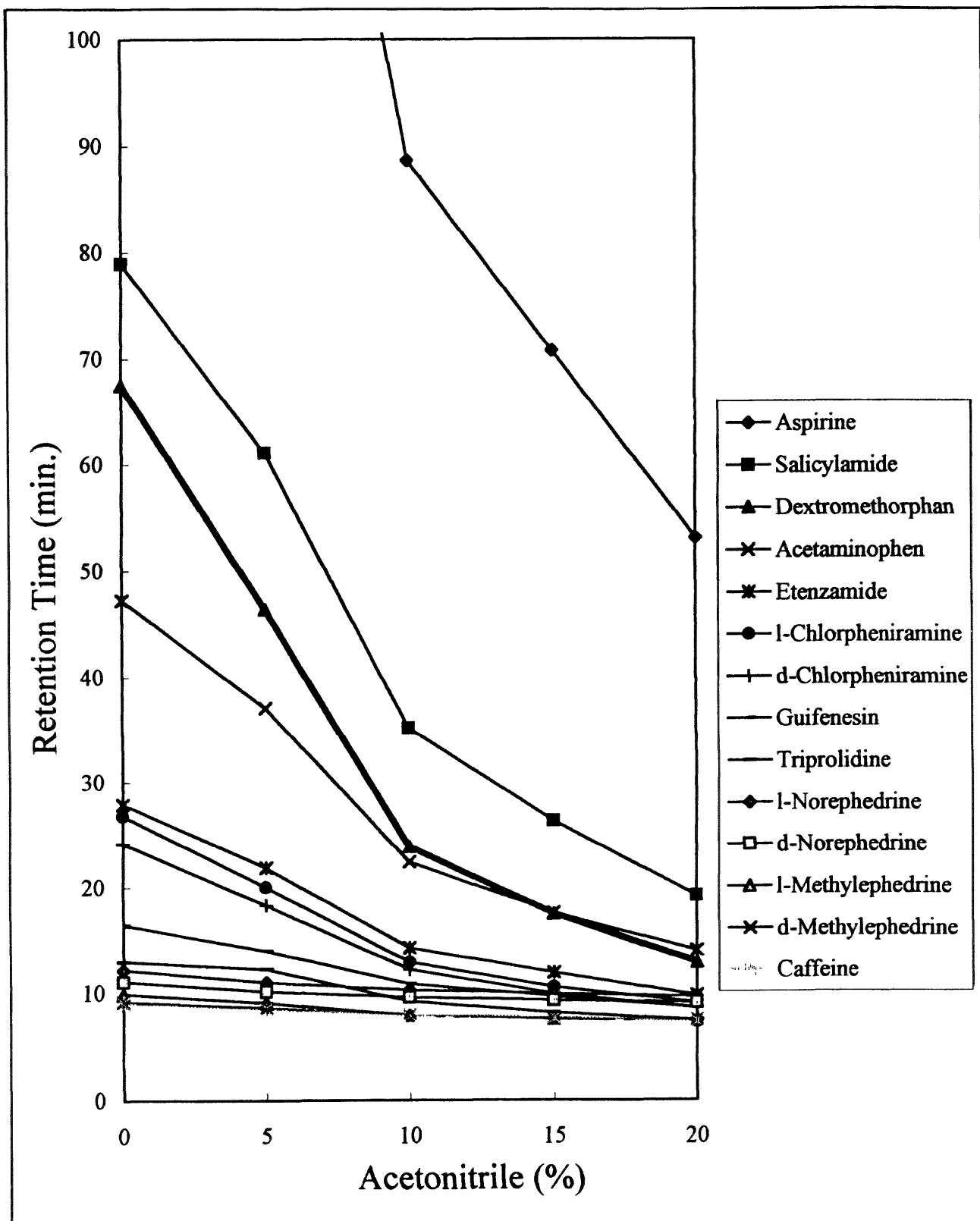


Fig.9 Retention Time of Drugs in general cold medicines

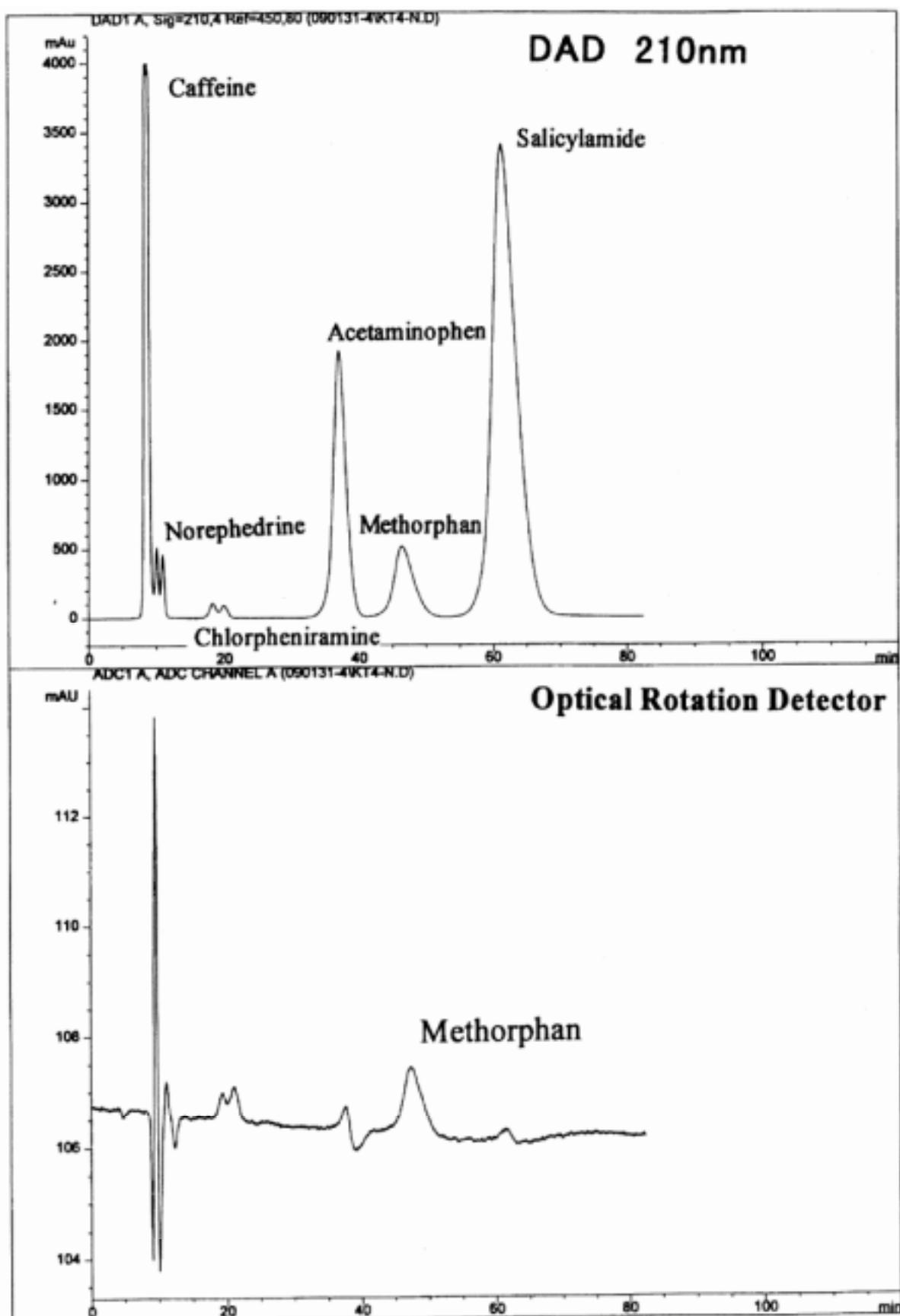


Fig.10 Liquid Chromatogram of Extract

Mobil phase:20mM phosphate buffer(pH4.9) - acetonitrile(95:5)

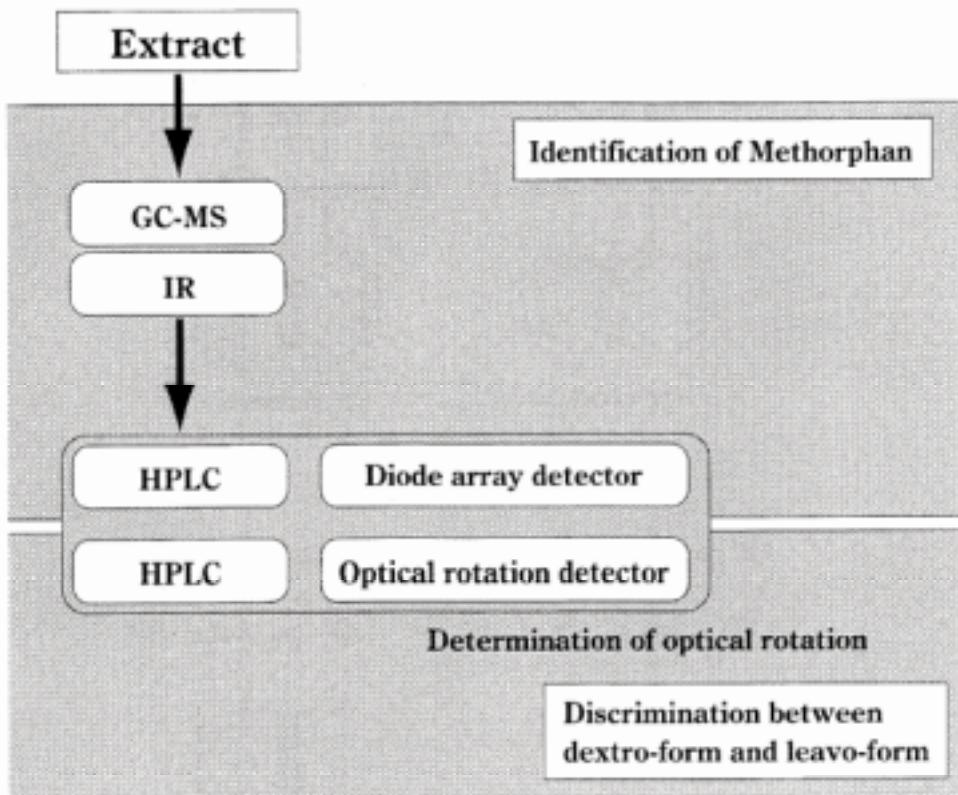


Fig.11 Analysis of Methorphan

### 3.2 カチンを含有するカプセル

2-アミノ-1-フェニルプロパン-1-オールには Fig.12 に示すように *d*-ノルプソイドエフェドリン, *I*-ノルプソイドエフェドリン, *d*-ノルエフェドリン及び *I*-ノルエフェドリンの 4 種類の異性体がある。この中で、麻薬及び向精神薬に該当するものはカチン (*d*-ノルプソイドエフェドリン) だけなので、その他の 3 種異性体と判別する必要がある。

#### 3.2.1 赤外線吸収スペクトルによるノルエフェドリンとノルプソイドエフェドリンの判別

Fig.13 に標準の *I*-ノルプソイドエフェドリン塩酸塩, *d*-ノルエフェドリン塩酸塩, *I*-ノルエフェドリン塩酸塩及びカプセル抽出物の赤外線吸収スペクトルを示す。ノルエフェドリン塩酸塩とノルプソイドエフェドリン塩酸塩は異なる吸収を示し、両者の判別は可能である。カプセル抽出物は、標準のノルエフェドリン塩酸塩の吸収と異なり、*I*-ノルプソイドエフェドリンと同様の吸収を示した。したがって、カチンの可能性があるといえる。

#### 3.2.2 GC-MSによる測定

カプセル内容物を 1N-NaOH 塩基性にし、クロロホルムで抽出したものについて、GC-MS で測定したトータルイオンクロマトグラム及び質量スペクトルを Fig.14 に示す。質量スペクトルは 2-アミノ-1-フェニルプロパン-1-オールのスペクトルを示すが、質量スペクトルからノルエフェドリン及びノルプソイドエフェドリンの判別は難しい。

### 3.2.3 TLCによるノルエフェドリンとノルプソイドエフェドリンの判別

ノルエフェドリンとノルプソイドエフェドリンは、Rf 値が異なり Fig.15 にカプセル抽出物と標準のノルプソイドエフェドリン、ノルエフェドリンの薄層クロマトグラムを示す。カプセル抽出物は標準のノルプソイドエフェドリンと同位置にスポットが確認された。

#### 3.2.4 HPLCによる旋光性的判別

カプセル内容物をクロロホルムで洗浄し、IN-HC1 で抽出後、蒸発乾固したものをクロロホルムで抽出する。さらにクロロホルムを蒸発させ、残留物を極少量の移動相で溶かし、0.45 μm のメンブランフィルターでろ過したものを試料溶液とした。

Fig.16 に移動相 20mM リン酸緩衝液 (pH4.9) を用いたときのカプセル抽出物の HPLC のデータを示す。DAD210nm では 1 ピークが検出された。このピークの UV スペクトルは、標準のノルプソイドエフェドリン及びノルエフェドリンと同様の吸収を示し、両者を区別することはできない。しかし、旋光度検出器では右旋性を示すピークが得られることから、*d*-ノルプソイドエフェドリン、*d*-ノルエフェドリンのどちらかと考えられる。

IR と TLC の結果から、ノルプソイドエフェドリンと判明していることから、このピークは右旋性のノルプソイドエフェドリンすなわちカチンであると認められる。

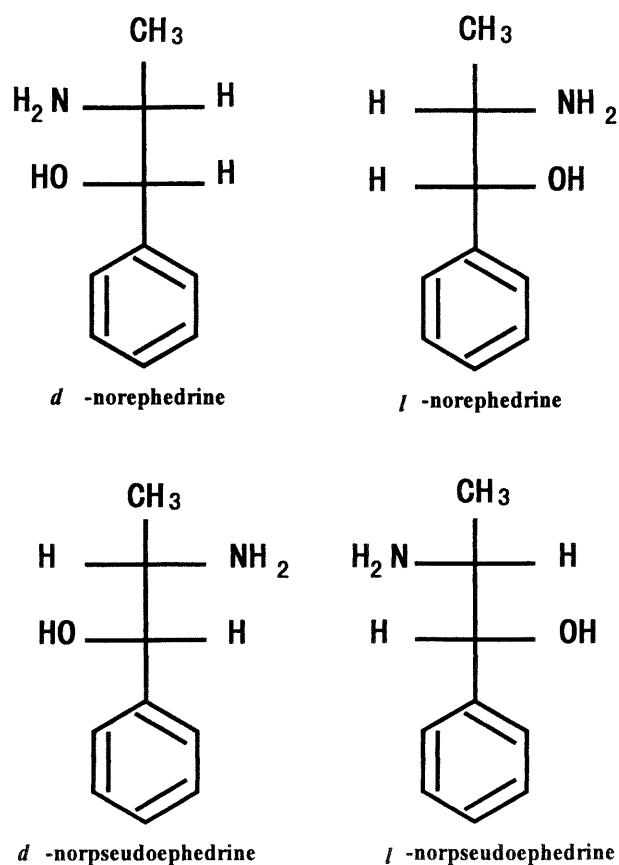


Fig.12 Stereoisomers of 2 - amino - 1 - phenylpropane - 1 - ol

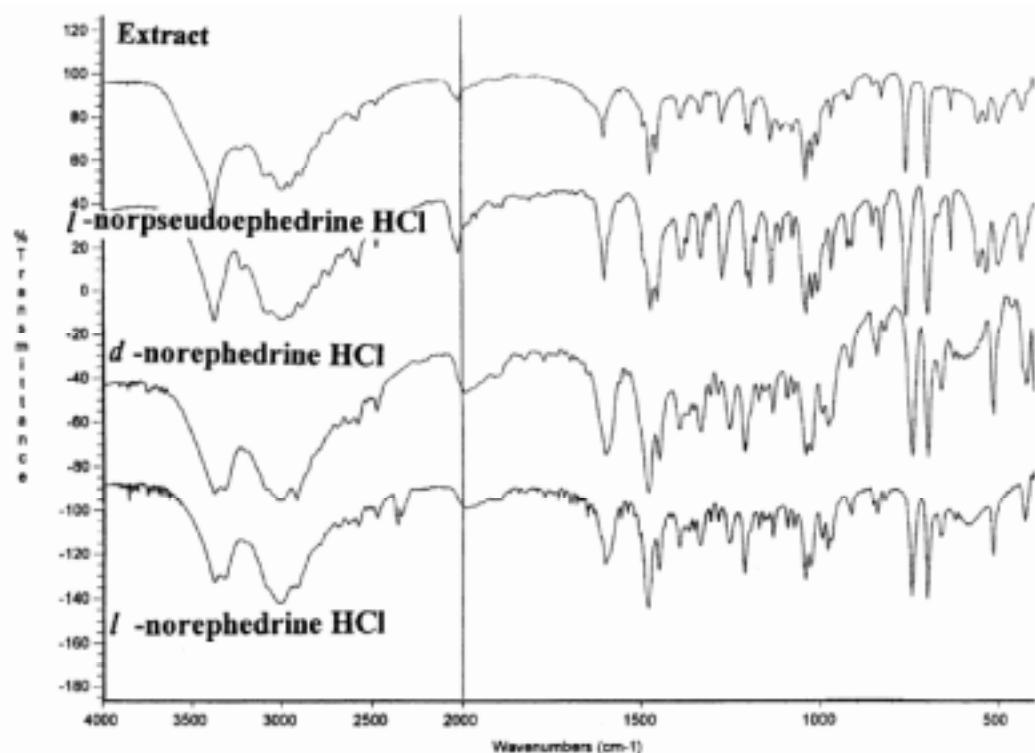


Fig.13 Infrared Spectra of Extract and Isomers

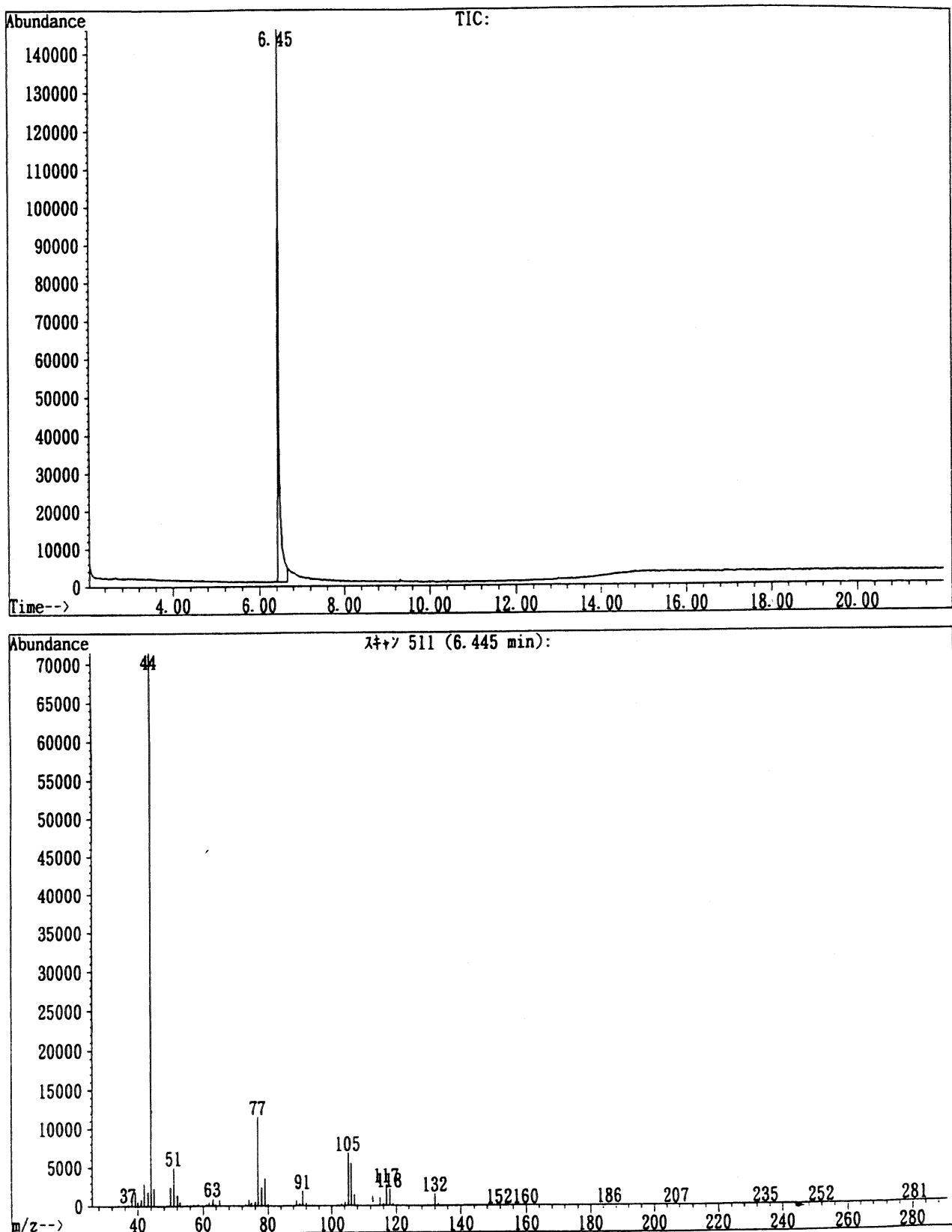


Fig.14 Total Ion Chromatogram and Mass Spectra of Extract

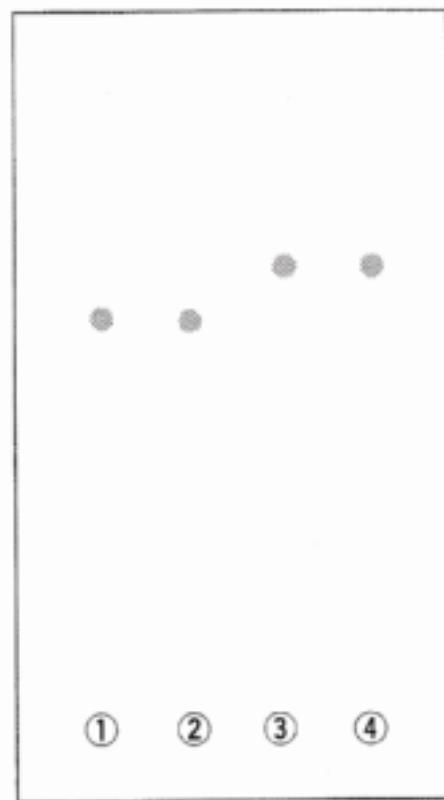


Fig.15 Thin layer chromatogram

l - norephdrine	Extract
d - norephdrine	l - norpseudoephdrine

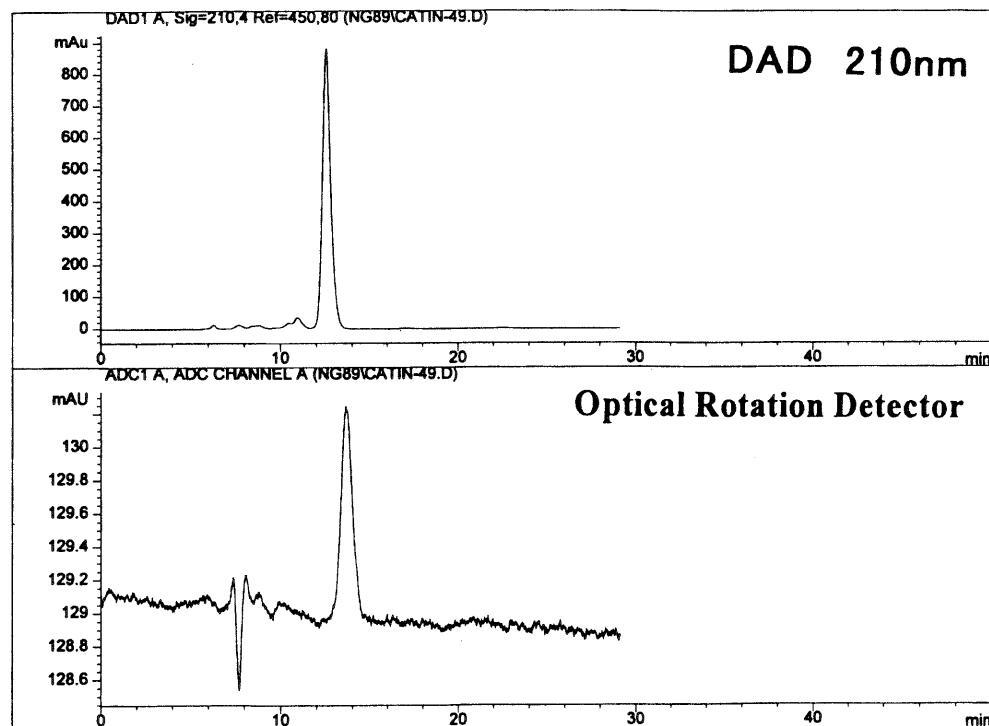


Fig.16 Liquid Chromatogram of Extract

Mobil phase : 20mM phosphate buffer (pH4.9)

### 3.2.5 HPLCによる4種異性体の分離

以上的方法でカチンの確認はできるが、HPLCでの4種の異性体の分離条件について検討した。前記の移動相を用い、カプセル抽出物と、他の3種の異性体を混合して分析したもののクロマトグラムをFig.17に示す。この条件では、4種の異性体は明確に分離されなかった。そこでこの4種の異性体を分離するために移動相の検討を行った。Fig.18に移動相のpH変化に対する4種の異性体の保持時間を示す。移動相のpHが低くなるにしたがってピークが接近し、分離が悪くなつた。逆にpHを上げていくと、pH6.0で良好に分離され、それぞれのピークの旋光性も確認することができた。Fig.19に移動相pH6.0におけるクロマトグラムを示す。

カチンの検出限界については、標準品がないため議論することはできないが、左旋性と右旋性の物質の旋光度の絶対値はほぼ等しいので、標準のD-ノルブソイドエフェドリンを使って検出限界を推定した。S/N=2を検出限界とすると、検出限界は $2.5 \times 10^{-1} \text{ mg/mL}$ で、デキストロメトルファンと同オーダーであった。したがって、デキストロメトルファンの試料調製と同様、旋光性の確認には高濃度の試料溶液が必要である。

### 3.2.6 カチンを含有する錠剤一般への応用

以上の結果から、カチンを含有する錠剤の分析手順をFig.20に示す。

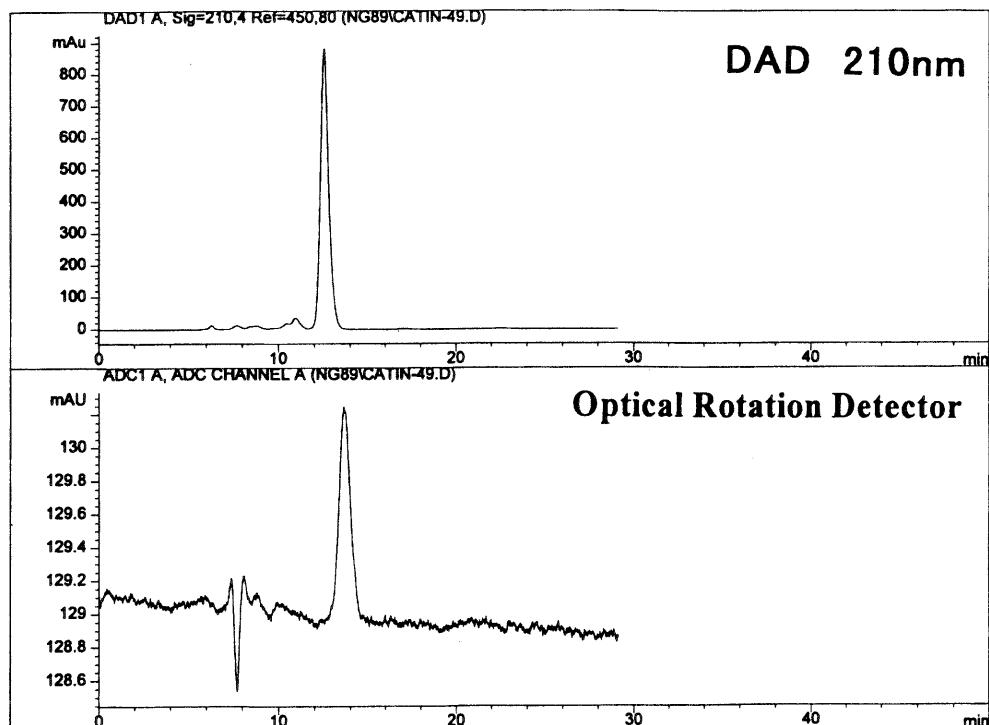


Fig.17 Liquid Chromatogram of Extract and Isomers

Mobil phase : 20mM phosphate buffer (pH4.9)

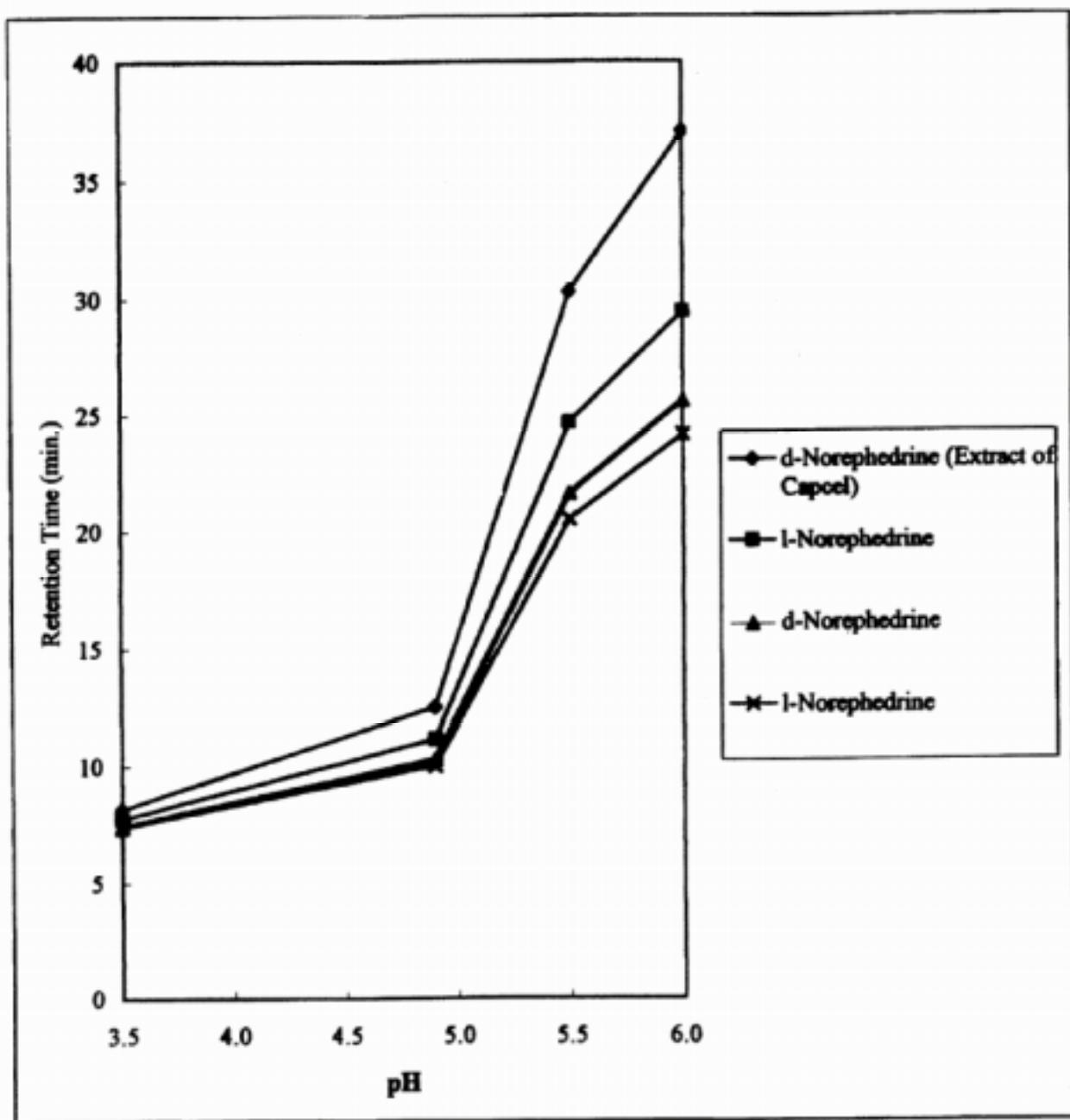


Fig.18 Retention Time of 2 - amino - 1 - phenylpropane - 1 - ol

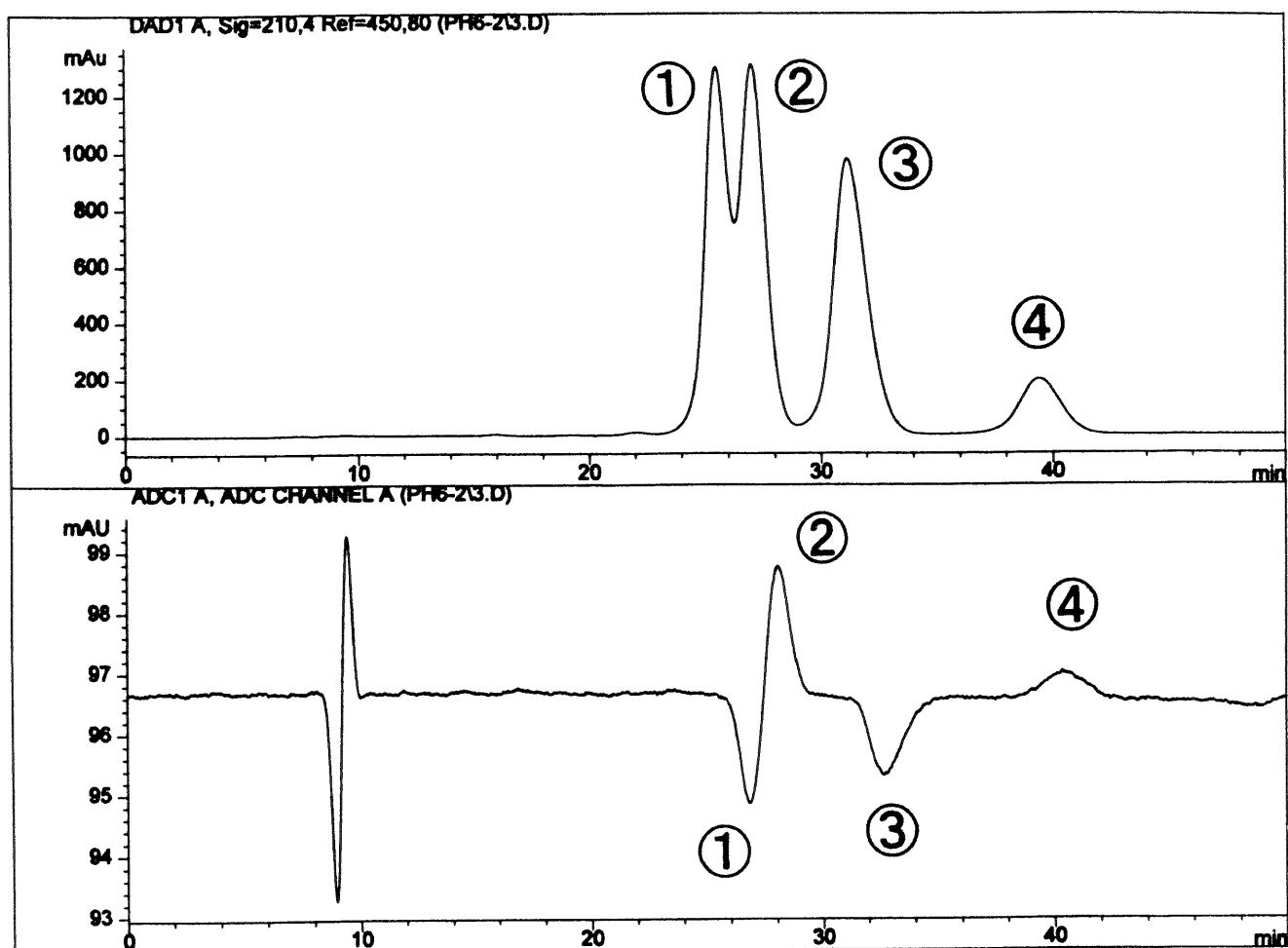


Fig.19 Liquid Chromatogram of Extract and Isomers

Mobil phase: 20mM phosphate buffer (pH6.0)

l - norephdrine

d - norephdrine

l - norpseudoephdrine

Extract

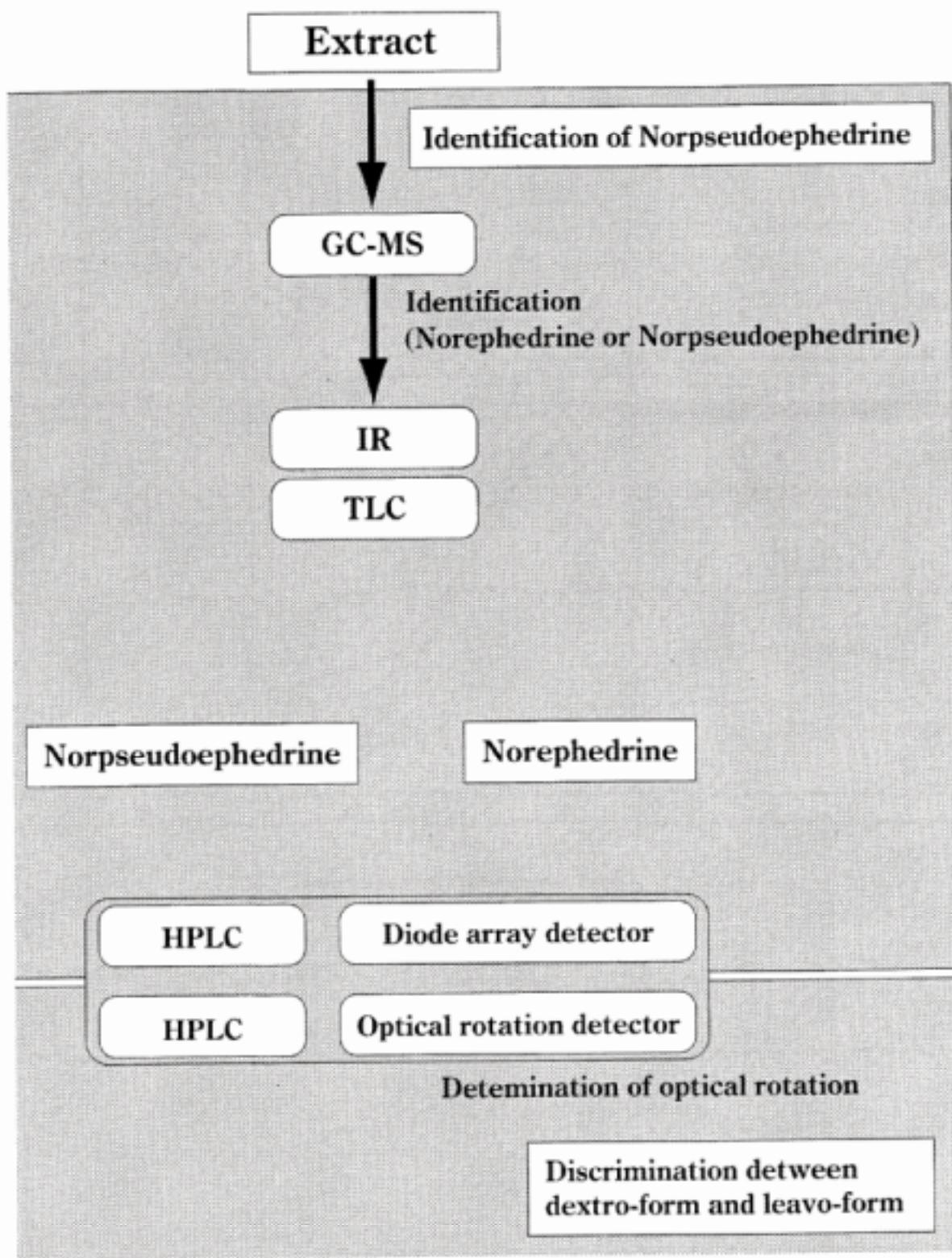


Fig.20 Analysis of 2 - Amino - 1 - phenylpropan - 1 - ol

#### 4. 要 約

メトルファンについて、HPLCにおいてシクロデキストリン結合カラムを用いて移動相を検討した結果、良好なピークが得られた。また、総合感冒薬中の主要な共存薬物とメトルファンは、20mM リン酸緩衝液 (pH4.9) / アセトニトリル = 95 / 5 を移動相として用いることにより良好に分離することができ、旋光度検出器を用いてレボメトルファンとデキストロメトルファンの判別が可能であった。

カチン (*d*-ノルプソイドエフェドリン) 及びその異性体について、HPLCにおける移動相を検討した結果、4種類の立体異性体を良好に分離することができた。また、旋光度検出器を用いることによりノルプソイドエフェドリン及びノルエフェドリンの光学異性体の判別が可能で、カチンを他の3種の異性体と判別することができた。

このように、HPLCと旋光度検出器の組合わせにより、麻薬及び向精神薬の光学異性体の判別が可能であることがわかった。

#### 文 献

- 1) 二村典行: ぶんせき, 119 (1994)
- 2) 朝長洋祐, 廣瀬達也, 葉山良子, 氏原覚: 本誌, 31, 141 (1992)
- 3) 小曾根一欽, 松崎隆一, 佐藤重剛, 山崎光廣, 古川広: 本誌, 36, 27 (1997)