

## 報 文

## 向精神薬フェンテルミンを認識するセンサー開発

片岡 憲治\*，勝 孝\*\*

## Development of a Phentermine Sensor Using Ion - Selective Electrode

Kenji KATAOKA\* and Takashi KATSU\*\*

\*Central Customs Laboratory, Ministry of Finance,  
531, Iwase, Matsudo, 271-0076, Japan\*\*Faculty of Pharmaceutical Sciences, Okayama University,  
1-1-1, Tsushima-naka, Okayama, 700-8530, Japan

A phentermine sensor was constructed using a poly (vinyl chloride) matrix type of ion-selective electrode. N,N, N', N'-Tetracyclohexyl-1,2-phenylenedioxydiacetamide was incorporated as a neutral carrier for phentermine and bis (2-ethylhexyl) sebacate as a membrane solvent in a poly (vinyl chloride) membrane matrix to form the electrode. This neutral carrier, commercially available from Fluka in the name of sodium ionophore III, significantly strengthened a response to phentermine and suppressed responses to other psychotropic drugs such as nitrazepam, diazepam, midazolam or chlordiazepoxide. The interference by  $\text{Na}^+$  was negligible. The electrode exhibited a near-Nernstian response to phentermine in the concentration range from  $5 \times 10^{-5}$  to  $1 \times 10^{-3}$  M in 10mM HCl with a slope of 53.5mV per concentration decade. The limit of detection was  $7 \times 10^{-6}$  M.

## 1. 緒 言

薬物の乱用とその背景にある密輸・密売に関しては世界的に深刻な社会問題であり、国際連合及びサミット等でその解決に向けた取り組みがなされていることは周知のとおりである。とりわけ我が国では現在「第3次覚せい剤乱用期」といわれ、薬物乱用が少年層まで拡大しており深刻な社会問題となっている。このため、各取締機関において、効果的な取り組みを進めているうえでも現場で利用でき、簡便かつ的確な薬物判定法（分析法）の開発が望まれている。

渡辺らは、覚せい剤（メタンフェタミン及びアンフェタミン）あるいは麻薬（コカイン）に応答する電極を開発しており、また、市販の汎用デジタルテスターを利用した携帯型の検討も進めている<sup>1-4</sup>。電極法は、pH メーターに代表されるように、電極を試料溶液に浸すだけで特定イオン（薬物）を定量できるという特長から、現場における判定に適した方法の一つとして評価できる。

私達は特に、税関等の現場で向精神薬を電極法により定量することに关心をもち、これまでジアゼパムに応答する電極開発

を進めてきた<sup>5</sup>。本研究では、現在「第3次覚せい剤乱用期」であること及び現場における覚せい剤・向精神薬の新たな簡易判定法の開発が必要なことを考慮し、覚せい剤アンフェタミンに構造類似の向精神薬フェンテルミンをとりあげ、その電極開発を検討した。Fig.1にフェンテルミンとアンフェタミンの構造式を示している。

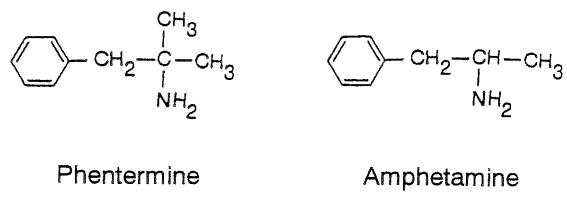


Fig.1 Chemical structures of phentermine and amphetamine.

## 2. 実 験

2.1 試 薬  
ジベンゾ-18-クラウン-6,ジベンゾ-24-クラウン-8 及びジベ

\* 大蔵省関税中央分析所 〒271-0076 松戸市岩瀬 531

\*\* 岡山大学薬学部 〒700-8530 岡山市津島中 1-1-1

ンゾ-30-クラウン-10はアルドリッチ製,N,N'-ジベンジル-N,N'-ジフェニル-1,2-フェニレンジオキシジアセトアミド(ナトリウムイオノフォアII),N,N,N',N'-テトラシクロヘキシル-1,2-フェニレンジオキシジアセトアミド(ナトリウムイオノフォアIII),N,N,N',N'-テトラシクロヘキシル-オキシビス(-フェニレンオキシ)ジアセトアミド(バリウムイオノフォアI)及びクロロパラフィン(パラフィンの60%をクロル化したもの)はフルカ製,テトラキス[3,5-ビス(2-メトキシヘキサフルオロ-2-プロピル)フェニル]ホウ酸ナトリウム(NaHFPB)は同仁化学製,フタル酸ジオクチル,セバシン酸ビス(2-エチルヘキシル)及びリン酸トリクレジルは東京化成製,ポリ塩化ビニル(PVC)は和光純薬製を用いた。

## 2.2 測定系

薬物電極を開発するためには,特定の薬物を認識するセンサー膜の作製が最も重要となる。この膜はキャリヤー(あるいはイオン交換体)及びそれらを溶解する疎水性膜溶媒をPVC膜中に添加して作製する<sup>6)</sup>。フェンテルミンに対するキャリヤーとして,有機アンモニウム電極開発に汎用されるクラウンエーテルのほかに,新しい試みとして無機イオンキャリヤーとして開発されたナトリウムイオノフォアIIとIII及びバリウムイオノフォアIを用いて検討した。これらの化合物の構造式をFig.2に示している。膜溶媒として,フタル酸ジオクチル,セバシン酸ビス(2-エチルヘキシル)及びクロロパラフィンを用いた。センサー膜は,DKK(電気化学計器)から市販されているイオン電極実験用キット(7904L型)を利用して作製した。膜の作製は実験キットに記載されている手順及び勝らの手法<sup>6)</sup>を参考に,PVC(10mg),キャリヤー(0.2mg)及び膜溶媒(20

μl)を約1mlのテトラヒドロフランに溶解させ,その溶液20μlを実験用キットのチップ先端に取り付けたメンブレンフィルター上に,順次10回滴下・乾燥させることにより作製した。また,イオン交換体NaHFPBを用いたセンサー膜は,前報<sup>5)</sup>の方法にしたがって作製した。

電極の内部溶液は,すでに報告したジアゼパム電極<sup>5)</sup>の性能(10mM塩酸酸性下で評価)と比較するために,10mM塩酸中に1mMフェンテルミンを溶解した溶液を使用した。この内部溶液0.7mlを電極チップ内に入れ,電極本体に取り付けた後,センサー膜を1mMフェンテルミン/10mM塩酸溶液に一晩浸してコンディショニングを行った。

電極の検量線は,作製した電極と比較電極(4083型,DKK製)を10mM塩酸(20ml)中に浸した後,1mMフェンテルミン/10mM塩酸溶液を少量ずつ添加し,段階的にフェンテルミン濃度を変化させ,各々の電圧をマルチイオンメーター(IOL-40型,DKK製)により測定して得た。電極の検出下限は電極応答を示す直線領域の延長線と電極応答を示さない領域を結んだ直線(水平方向の直線)の交点が示す濃度から算出した。他の薬物からの妨害の尺度となる選択係数は,マッチド・ポテンシャル法(matched-potential method)<sup>7)</sup>により評価した。本研究では,フェンテルミン濃度を $1 \times 10^{-4}$ から $2 \times 10^{-4}$ M(10mM塩酸溶液中)に変化させたときの電圧変化が,他の薬物ではどの程度の濃度で引き起こされるかを比較測定することにより算出した。

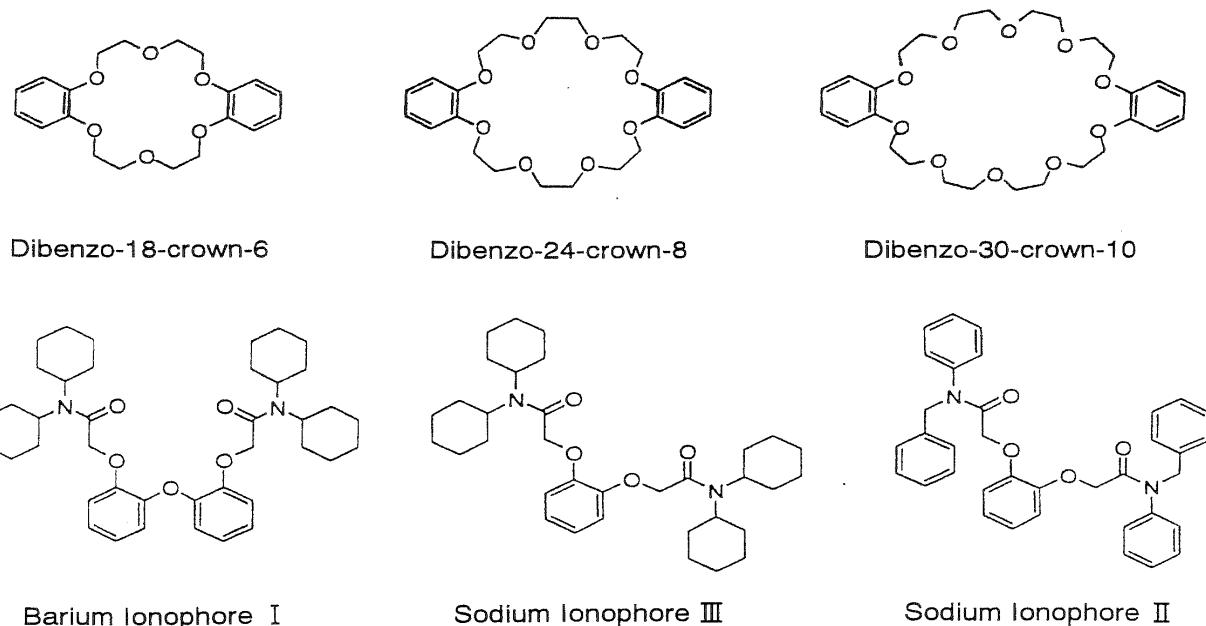


Fig.2 Chemical structures of ionophores tested.

### 3. 結果及び考察

#### 3.1 キャリヤーの検討

フェンテルミンのメチル基一つを水素に置換した構造を有するアンフェタミンに応答する電極は、ジンゾ-18-クラウン-6あるいはジベンゾ-24-クラウン-8をキャリヤーとして、すでに Hassan らにより報告されている<sup>8)</sup>。クラウンエーテルは、一般に有機アンモニウムの  $\text{NH}_3^+$  基と強く相互作用することが知られており<sup>9)</sup>、クラウンエーテルを利用した電極開発は、この性質を利用していている。Fig.1 ではアミノ基は中性形で示しているが、本実験条件下ではプロトン付加したイオン形  $\text{NH}_3^+$  となっている。そこで、まず最初に、これらのクラウンエーテルを用いたフェンテルミン電極の開発を試みた。膜溶媒として、汎用のフタル酸ジオクチルを使用した<sup>10, 11)</sup>。しかし、ジベンゾ-18-クラウン-6 及びジベンゾ-24-クラウン-8 はフェンテルミンに対して応答は弱かった (Table 1)。また、環サイズを大きくしたジベンゾ-30-クラウン-10 を用いても弱い応答であった。このことは、フェンテルミンとアンフェタミンの構造の違いはメチル基一つでありながら (Fig.1)、アンフェタミンでは効果があると報告されていたクラウンエーテルがフェンテルミンに対しては有効に働くかなかったことを意味している。その要因として、私達は、フェンテルミンの  $\text{NH}_3^+$  基の周りに存在する「かさ高い」アルキル基による立体障害が大きく、クラウンエーテルとフェンテルミンとの相互作用を弱めているものと推測した。したがって、フェンテルミンのような環境にある  $\text{NH}_3^+$  基と相互作用させるためには、構造が少しルーズな「開環」したクラウンエーテル類似の化合物を用いれば、立体障害が緩和され、しかも、ある程度の相互作用は維持できるものと予想した。そこで、電極作製用キャリヤーとしてフルカ<sup>12)</sup>及び同仁化学<sup>13)</sup>から市販されている多くの化合物の中から、この条件を満たす Fig.2 に示した 3 種類のイオノフォアを選び、フェンテルミンに対する応答性を比較検討した。バリウムイオノフォア I とナトリウムイオノフォア III との間では、近似的にクラウンエーテルがもつオキシエチレン [- $(\text{CH}_2)_2\text{O}$ -] 基 1 個分の違いに対応している。また、ナトリウムイオノフォア II と III では基本骨格は同じであるが、アミド基に結合している疎水性基が異なる。フェンテルミンに対する応答性を、検量線の傾き (5 × 10<sup>-5</sup> から 1 × 10<sup>-3</sup> M の濃度範囲) 及び検出下限で比較したところ、これら 3 種類のイオノフォアはすべてクラウンエーテルよりもよい応答性を示した (Table 1)。検討したなかでは、ナトリウムイオノフォア III が最も優れた性能を示した。これは、ナトリウムイオノフォア III が、フェンテルミンと相互作用するうえで最も立体障害の影響を受けない構造であったためと考えている。

Table 1 Comparison of electrode performance in response to phentermine\*

Compound	Slope (mV/decade)**	Detection limit ( $\mu\text{M}$ )
Dibenzo-18-crown-6	22.5	30
Dibenzo-24-crown-8	24.3	40
Dibenzo-30-crown-10	26.6	40
Barium ionophore I	42.2	10
Sodium ionophore III	46.5	9
Sodium ionophore II	31.8	20

\*Diethylphthalate was used as a membrane solvent. All measurements were performed in 10 mM HCl.

\*\*Determined from the linear range (5 × 10<sup>-5</sup> to 1 × 10<sup>-3</sup> M).

#### 3.2 膜溶媒の検討

勝ら<sup>3, 6, 14)</sup>によれば、有機アンモニウム電極の膜溶媒として、フタル酸ジオクチルのほか、セバシン酸ビス(2-エチルヘキシル)及びクロロパラフィンが有効であることを報告している。そこで、ナトリウムイオノフォア III をキャリヤーとして、これら 3 種類の膜溶媒を使用したときの電極性能を比較検討した。フェンテルミンに対する応答性を検量線の傾き (5 × 10<sup>-5</sup> から 1 × 10<sup>-3</sup> M の濃度範囲) 及び検出下限から比較したところ、セバシン酸ビス(2-エチルヘキシル)が最も優れていた (Table 2)。Fig.3 は、今回検討したなかで、最も良好な組み合わせであったナトリウムイオノフォア III とセバシン酸ビス(2-エチルヘキシル)を用いて作製した電極の検量線を示している。フェンテルミンの検出下限は 7 × 10<sup>-6</sup> M であり、5 × 10<sup>-5</sup> から 1 × 10<sup>-3</sup> M の濃度範囲で傾き 53.5 mV/decade の良好な直線性を示した。この傾きは、理想的な電極応答の傾き (15° で 57.1 mV/decade となる) にほぼ一致した。

Table 2 Effect of membrane solvents on electrode performance in response to phentermine\*

Membrane solvent	Slope (mV/decade)**	Detection limit ( $\mu\text{M}$ )
Diethyl phthalate	46.5	9
Bis(2-ethylhexyl) sebacate	53.5	7
Chloroparaffin	41.2	20

\*Sodium ionophore III was used as a neutral carrier. All measurements were performed in 10 mM HCl.

\*\*Determined from the linear range (5 × 10<sup>-5</sup> to 1 × 10<sup>-3</sup> M).

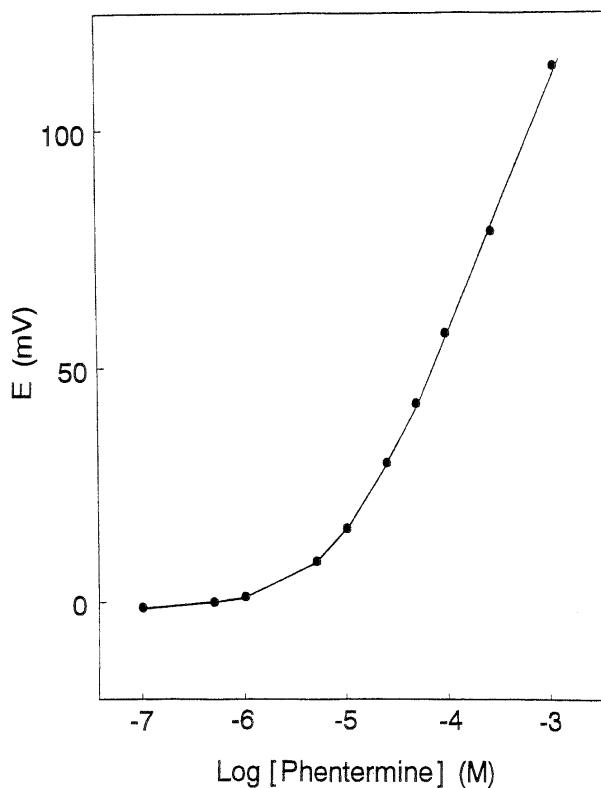


Fig.3 Calibration graph of electric potential vs. phentermine concentration in 10 mM HCl.

### 3.3 選択性の検討

ナトリウムイオノフォア III を用いて作製した電極が他の薬物に対してどの程度応答するかを調べるために、選択性係数をマッチド・ポテンシャル法により評価した (Table 3)。また、イオン交換体を用いた電極と比較するために、前法<sup>5)</sup>のジアゼパム電極で使用したイオン交換体 NaHFPB と膜溶媒フタル酸ジオクチルとの組み合わせ、及び 有機アンモニウム電極で有効とされている NaHFPB と膜溶媒リン酸トリクレジルとの組み合わせ<sup>1,6,15)</sup>によりフェンテルミン電極を作製し、それらの選択性係数を測定した。表中に示した選択性係数は、例えば 0.1 である場合には、その薬物に対する応答性はフェンテルミンよりも 1/10 弱いことを示している。逆に 10 では 10 倍強く応答する。イオン交換体を用いた電極では、膜溶媒としてフタル酸ジオクチル及びリン酸トリクレジルどちらを用いた場合でも、法規制されている他の向精神薬 (ニトラゼパム、ジアゼパム、ミダゾラム及びクロルジアゼポキシド) に対する選択性係数は 1 よりも大きく、フェンテルミンよりも他の向精神薬に強い応答性を示した。一方、ナトリウムイオノフォア III を用いた電極では他の向精神薬に対する選択性係数は 1 よりも小さく、フェンテルミンを認識する能力に優れていた。膜溶媒として、セバシン酸ビス (2-エチルヘキシル) を用いたほうがフタル酸ジオクチルよりも優れ

たフェンテルミン認識能を示した。ところで、ナトリウムイオノフォア III は、もともとナトリウム電極作製用に開発されたキャリヤーである。それにもかかわらず、このキャリヤーを用いて作製したフェンテルミン電極は、Na<sup>+</sup>から大きな妨害を受けなかった (Table 3)。これは、ナトリウムイオノフォア III は、実際には、フェンテルミンイオノフォアとして働いていることを示していた。

### 3.4 膜寿命の検討

センサー膜の寿命を評価するために、膜作製後、数週間、検量線の測定を行った。検量線の式は、y を電圧値 (mV)、x をフェンテルミン濃度 (M) の対数とすれば、当初  $y = 53.5x + 273.9$  から、2 週間後では  $y = 53.8x + 276.7$ 、4 週間後では  $y = 54.3x + 284.0$  ( $5 \times 10^{-5}$  から  $1 \times 10^{-3}$  の濃度範囲) と表された。この結果は、電極性能は 1 ヶ月程度ではほとんど変化しないことを示した。

Table 3 Comparison of the selectivity coefficients,  $k_{\text{phentermine}, x}^{\text{pot}}$ , of electrodes\*

Interferent (X)	$k_{\text{phentermine}, x}^{\text{pot}}$			
	Electrode**/A	B	C	D
Nitrazepam	0.71	0.89	2.6	1.7
Diazepam	0.57	0.69	15	4.3
Midazolam	0.26	0.46	35	8.3
Chlordiazepoxide	0.13	0.17	65	29
Methylephedrine	0.0025	0.0084	0.98	0.48
Na <sup>+</sup>	0.0070	0.0040	—***	—***

\*Obtained by the matched-potential method.

\*\*The following combinations were used: A: sodium ionophore III and bis (2-ethylhexyl) sebacate; B: sodium ionophore III and dioctyl phthalate; C: NaHFPB and dioctyl phthalate; D: NaHFPB and tricresyl phosphate.

\*\*\*Not determined.

## 4.要 約

市販の電極実験用キット (DKK 製) を用いて、フェンテルミン電極を開発した。電極のセンサー膜はキャリヤーとして N, N, N', N'-テトラシクロヘキシル-1,2-フェニレンジオキシジアセトアミド (フルカからナトリウムイオノフォア III として販売されている)、膜溶媒としてセバシン酸ビス (2-エチルヘキシル) を用いて作製した。開発した電極はフェンテルミンに強く応答し、他の向精神薬 (ニトラゼパム、ジアゼパム、ミダゾラム及びクロルジアゼポキシド) からの応答を抑えた。Na<sup>+</sup>による妨害も小さかった。10 mM 塩酸溶液中で測定したフェンテルミンの検出下限は  $7 \times 10^{-6}$  M であり、 $5 \times 10^{-5}$  から  $1 \times 10^{-3}$  M の濃度範囲で傾き 53.5 mV/decade の良好な直線性を示した。

## 文 献

- 2 ) K.Watanabe, K.Okada, H.Oda, K.Furuno, Y.Gomita, T.Katsu: *Anal. Chim. Acta*, 316,371(1995)
- 3 ) K.Watanabe, K.Okada, T.Katsu: *Jpn. J.Toxicol. Environ. Health*, 42, P-33(1996)
- 4 ) 渡辺清之, 岡田邦夫, 小田秀夫, 勝 孝: *分析化学*, 46, 1019(1997)
- 5 ) 片岡憲治, 勝 孝: *関税中央分析所報*, 38, 71(1998)
- 6 ) 勝 孝, 渡辺清之: *衛生化学*, 42, 453(1996)
- 7 ) V.P.Y. Gadzekpo, G.D. Christian: *Anal. Chim. Acta*, 164,279(1984)
- 8 ) S.S.M. Hassan, E.M. Elnemma: *Anal. Chem., Acta*, 61,2189(1989)
- 9 ) I.O. Sutherland: *Chem. Soc. Rev.*, 15,63(1986)
- 10 ) T.Katsu, D. Xu, K.Tsuzi, T.Nagamatsu: *Anal. Chim. Acta*, 354,301(1997)
- 11 ) T.Katsu, Y.Mori, K.Furuno, Y.Gomita: *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 19,585(1999)
- 12 ) Fluka Cemica Selectophone®, Fluka, Buchs, Switzerland (1996)
- 13 ) Dojindo Laboratories 総合力タログ, 第21版, 同仁化学研究所, 熊本 (1998)
- 14 ) T.Katsu, M.Akagi, T.Hiramatsu, T. Tsuchiya: *Analyst*, 123,1369(1998)
- 15 ) T.Katsu, T.Kayamoto, Y.Fujita: *Acal. Chim. Acta*, 239,23(1990)