

メトルファンの分析

杉山 真士*, 佐貫 薫*, 森藤 一志*, 松本 啓嗣*, 秋枝 毅*

Analysis of Methorphan

Masashi SUGIYAMA*, Kaori SANUKI*, Kazushi MORIFUJI*, Yoshitsugu MATSUMOTO* and Takeshi AKIEDA*

*Tokyo Customs Laboratory

2-56, Aomi, Koto-Ku, Tokyo 135-8615 Japan

Chiral analyses of racemethorphan, dextromethorphan and levomethorphan by high-performance liquid chromatography (HPLC) and capillary electrophoresis (CE) were investigated. Dextromethorphan and levomethorphan were separated and identified by HPLC and CE respectively. It was found that levomethorphan, which was added to commercial cold medicines, could be detected separately from dextromethorphan and other medicaments, additives such as excipients, and stabilizers in the medicines under the same conditions.

1. 緒 言

3-メトキシ-N-メチルモルヒナン（メトルファン）は光学異性体が存在し、右旋性（d 体）のもの（デキストロメトルファン）は鎮咳作用を有するため、一般的に風邪薬等の医薬品に配合されている。一方、左旋性（l 体）のもの（レボメトルファン）は鎮痛作用を有し、麻薬及び向精神薬取締法（別表第一 第69号）により麻薬として規制対象物質となっている。

そもそもデキストロメトルファンはロッシュ研究所の Schnider (1951) によって単離されたモルヒナン誘導体で、薬理的には Fromherz, Benzon, Slomka らにより研究がなされ、製品化された。麻薬様の耽溺性も認められないことが明らかとなり、WHO では1953年にデキストロメトルファンのみを麻薬から除外し、日本においても1955年に麻薬から除外された¹⁾。

しかし、メトルファンをはじめ、光学異性体の一方のみが麻薬に該当するものについての分析条件はほとんど確立されておらず、現状においてはd体とl体を区別することは困難である。そのため、これら光学異性体を有する麻薬について分析条件を確立することが必要である。

そこで本研究では、キラルカラムを用いた高速液体クロマトグラフィー（HPLC）及びキャピラリー電気泳動（CE）でのメトルファンのキラル分析の検討を行ったので報告する。

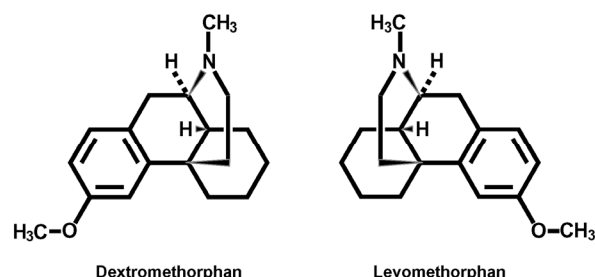


Fig. 1 Chemical structures of methorphan

2. 実 験

2. 1 試料

2. 1. 1 メトルファン合成用試薬

- ・5,6,7,8-テトラヒドロイソキノリン（東京化成）
- ・ヨードメタン（東京化成）
- ・4-メトキシベンジルマグネシウムクロリド（Aldrich）
- ・圧縮水素ガス（寿産業）
- ・パラジウム-炭素（東京化成）
- ・りん酸（純正化学）
- ・フェニルトリメチルアンモニウムクロリド（東京化成）

2. 1. 2 標準試薬

- ・デキストロメトルファン臭化水素酸塩一水和物（和光純薬）
- ・塩酸モルヒネ（三共製薬）
- ・りん酸コデイン（三共製薬）
- ・りん酸ジヒドロコデイン（三共製薬）

* 東京税関業務部 〒135-8615 東京都江東区青海 2-56

- ・市販風邪薬 A
- ・市販風邪薬 B
- ・市販風邪薬 C

2. 1. 3 分析依頼品

- ・分析依頼品 A (CAMPHORATED OPIUM TINCTURE の記載有り)
- ・分析依頼品 B (Dextromethorphan hydrobromide の記載有り)

2. 2 分析装置及び測定条件 (メトルファン同定)

2. 2. 1 ガスクロマトグラフ質量分析計 (GC-MS)

装置 : 6890GC-5973MS (Agilent)
 カラム : DB-5MS 30 m×0.25mm I.D., 0.25 μ m (Agilent)
 オープン温度 : 100°C (3 min) — (20°C/min) — 320°C (8 min)
 スプリット比 : 50 : 1
 注入口温度 : 320°C
 イオン化法 : 電子イオン化法 (EI 法)

2. 2. 2 高速液体クロマトグラフ (HPLC)

装置 : 1100 (Agilent)
 カラム : ZORBAX Extend-C18 150 mm×4.6mm I.D. (Agilent)
 カラム温度 : 40°C
 移動相 : 水 / エタノール / ピロリジン=500 / 500 / 0.5
 流速 : 0.8 ml/min
 検出器 : フォトダイオードアレイ検出器 (220 nm)

2. 3 分析装置及び測定条件 (キラル分析)

2. 3. 1 高速液体クロマトグラフ (HPLC)

装置 : 1100 (Agilent)
 カラム : ORpak CDB-453 HQ 150 mm×4.6 mm I.D. (Shodex)
 カラム温度 : 20°C
 移動相 : 1.4% 酢酸 + 3.4% トリエチルアミン + 0.2 M 塩化ナトリウム (pH8.2) / アセトニトリル=80 / 20
 流速 : 0.2 ml/min
 検出器 : フォトダイオードアレイ検出器 (283 nm)、旋光度検出器

2. 3. 2 キャピラリー電気泳動 (CE)

装置 : 3D CE (Agilent)
 キャピラリー : 標準フューズドシリカキャピラリー 50 μ m I.D. × 64.5 cm (Agilent)
 泳動液 : 100 mM ドデシル硫酸ナトリウム + 50 mM テトラホウ酸ナトリウム + 60 mM β -シクロデキストリン / 1-プロパノール=80 / 20
 印加電圧 : 30 kV
 キャピラリー温度 : 30°C
 検出器 : フォトダイオードアレイ検出器 (200 nm)

2. 4 ラセメトルファンの合成

ラセメトルファンの合成は日本薬局方¹⁾を参考にして行った。生成物の確認は、GC-MS 及び HPLC により 2.2 の条件で行った。

2. 5 デキストロメトルファンとレボメトルファンの分離

デキストロメトルファンとレボメトルファンの分離・検出を行うために、合成したラセメトルファンを用いてキラル分析の条件検討を行い、2. 3. 1 の HPLC 条件²⁾、2. 3. 2 の CE 条件³⁾を見いだした。

2. 6 メトルファン類似薬物の分析

メトルファン類似薬物 (モルヒネ、コデイン、ジヒドロコデイン) の混在下においてもメトルファンを検出できるかどうかの検討を行うために、上記 3 種類の麻薬に合成したラセメトルファンを加え、2. 3. 1 及び 2. 3. 2 のキラル分析条件での測定を試みた。

2. 7 メトルファン含有医薬品の分析

メトルファン以外の薬物成分や賦形剤、安定剤等の添加物の混在下においても麻薬であるレボメトルファンを検出できるかどうかの検討を行うために、デキストロメトルファンを含有する市販風邪薬 3 品に合成したラセメトルファンを加え、2. 3. 1 及び 2. 3. 2 のキラル分析条件での測定を試みた。

HPLC 用サンプルは、市販風邪薬 3 品がともに錠剤であったため粉砕し、200 mg を水 / アセトニトリル=80 / 20 混液で 20 ml にメスアップしたものを 0.5 μ m PTFE 製メンブランフィルターでろ過し、適量のラセメトルファンを加えたものを使用した。CE 用サンプルも同様に、20 mg を水 / 1-プロパノール=80 / 20 混液で 20 ml にメスアップしたものを 0.5 μ m PTFE 製メンブランフィルターでろ過し、適量のラセメトルファンを加えたものを使用した。

今回使用した市販風邪薬 3 品の成分を Table 1 に示す。市販風邪薬 A には、Table 1 の成分以外に添加物として、ヒドロキシプロピルセルロース、無水けい酸、セルロース、クロスカルメロースナトリウム、ステアリン酸マグネシウム、とうもろこしでん粉を含有するという記載があった。市販風邪薬 B、C には添加物に関する記載がないが、ともに錠剤であることから市販風邪薬 A に類似した添加物を含有しているものと思われる。

Table 1 Components of three commercial cold medicines for colds

Sample	Component	Content
Commercial medicine A	Acetaminophen	900 mg
	d-Chlorpheniramine maleate	3.5 mg
	Dextromethorphan hydrobromide	48 mg
	dl-Methylephedrine hydrochloride	60 mg
	Caffeine anhydride	75 mg
	Hesperidin	60 mg
	Tranexamic acid	420 mg
Commercial medicine B	Acetaminophen	270 mg
	Ethenzamide	1050 mg
	Dextromethorphan hydrobromide	48 mg
	dl-Methylephedrine hydrochloride	60 mg
	Chlorpheniramine maleate	7.5 mg
	Sodium L-ascorbic acid	500 mg
	Caffeine anhydride	75 mg
Commercial medicine C	Ethylcysteine hydrochloride	300 mg
	Tranexamic acid	420 mg
	Acetaminophen	450 mg
	Ethenzamide	750 mg
	dl-Methylephedrine hydrochloride	60 mg
	Dextromethorphan hydrobromide	48 mg
	Diphenylpyrraline hydrochloride	4 mg
	Caffeine anhydride	75 mg

2. 8 分析依頼品の分析

実際の分析依頼品で、GC-MS においてメトルファンが確認された 2 品についてキラル分析を行った。分析依頼品 A は褐色懸濁液であり、分析依頼品 B は黄色錠剤である。

3. 結果及び考察

3. 1 ラセメトルファンの同定

合成したラセメトルファンのトータルイオンクロマトグラム及びマススペクトルを Fig.2、Fig.3 に示す。ピークの保持時間 (11.5 分)、マススペクトルともに標準のデキストロメトルファンのものと一致し、またデキストロメトルファンの添加によるトータルイオンクロマトグラムも単一ピークとなった。HPLC においても同様にピークの保持時間 (20.5 分)、UV スペクトル (Fig.4) とともに標準のデキストロメトルファンのものと一致した。

以上の結果より、日本薬局方に記載されている方法によってラセメトルファンが合成できることが確認できた。

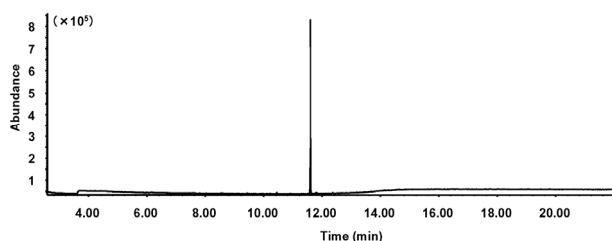


Fig. 2 Total ion chromatogram of methorphan

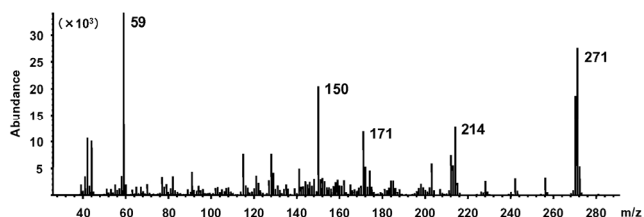


Fig. 3 Mass spectrum of methorphan

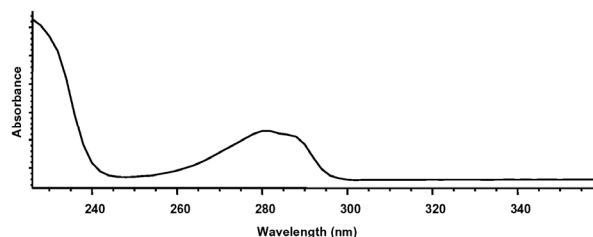


Fig. 4 UV spectrum of methorphan

3. 2 デキストロメトルファンとレボメトルファンの判別

デキストロメトルファンとレボメトルファンの HPLC によるキラル分析の結果を Fig.5 に示す。上がフォトダイオードアレイ検出器 (283 nm) によるクロマトグラム、下が旋光度検出器によるクロマトグラムである。保持時間 16.8 分のピークは、旋光度が (+) であること及びデキストロメトルファンの添加により同一ピークが大きくなることからデキストロメトルファンであること、21.1 分のピークは、旋光度が (-) であることからレボメトルファンであることが分かった。

同様に CE によるキラル分析の結果を Fig.6 に示す。デキストロメトルファンの添加による確認から前者のピーク (47.5 分) がレボメトルファン、後者のピーク (52.8 分) がデキストロメトルファンであることが分かった。

以上の結果から、純粋なラセメトルファンであれば、デキストロメトルファンとレボメトルファンの分離・検出が 2. 3. 1 の HPLC 条件及び 2. 3. 2 の CE 条件において可能であることが分かった。

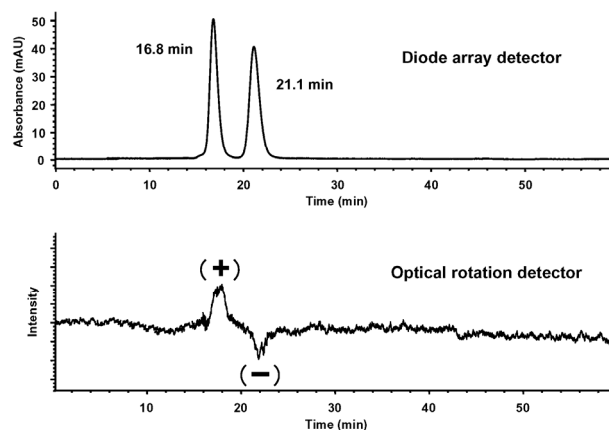


Fig. 5 Liquid chromatograms of racemethorphan by chiral analysis

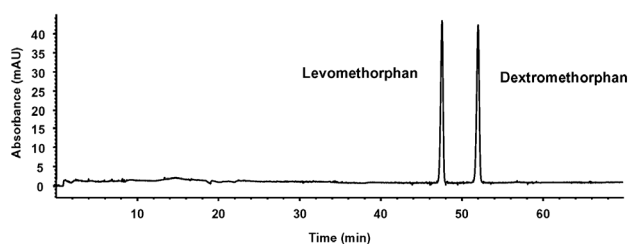


Fig. 6 Electropherogram of racemethorphan by chiral analysis

3. 3 メトルファン類似薬物の分析

メトルファン類似薬物（モルヒネ、コデイン、ジヒドロコデイン）とラセメトルファンを2. 3. 1のHPLC条件で一斉分析した結果をFig.7に示す。保持時間10分までにジヒドロコデイン、コデイン、モルヒネが順に検出され、同16.8分にデキストロメトルファン、同21.1分にレボメトルファンが検出される。モルヒネ、コデイン、ジヒドロコデインは互いに近接しているが、目的物であるメトルファンは互いに良好な分離を示している。

同様に2. 3. 2のCE条件で一斉分析した結果をFig.8に示す。泳動時間21–23分にモルヒネ、ジヒドロコデイン、コデインが順に検出され、同47分にレボメトルファン、同52分にデキストロメトルファンが検出される。HPLC同様にモルヒネ、コデイン、ジヒドロコデインは互いに近接しているが、目的物であるメトルファンの分離は非常に良好であった。

以上の結果から、メトルファン類似薬物の混在下においても、2. 3. 1のHPLC条件及び2. 3. 2のCE条件において、デキストロメトルファンとレボメトルファンの分離・検出が可能であることが分かった。

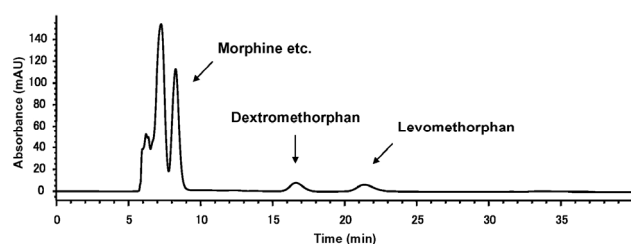


Fig. 7 Liquid chromatogram of racemethorphan and morphine, etc.

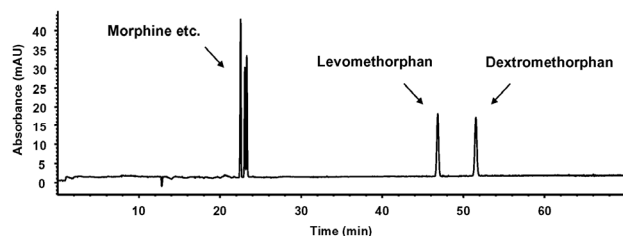


Fig. 8 Electropherogram of racemethorphan and morphine, etc.

3. 4 メトルファン含有医薬品の分析

市販風邪薬3品にラセメトルファンを添加してHPLC用に調製した3サンプルを2. 3. 1の条件で測定した結果をFig.9に示す。各サンプルにおいて保持時間約16.8分にデキストロメトル

ファン、保持時間約21.1分にレボメトルファンが検出される。

CE用に調製した3サンプルを2. 3. 2の条件で測定した結果をFig.10に示す。各サンプルにおいて泳動時間47–49分にレボメトルファン、同52–54分にデキストロメトルファンが検出される。CEに関しては、サンプル中のメトルファン以外の成分を10倍の濃度にしたものも測定してみたが、同様に検出することができた。ただし、他成分の濃度が高くなると泳動液の劣化が早くなるため、サンプル毎に泳動液を交換する必要がある。

以上の結果から、デキストロメトルファン含有風邪薬中の種々の薬物成分や賦形剤、安定剤等の添加物の混在下においても同様の条件で、デキストロメトルファンとレボメトルファンの分離・検出が可能であることが分かった。

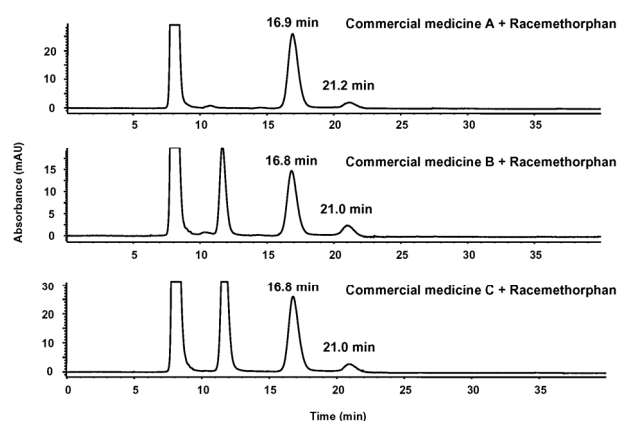


Fig. 9 Liquid chromatograms of commercial cold medicines containing added racemethorphan

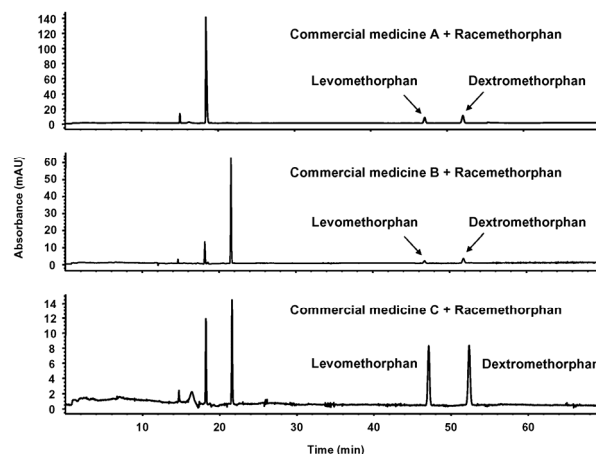


Fig. 10 Electropherograms of commercial cold medicines containing added racemethorphan

3. 5 分析依頼品の分析

分析依頼品AをGC-MSにより2. 2. 1の条件で測定した結果をFig.11に示す。保持時間4.7分にカンファーが第一ピークとして検出され、同11.5分にメトルファンが、同12–15分にあへん成分であるコデイン、モルヒネ、テバイン、パパベリン等がそれぞれ検出された。そこで、2. 3. 1のHPLC条件でキラル分析を試みたが、デキストロメトルファン、レボメトルファンとも

に検出することができなかった。これは、サンプル中にメトルファン以外の成分が多数含まれていたこと、またこれらの成分に対してメトルファンの相対濃度が非常に低かったことなどが原因として考えられる。

分析依頼品 B を GC-MS により 2. 2. 1 の条件で測定した結果を Fig.12 に示す。ほぼメトルファンの単一ピークであるクロマトグラムが得られた。そこで、2. 3. 1 の HPLC 条件でキラル分析を試みたところ Fig.13 のようになり、サンプル中に含有されるメトルファンはデキストロメトルファンであることが分かった。

今回、分析依頼品 A、分析依頼品 B ともにキラル分析は HPLC のみであり、CE による分析は行っていない。これは、依頼時点において CE によるキラル分析の条件が確立されていなかったためである。今後は HPLC と CE を併用することにより、いままではレボメトルファンの検出が困難であったサンプルにも対応できると思われる。

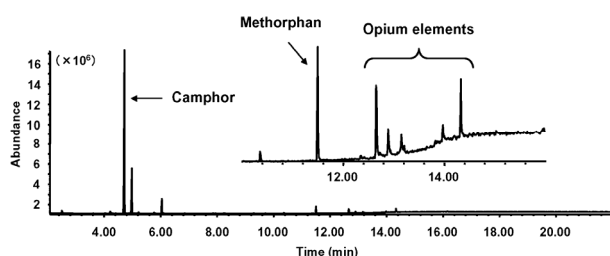


Fig. 11 Total ion chromatogram of sample A

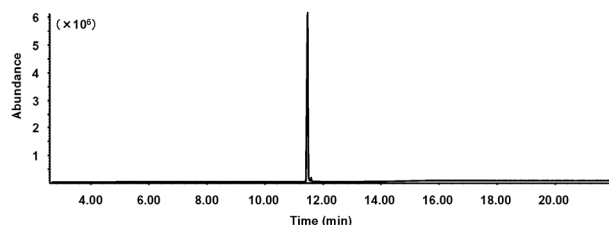


Fig. 12 Total ion chromatogram of sample B

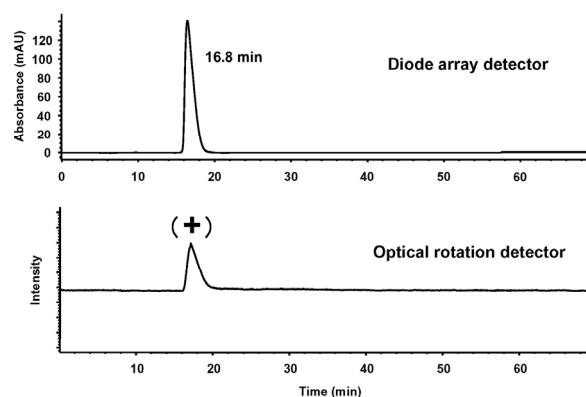


Fig. 13 Liquid chromatograms of sample B by chiral analysis

HPLC と CE は分離機構が異なるため相補的に利用できるが、それぞれ次のような特徴がある。定性能については、フォトダイオードアレイ検出器だけでなく、旋光度検出器が併置されている HPLC の方が優れており、CE においては分析毎に標準添加法による確認を行う必要がある。一方、分離能については、内径の小さいキャピラリーを分離の場としている CE の方が優れており、本研究においても保持時間にして数分以内に他成分を検出した HPLC に対して、CE は 20 分以内に他成分を検出しなかった。感度については、CE の高分離能に適している小さな内径は、吸光度検出の光路長としては短く、注入可能試料量も制限されるため、同じ試料濃度での感度が低くなってしまふ。実際に本研究における HPLC と CE の感度はおおよそ 10 倍の差がある。

4. 要 約

メトルファンのキラル分析を試み、HPLC と CE の異なる 2 種類の方法によりデキストロメトルファンとレボメトルファンをそれぞれ分離して検出することができた。また同法によって、純粋なラセメトルファンだけでなく、メトルファン以外の薬物成分や賦形剤、安定剤等の添加物の混在下においても麻薬であるレボメトルファンを検出することができた。

本研究において、メトルファンのキラル分析条件を確立することができたので、今後は HPLC と CE を併用することにより、実際の分析依頼品に対応していきたい。

文 献

- 1) 第十四改正 日本薬局方解説書 第一部医薬品各条, C-1576 (2001)
- 2) Shodex 総合カタログ, 18 (2005~2007)
- 3) Anthony Aumatell and Robert J. Wells : J. Chromatogr. Sci., **31**, 502 (1993)