

混合物中の位置異性体を有する薬物成分の識別方法の検討

浅野 沙也佳*, 丹 佑太*, 野澤 和也*, 安藤 利典*, 儘田 博志*, 三輪 洋一*

Study on identification of controlled drugs with regioisomers in a mixture

ASANO Sayaka*, TAN Yuta*, NOZAWA Kazuya*, ANDO Toshinori*, MAMADA Hiroshi* and MIWA Yoichi*

*Central Customs Laboratory, Ministry of Finance 6-3-5, Kashiwanoha, Kashiwa, Chiba, 277-0882 Japan

Controlled drugs have regioisomers, some of which are controlled under different laws, or not controlled. Therefore, it is important to discriminate regioisomers in drug analysis. Infrared spectroscopy (IR) is an effective method for identification of regioisomers; however, it is inappropriate for analysis of mixtures. In this study, we examined the discrimination of controlled drugs with regioisomers in a mixture by preparative purification. First, for isolation of the controlled drugs from the mixture using preparative high-performance liquid chromatography, we investigated measurement conditions such as column and mobile phase. Then, the purified designated drugs with fraction collector were identified by IR.

1. 緒 言

麻薬等の規制薬物や指定薬物（以下、「規制薬物等」という。）に存在する位置異性体には、適用法条や規制の有無が異なるものがあるため、薬物分析を行ううえで位置異性体を正確に識別することは重要である。

規制薬物等の分析に広く使用されるガスクロマトグラフィー質量分析法（以下、「GC/MS」という。）や液体クロマトグラフィー質量分析法は混合物の分析に有効である。しかし位置異性体の識別において、位置異性体間では保持時間が近接し、かつ質量スペクトルに明確な差異が認められないことが多く、その場合は識別が困難となる。GC/MSによるわずかな保持時間の相違やトリフルオロ酢酸誘導体の質量スペクトルの相違、液体クロマトグラフィータンデム質量分析法によるフラグメントイオンの相違等を利用して位置異性体の識別が可能な場合もあるものの、位置異性体間で明確な差異がない場合もあると報告されている^{1),2)}。また、標準品の確保が困難な場合もある。

一方、赤外分光法（以下、「IR」という。）は位置異性体の識別に有効な分析手法であるが、混合物の分析には適さない。

そこで本研究では、混合物中における規制薬物等の位置異性体の識別精度の向上を目的とし、位置異性体が存在する規制薬物等の混合物について、高速液体クロマトグラフィー（以下、「HPLC」という。）を用いて分取精製し、IR を用いて分析する方法を検討したので報告する。

2. 実 験

2.1 試料及び試薬

2.1.1 試料

1-(2-フルオロフェニル)-N-メチルプロパン-2-アミン塩酸塩 (2-FMA)

N-イソプロピル-5-メトキシ-N-メチルトリプタミン (5-MeO-MIPT)

1-(ベンゾフラン-2-イル)-N-メチルプロパン-2-アミン塩酸塩 (2-MAPB)

すべて Cayman Chemical 社製。各試料の構造式を Fig. 1 に示す。

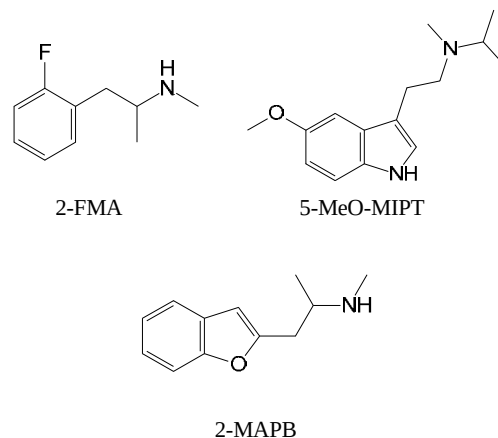


Fig. 1 Chemical structure of samples

2.1.2 試薬

クロロホルム（高速液体クロマトグラフ用及び特級，いずれも富士フイルム和光純薬製）

メタノール（高速液体クロマトグラフ用，富士フイルム和光純薬製）

トリエチルアミン（特級，和光純薬工業製）

* 財務省関税中央分析所 〒277-0882 千葉県柏市柏の葉 6-3-5

アセトニトリル（高速液体クロマトグラフ用，富士フィルム和光純薬製）

りん酸二水素ナトリウム二水和物（特級，和光純薬工業製）

りん酸水素二ナトリウム・12水（特級，富士フィルム和光純薬製）

1 mol/L 水酸化ナトリウム溶液（容量分析用，和光純薬工業製）

塩化ナトリウム（特級，富士フィルム和光純薬製）

硫酸ナトリウム（無水）（特級，富士フィルム和光純薬製）

塩化水素（約 1 mol/L エチルエーテル溶液）（東京化成工業製）

ヘキサン（特級，富士フィルム和光純薬製）

エタノール（特級，富士フィルム和光純薬製）

2.2 装置及び測定条件

2.2.1 高速液体クロマトグラフ

装置 : Prominence UFLC（島津製作所製）

カラム温度 : 40 °C

検出器 : フォトダイオードアレイ検出器

検出波長 : 254 nm

2.2.1 (1) 順相カラム使用時の条件

カラム : Inertsil® SIL-100A（4.6 mm × 150 mm，粒子径 3 µm）（ジエールサイエンス社製）

移動相 : (A)クロロホルム/メタノール（70/30）

(B)クロロホルム/メタノール（90/10）

いずれも約 1% トリエチルアミンを添加。

注入量 : 10 µL

流速 : 1.0 mL/min

その他の条件は，2.2.1 と同様。

2.2.1 (2) 逆相カラム使用時の条件

カラム : L-column2 ODS（10 mm × 250 mm，粒子径 5 µm）（化学物質評価研究機構製）

移動相 : (A)水/アセトニトリル（80/20）

(B)20 mM リン酸緩衝液（pH 6.9）/アセトニトリル（80/20）

注入量 : 10 µL

流速 : 3.5 mL/min

その他の条件は 2.2.1 と同様。

2.2.1 (3) 分取条件

カラム : L-column2 ODS（10 mm × 250 mm，粒子径 5 µm）（化学物質評価研究機構製）

移動相 : 20 mM リン酸緩衝液（pH 6.9）/アセトニトリル（80/20）

注入量 : 100 µL

流速 : 3.5 mL/min

フラクションコレクター : FRC-10A（島津製作所製）

分取レベル : 5,000 µV

その他の条件は，2.2.1 と同様。

2.2.2 フーリエ変換型赤外分光光度計

装置 : Nicolet iS50 FT-IR（Thermo Fisher Scientific 社製）

検出器 : DTGS KBr

測定範囲 : 4000 – 400 cm⁻¹

分解能 : 4 cm⁻¹

積算回数 : 32 回

測定法 : KBr プレート法

2.3 実験方法

2.3.1 HPLC 測定条件の検討

2.3.1 (1) 順相カラム使用時の移動相の検討

2-FMA 及び 5-MeO-MIPT それぞれ約 1 mg をクロロホルム約 1 mL に溶解させた溶液を測定用試料とし，2.2.1 (1)に示す条件で HPLC の測定を行い，分離が良好な移動相を検討した。

2.3.1 (2) 逆相カラム使用時の移動相の検討

2-FMA 及び 5-MeO-MIPT それぞれ約 1 mg をりん酸緩衝液とアセトニトリルの混合溶液（混合比 80 : 20）約 1 mL に溶解させた溶液を測定用試料とし，2.2.1 (2)に示す条件で HPLC の測定を行い，分離が良好な移動相を検討した。

2.3.2 HPLC による分取精製

2.3.2 (1) 分析試料の調製

2-FMA 及び 2-MAPB それぞれ約 5 mg をりん酸緩衝液とアセトニトリルの混合溶液（混合比 80 : 20）約 200 µL に溶解させた。また，5-MeO-MIPT 約 5 mg をエタノール約 200 µL に溶解させた。これらの溶液を混合し，りん酸緩衝液とアセトニトリルの混合溶液（混合比 80 : 20）で全量約 1 mL とし，孔径 0.20 µm のフィルターでろ過したろ液を測定用試料とした。

2.3.2 (2) HPLC による分取精製

2.3.2 (1)で調製した測定用試料を 2.2.1 (3)に示す条件で HPLC の測定を 5 回を行い，各物質のピークに対応する溶液を分取した。

2.3.3 分取した溶液からの抽出

2.3.2 (2)で分取した溶液を物質ごとに三角フラスコへ移し，1 mol/L 水酸化ナトリウム溶液を加え弱アルカリ性とした。それぞれの溶液を分液漏斗へ移し，ヘキサン約 15–30 mL を加えて，水–ヘキサンで液液抽出を 3 回行った。ヘキサン層を回収し，飽和食塩水約 15 mL で 3 回洗浄した後，硫酸ナトリウムで脱水しろ過した。ろ液に塩化水素を加えて攪拌し，減圧蒸留により溶媒を除去することでそれぞれ白色粉末を得た。

2.3.4 IR の測定

2.3.3 で得た白色粉末を試験管に移し，水約 2 mL に溶解させた。1 mol/L 水酸化ナトリウム溶液を加えて弱アルカリ性とし，クロロホルム約 2 mL を加えて攪拌し，水–クロロホルムで液液抽出を行った。クロロホルム層を分取し，硫酸ナトリウムで脱水した溶液を濃縮し，2.2.2 に示す条件で IR の測定を行った。

3. 結果及び考察

3.1 HPLC 測定条件の検討

2.3.1 で測定した際のそれぞれの保持時間及び分離度を Table 1 に示す。2.2.1 (2) (B)の条件で測定した場合に 2-FMA と 5-MeO-MIPT の分離が最も良好だった。同条件で 2-MAPB を測定したと

ころ、2-FMA 及び 5-MeO-MIPT と異なる保持時間を示した。各試料のクロマトグラムを Fig. 2 から Fig. 4 までに示す。

Table 1 Retention time and resolution under each condition

Measurement condition	Retention time (min)		Resolution
	2-FMA	5-MeO-MIPT	
2.2.1 (1) (A)	2.272	2.248	0.1
2.2.1 (1) (B)	2.548	2.892	1.6
2.2.1 (2) (A)	3.905	4.540	0.4
2.2.1 (2) (B)	9.172	14.497	9.4

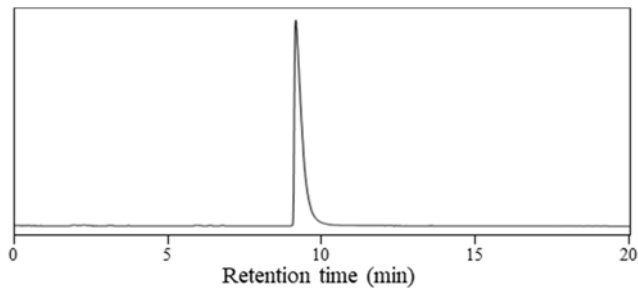


Fig. 2 Chromatogram of 2-FMA under the condition 2.2.1 (2) (B)

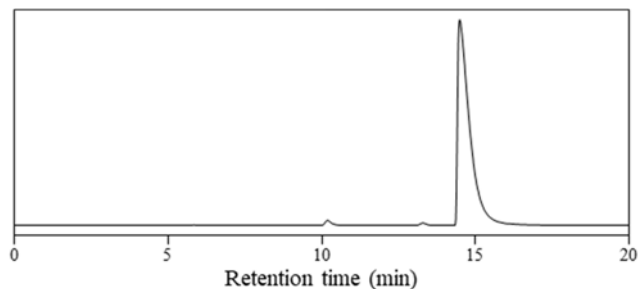


Fig. 3 Chromatogram of 5-MeO-MIPT under the condition 2.2.1 (2) (B)

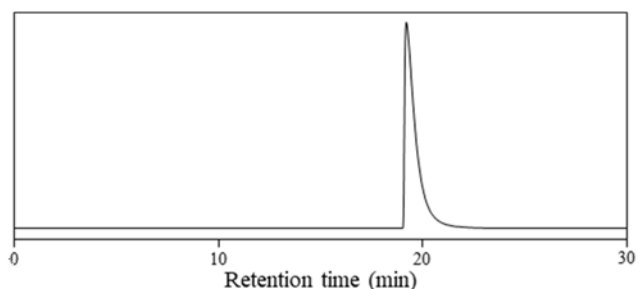


Fig. 4 Chromatogram of 2-MAPB under the condition 2.2.1 (2) (B)

3.2 HPLC による分取精製及び IR の測定

2.3.2 (2)で測定した試料のクロマトグラムを Fig. 5 に、2.3.4 で測定した各試料の赤外吸収スペクトルをそれぞれ Fig. 6 から Fig. 8 までに示す。それら赤外吸収スペクトルは、それぞれ標準品の赤外吸収スペクトルと類似することを確認した。なお標準品は、塩酸塩のものについてはアルカリ性条件下でクロロホルムにより抽出し、遊離塩基としたものを測定した。

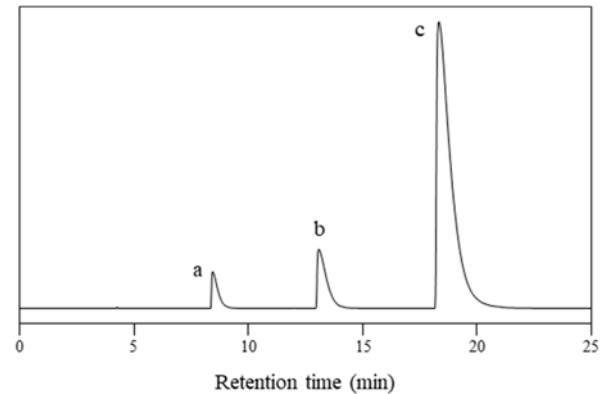


Fig. 5 Chromatogram of the mixture (a:2-FMA, b:5-MeO-MIPT, c:2-MAPB)

4. 要 約

本研究では指定薬物 3 物質 (1- (2-フルオロフェニル) -N-メチルプロパン-2-アミン (2-FMA), N-イソプロピル-5-メトキシ-N-メチルトリプタミン (5-MeO-MIPT) 及び 1- (ベンゾフラン-2-イル) -N-メチルプロパン-2-アミン (2-MAPB)) の混合物について分析方法の検討を行った。その結果、3 物質について HPLC により分離することができ、さらに、フラクションコレクターを使用することで分取精製することができた。また、分取精製した各物質を IR により同定することができた。

文 献

- 1) 西村康彦, 田中聡司, 池田英貴, 山崎幸彦: 関税中央分析所報, **55**, 65 (2015)
- 2) 松本啓嗣, 長澤由実, 安藤利典, 柴田正志, 池原裕可里: 関税中央分析所報, **58**, 99 (2018)

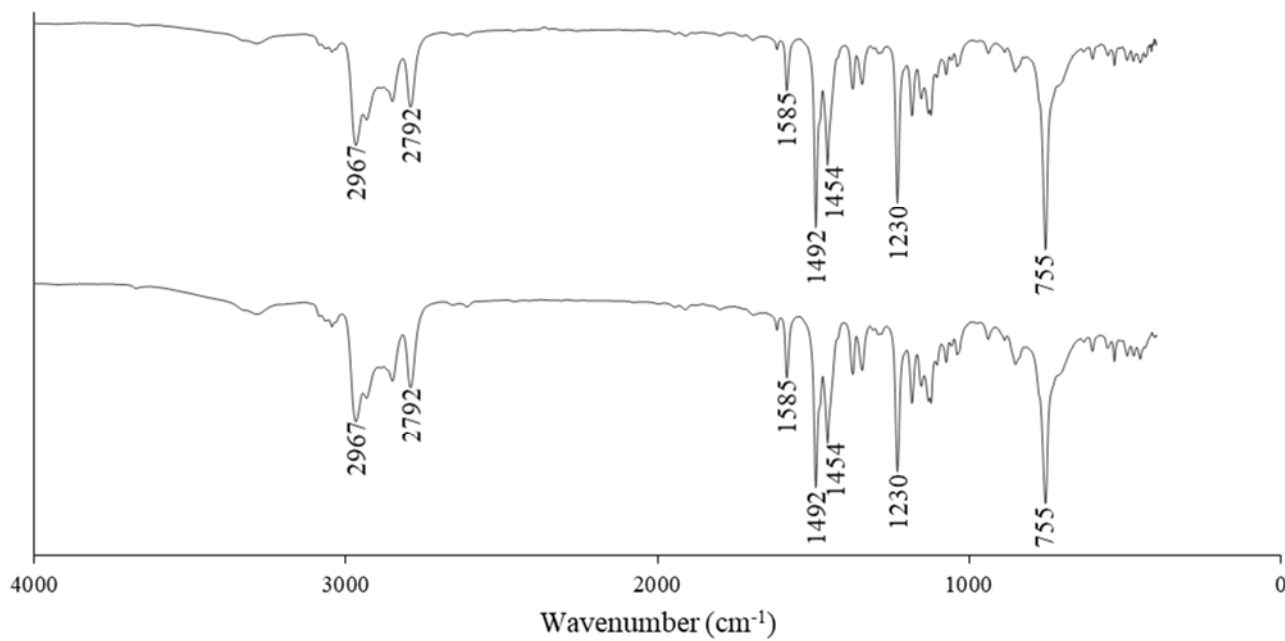


Fig. 6 IR spectrum of 2-FMA (upper: after preparative purification, lower: standard substance)

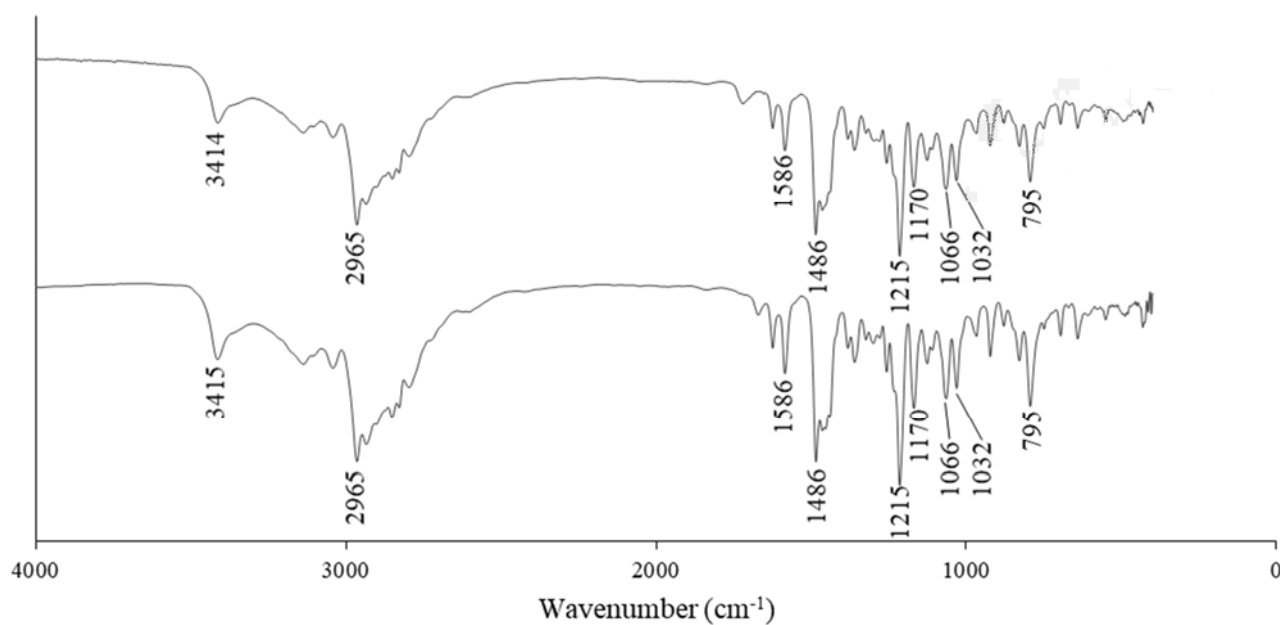


Fig. 7 IR spectrum of 5-MeO-MIPT (upper: after preparative purification, lower: standard substance)

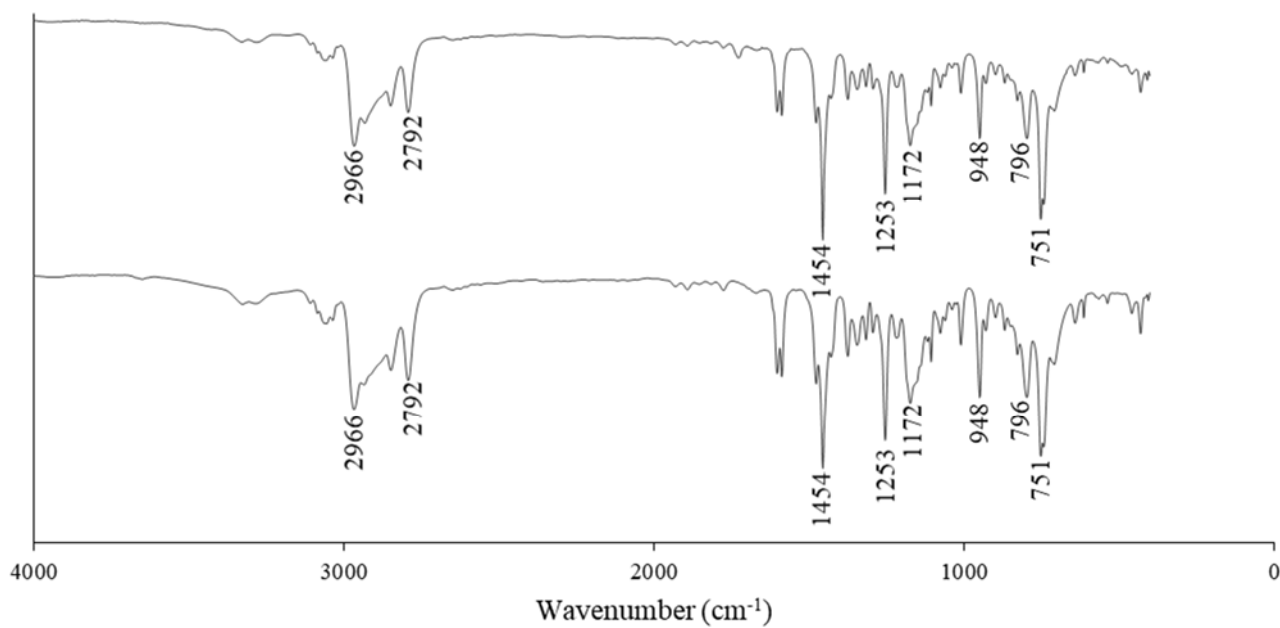


Fig. 8 IR spectrum of 2-MAPB (upper: after preparative purification, lower: standard substance)