

報 文

高速液体クロマトグラフィーによる麻薬類の分析

出 来 三 男, 水 城 勝 美*

高速液体クロマトグラフィーを用いて, あへんアルカロイド類の分離と同定について検討した。主要アルカロイド類の分離は, Zipax-SCX (カチオン交換樹脂) をカラム充てん剤とし, ほう酸で pH 調整した 0.2M 水酸化ナトリウムに 5 %n - プロパノール, 2 %アセトニトリル及び 1 %KNO₃ を添加した溶出剤で迅速に分析できることを明らかにした。この条件では, モルヒネ, パパベリン, コデイン, エチルモルヒネ, コカインの順序で溶出され, 最も遅いコカインでも約 10 分以内で溶出される。また, この条件での検出限界はモルヒネの場合 0.2µg であった。一方, 溶出される各ピークの成分を分取後, UV, MS を測定することにより容易に同定することができ, 麻薬の迅速分析法として高速液体クロマトグラフィーが有効な方法であることがわかった。

1 緒 言

密輸入防止を目的とする税関における麻薬分析は, 一般の薬理研究とは異り, 分析する段階では麻薬であるか否かが不明な物品を対象とするため, スクリーニングテストが必要とされる。そのうえ, 嫌疑物件 (被疑者) が動的であるので限られた時間内に結論を得なければならないという制約がある。このような背景から, 税関における麻薬分析については, 迅速法を中心に研究が進められてきた。一方, 裁判化学の領域からは, 客観的なデータが要求されるため, 機器分析による確認同定が重視される傾向がある。

これまで麻薬類の分析は沈でん反応, 呈色反応をはじめとして, ペーパークロマトグラフィー¹⁾, 薄層クロマトグラフィーが主流になっており, 数多くの研究が報告されている^{2, 3)}。税関における麻薬類の参考分析法もこれらの定性反応を中心に集録したものである。最近ではガスクロマトグラフィーや質量分析などのデータが不可欠なものとなりつつあり, すでに国連における麻薬委員会においては, ガスクロマトグラフィーによるあへんの産地別鑑別法が検討されている⁴⁾。麻薬の迅速分析法の開発は, 毒物分析及び裁判化学の領域において積極的に進められており, 例えば生体液中の薬物 (モルヒネ, ヘロインなど) のガスクロマトグラフィーによる分析などは興味あるものである。しかし, これらの分析においては, 薬物

を生体液から抽出する必要があり, こに微量分析を要求される場合には, 抽出操作による試料の損失は好ましくない。

高速液体クロマトグラフィー (以下 HLC と略記) は, 不揮発性の有機化合物をガスクロマトグラフィーと同じ程度の時間で分離分析できるところに特徴があり, 試料の前処理を必要とせず, また熱による成分の変質が起らないため, 分取による同定が容易であるという利点があり, 現在ではガスクロマトグラフィーの及ばない領域, 例えばビタミン類, 核酸関連化合物, 抗生物質などの分離分析法として利用されている。

既にわれわれは, ペーパークロマトグラフィー, TLC, 及び GC - MS によるあへんアルカロイド類の分析法³⁾について報告してきたが, ここでは迅速微量分析法の一つとして HLC による麻薬類の分析について検討した。

2 実験方法

HLC の装置は Shimadzu - DuPon803 で, カラムには, Zipax - SCX, 又は SAX を用いた。カラムのサイズは, いずれも 50cm × 0.2cm である。

溶出液には, 各種 pH の 0.2M 水酸化ナトリウム溶液 (boric acid で pH を調整) を用い, 添加剤として, n - プロパノール, アセトニトリル, KNO₃ などを用いた。

カラム温度: 室温 ~ 50

検 出 器 : UV 245nm

実験に使用した麻薬は, モルヒネ, リン酸コデイン,

*大蔵省関税中央分析所 千葉県松戸市岩瀬 531

エチルモルヒネ、コカイン、LSD、あへん末であり、このほか、あへんアルカロイドとしてナルコチン及びババペリンを使用した。各アルカロイド類はメチルアルコール・クロロホルム (1 : 1 V/V) 混合溶媒に約 1 % となるように溶解したものである。あへん末は混合溶媒に溶かしたのちろ過し、ろ液を検体とした。

3 結果と考察

3・1 分離性状と添加物の効果

カラムクロマトグラフィーによるアルカロイド類の分離では、主としてカチオン交換樹脂が使用されている。Knox ら⁵⁾も、モルヒネ、ヘロインなど数種のアルカロイドをイオン交換樹脂を用いて、HLC により分離している。

そこで、カチオン交換樹脂 SCX を用いて各アルカロイド類の分離性状を検討した。

0.2M 水酸化ナトリウム溶液 (pH9.0) を溶出剤とした場合、Fig.1 に示したようにモルヒネはほとんど保持されず速かに溶出する。しかし、ババペリン、コデイン、エチルモルヒネ、ナルコチンは保持され、ナルコチンは最

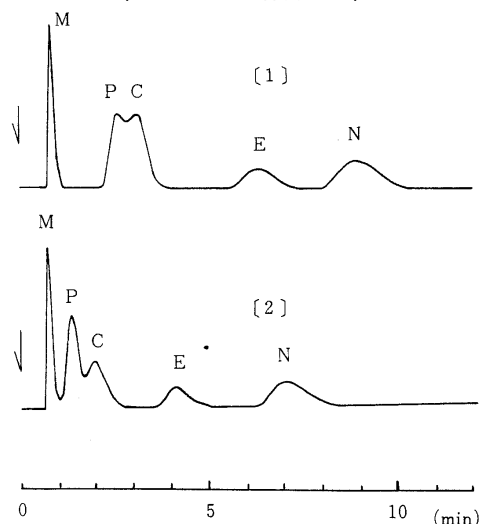


Fig.1 Chromatograms of alkaloids

Column 50 × 0.2cm Zipax SCX : Temp 50 :
flow-rate 1.2 ml / min(60kg / cm²)

Eluent :

[1] 0.2M NaOH(pH.9.0)

[2] 0.2M NaOH(pH.9.0)+5% n-propanol

M : morphine, P : papaverine,

C : codeine phosphate, E : ethyl morphine

N : narcotine

も強く保持される。また、この条件ではババペリンとコデインの分離は不充分である。5 % の n - プロパノールを含む溶出剤では、アルカロイド類の溶出速度が速くなり、この条件で最も遅く溶出するナルコチンの保持時間は 7 分であった。

つぎに、この溶出剤に塩類を添加してピークの形状、溶出速度に対する効果を検討した。Fig.2 に示したように 1 % (NH₄)₂SO₄、又は 1 % KNO₃ を添加した場合、ピークの形状はシャープになるが、溶出速度に著しい変動はなかった。また、1 % (NH₄)₂SO₄ 添加ではモルヒネとババペリンのピークが接近してくる。

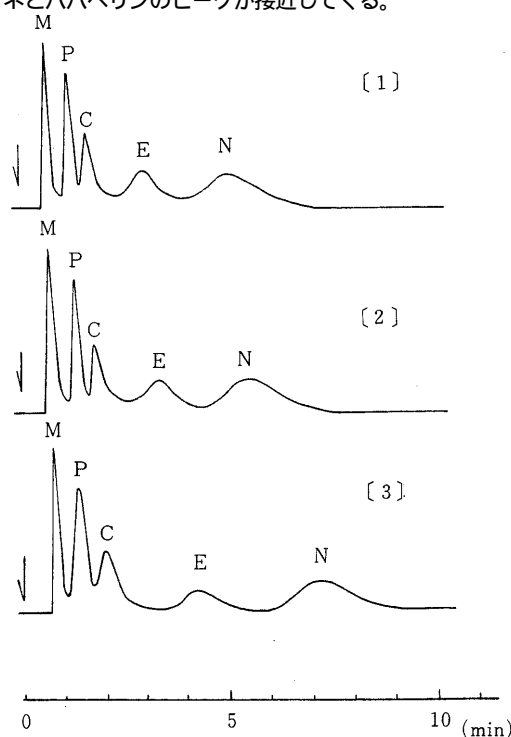


Fig.2 Effect of eluents on the separation of alkaloids

Column 50 × 0.2cm Zipax SCX : Temp 50 :
flow-rate 1.2ml / min(60kg / cm²)

Eluent : 0.2M NaOH(pH9.0)+5% n-propanol

[1] 1%KNO₃

[2] 1%(NH₄)₂SO₂

[3] -

有機溶剤の添加は保持比を低下させるが、モルヒネ及びヘロインに対してはプロパノールの影響が大きいことが知られている。そこで保持比を低下させるためによく使用されているアセトニトリルを溶出剤に添加して各ア

ルカロイドの分離性を見ると, Fig.3 に示したように, 0.2M 水酸化ナトリウム溶液に 5 % n - プロパノールと 1 % KNO_3 を含む混合溶剤に 2 % アセトニトリルを添加した場合, 各アルカロイドの溶出速度は速くなり, ピークの形状もシャープになってくる。しかし, 有機溶剤の添加

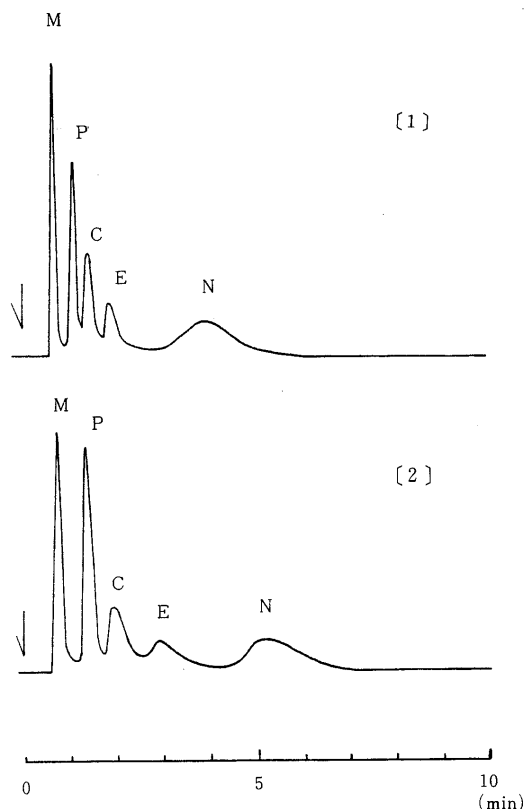


Fig.3 Effect of eluents on the separation of alkaloids

Column 50 × 0.2cm Zipax SCX : Temp 50 :
flow-rate 1.2ml / min (60kg / cm²)

Eluent : 0.2M NaOH (pH9.0) + 5 % n-propanol

[1] 1% KNO_3 + 2% acetonitrile

[2] 1% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ + 2% acetonitrile

は樹脂の劣化をきたすので, 添加量を極端に増すことはできなかった。

3・2 溶出速度の影響

0.2M 水酸化ナトリウム溶液 (pH.9.0) に 5 % n - プロパノール, 2 % アセトニトリル及び 1 % KNO_3 を含む

混合溶剤を用いて, 溶出速度による各アルカロイド類の挙動について検討した。Fig.4 に示したように, 溶出速度を 2.9ml / min (120kg / cm²) にすると, 各アルカロイドは 3 分以内にすべて溶出してくるが, モルヒネ, パパベリン, コデイン及びエチルモルヒネの相互分離が不十分となる。ピークの形状, 分析時間及び分取などの点を考慮すると, 溶出速度として 0.8ml / min (40kg / cm²) の条件が適している。

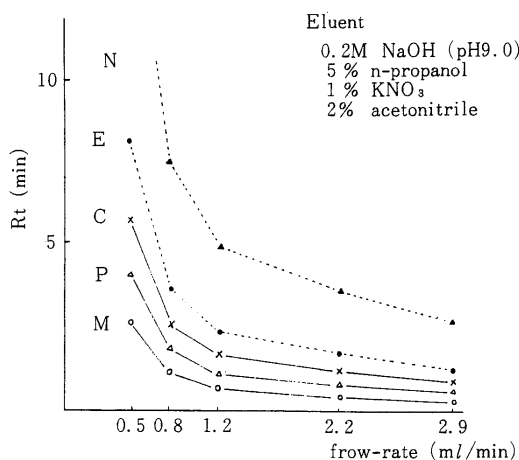


Fig.4 Relationship between Rt and flow-rate of eluent

Column, 50 × 0.2cm Zipax SCX : Temp, 50 :
M : morphine, P : papaverine, C : codeine phosphate, E : ethyl morphine, N : narcotine

3・3 pH と保持時間との関係

各種 pH の溶出剤による各アルカロイド類の保持時間を Fig.5 に示した。pH.6.0 では, ナルコチンは 17 分で溶出してくるが, pH.9.0 にすると約 7 分で溶出する。エチルモルヒネ, コデインも pH の増加につれて溶出速度は速くなるが, パパベリン及びモルヒネの保持時間は pH の変化によりそれほど変動しない。この条件では, LSD はほとんど保持されないが, コカインは強く保持され, いずれの pH においてもナルコチンより遅く溶出した。

3・4 あへん末の分析

実験試料として, あへん末のアルカロイド成分を分離した。すなわち, あへん末にメタノール・クロロホルム混合溶剤 (1 : 1V/V) をを加え, 攪拌したのちろ過し, ろ液を検体とした。この検体約 2 µl を注入したときの HLC クロマトグラムは Fig.6 に示した。モルヒネの強い

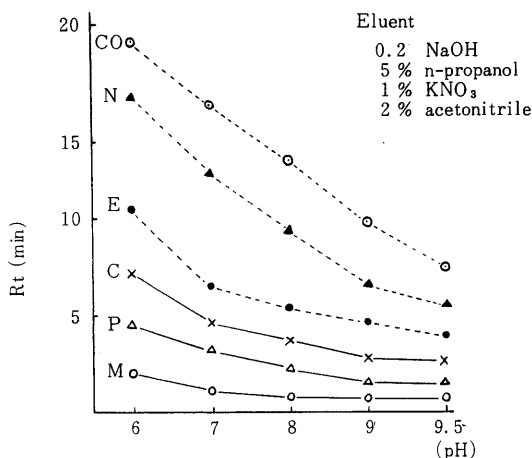


Fig.5 Relationship between R_t and pH of eluent
Column 50×0.2 cm Zipax SCX : Temp.50 :
flow-rate 0.8ml / min($40\text{kg} / \text{cm}^2$)
M : morphine, P : papaverine, C : codeine phosphate
E : ethyl morphine, N : narcotine, CO : cocaine

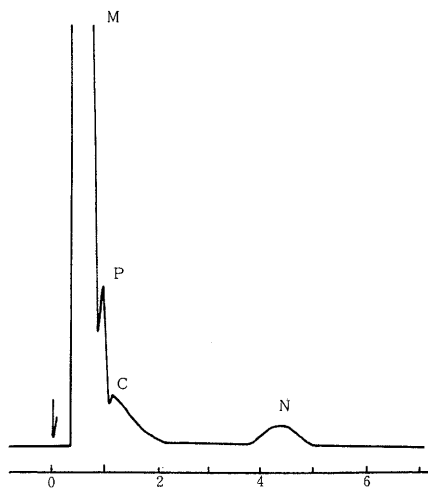


Fig.6 Chromatogram of methanol extract obtained
from opium powder
Column 50×0.2 cm Zipax : Temp 50 :
flow-rate 1.2ml($60\text{kg} / \text{cm}^2$)
Eluent :

0.2M NaOH(pH8.8)
5 % n-propanol
1 % KNO_3
2 % acetonitrile

ピークのほか、副アルカロイド類として、パパベリン、コデイン及びナルコチンのピークが検出されるが、モルヒネの含有量が大いいため、パパベリンとコデインはショルダーピークとして現われている。テバインは標準試料がないため確認できなかった。

3・5 分散と同定

HLC により分離した各成分を分取し、紫外吸収スペクトル及びマススペクトルによる同定を試みた。分析用カラムで分離溶出してくる成分を数回に渉り分取したのち、各画分を減圧濃縮した。紫外吸収スペクトルは、濃縮乾燥したものを再びメタノールに溶かして測定した。分取成分の紫外吸収スペクトルは Fig.7 に示すように、それぞれ標

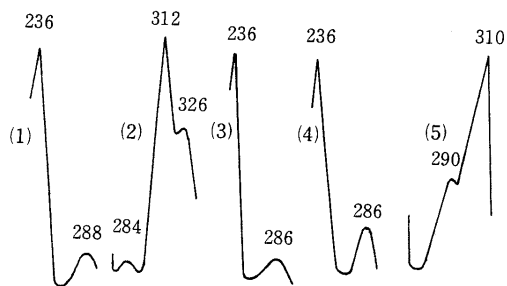


Fig.7 UV by HLC

- (1) morphine
- (2) papaverine
- (3) codeine
- (4) ethyl morphine
- (5) narcotine

準試料の λ_{max} とよく一致している。

一方、各画分のマススペクトルを直接導入法により測定した結果、いずれのアルカロイド類も明瞭な分子イオンピークを示し、マスフラグメントも標準試料のものとよく一致しており、これらの方法を併用することにより、各成分を容易に同定できることを明らかにした (Fig.8)。

4 総 括

HLC によるあへんアルカロイド類の分離と同定について検討した。主要アルカロイド類はZipax - SCX(カチオン交換樹脂)をカラム充てん剤とし、0.2M 水酸化ナトリウム溶液 (boric acid で pH 調整) に 5 % n - プロパノール、2 % アセトニトリル及び 1 % KNO_3 を添加した溶出剤を用いて迅速に分析できることを明らかにした。すな

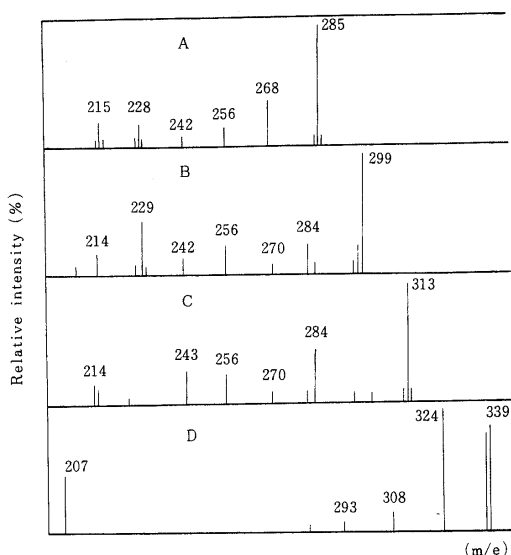


Fig.8 Mass spectra of opium alkaloids collected by HLC

A : morphine

B : codeine

C : ethyl morphine

D : papaverine

文 献

- 1)吉村実，出来三男，塚元久雄：薬誌，**83**，3(1963)．
- 2)吉村実，出来三男：分析化学，**12**，941(1963)．
- 3)出来三男，吉村実：本誌，No.15，45(1974)
- 4)N.B.Eddy，H.May，W.C.Wildaman：United Nations Document，G.E.61 - 14805，St SOA/SER. K/114，6.Oct. 1961
- 5)J.H.Knox，J.Jurand：J.chromatogr，**103**，311(1975)

Separation and Identification of Narcotics by High-Speed Liquid Chromatography

Mitsuo DEKI and Katsumi MIZUKI*

*Central Customs Laboratory，Ministry of Finance，531，Iwase Matsudo-Shi，Chiba-Ken，Japan

The rapid separation of opium alkaloids and cocain on column of ion exchange resin was investigated. The eluent composition，pH and flow-rate have important effect on the separation of opium alkaloids. Opium alkaloids could be eluted from Zipax SCX by aqueous sodium hydroxide/boric acid buffer of pH 9.0 in a few minutes as a symmetrical peak. Morphine and papaverine were eluted rapidly. Ethylmorphine，codeine，cocain and narcotine were more retained，but they could be well separated from each

other in 10 minutes by 0.2M aqueous sodium hydroxide/boric acid buffer with the addition of 2 % acetonitrile , 5 % n-propanol and 1 % potassium nitrate . The sample collected by high-speed liquid chromatography has been identified by UV and Mass spectrometry .

—Received Sep.13 , 1975—