

## ノート

## イオン電極法によるジアゼパムの定量

片岡憲治\*, 勝孝\*\*

## Determination of Diazepam using a Diazepam-Sensitive 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 diazepam-sensitive membrane electrode was constructed using sodium tetrakis [3,5-bis (2-methoxyhexafluoro-2-propyl) phenyl] borate as an ion-exchanger and dioctyl phthalate as a membrane solvent in a poly (vinyl chloride) membrane matrix. Calibration plots between the electric potentials and diazepam concentrations were measured in the presence of 10 mM HCl. The detection limit was  $5 \times 10^{-7}$  M and the slope of the electrode in the concentration range from  $5 \times 10^{-6}$  to  $1 \times 10^{-3}$  M was 56.8 mV per concentration decade. The method can be applied for rapid determination of diazepam at customs laboratory.

## 1. 緒言

平成2年6月より法規制された向精神薬（睡眠薬、興奮薬、精神安定薬など）の税關における押収量は、平成2年17錠、平成3年10錠と僅かであったが、その後の薬物乱用の広がりを背景に航空旅客や国際郵便物による密輸入事犯が急増し、平成8年には77,908錠（対前年比23%増）、平成9年には109,937錠（対前年比41%増）となった。このような状況に対処するため、税關においては水際での更なる取締り強化を図っている。しかしながら、これらの向精神薬については、覚せい剤や大麻などと異なり特徴的な呈色を発する有力な簡易試薬もなく、摘発現場での薬物判定は錠剤の形や記号などの外観に頼らざるを得ず、大変困難な状況にある。そこで、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。

ところで、pHメーターに代表されるイオン電極法は、試料溶液に電極を浸すだけで特定のイオンをその場で測定できるという大きな特長をもっている。渡辺ら<sup>1,2)</sup>は、これまでに覚せい剤メタ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、イオン電極法が薬物に対しても有効な分析法の一つであることを報告している。私達は、このイオン電極法を向精神薬の定量に応用することに关心をもち、今回、税關等におい

て比較的摘発事例が多いジアゼパムに対する電極開発を検討した。

## 2. 実験

## 2.1 試薬

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), o-ニトロフェニルオクチルエーテル(NPOE)及び2-フルオロ-2'-ニトロジフェニルエーテル(FNDPE)は同仁化学研究所製、フタル酸ジオクチル(DOP)及びリン酸トリクレジル(TCP)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

イオン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。この膜はイオン交換体（あるいはキャリヤー）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。勝ら<sup>3)</sup>は、これらの組み合わせを総合的に検討しており、薬・毒物に対する最適のセンサー膜の作製法を報告している。本研究では、この報告<sup>3)</sup>を参考に、イオン交換体として脂溶性の高いNaHFPB、膜溶媒としてDOP、FNDPE、NPOE及びTCPの4種類を用いて検討した。セン

\* 大蔵省税關中央分析所 〒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

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（7904 L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および勝らの手法<sup>3)</sup>を参考に、PVC（10mg）、イオン交換体 NaHFPB（0.02mg）及び膜溶媒（20μl）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。

電極の内部溶液は、計測目的とするイオンと塩化物イオンを含むことが基本的に必要であること、またジアゼパムのpK<sub>a</sub>が3.4であることから、10mM塩酸中に1mMジアゼパム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ジアゼパム/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ジアゼパム/10mM塩酸溶液を少量づつ添加し、段階的にジアゼパム濃度を変化させ、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>4)</sup>により評価した。本研究では、ジアゼパム濃度を1×10<sup>-5</sup>Mから2×10<sup>-5</sup>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。

### 3. 結果及び考察

#### 3.1 膜組成の検討

ジアゼパムに応答する電極は、イオン交換体としてテトラフェニルホウ酸等を用いて、既にNieら<sup>5)</sup>により開発されている。本研究では、より電極性能の向上が期待される脂溶性の高

Table1 Electode parameters

Membrane solvent	Detection limit (M)	Slope (mV/decade)*
DOP	5×10 <sup>-7</sup>	57.6
FNDPE	1×10 <sup>-6</sup>	62.2
NPOE	2×10 <sup>-6</sup>	55.1
TCP	2×10 <sup>-6</sup>	53.1

\* Slope in the concentration range from 1×10<sup>-5</sup> to 1×10<sup>-3</sup>M of diazepam.

いイオン交換体 NaHFPB を用いてジアゼパム電極を作製した。種々の膜溶媒を用いて、ジアゼパムに対する検出下限及び検量線の傾きを比較したところ、膜溶媒として DOP が最も優れていた（Table 1）。膜溶媒 FNDPE は、薬物電極の膜溶媒として検出感度を高めるために有効であることが報告されているが<sup>3)</sup>、ジアゼパムの場合には、検出感度がそれほど向上しなかつ

た。さらに、この膜溶媒ではジアゼパム濃度が高濃度になるにつれ検量線の傾きが大きくなる傾向がみられ、今回の定量には適切でなかった。Fig. 1は、NaHFPB と DOP との組み合わせにより作製した電極の検量線を示している。ジアゼパムの検出下限は5×10<sup>-7</sup>Mであり、Nie らの結果（10<sup>-6</sup>Mのオーダー）<sup>5)</sup>よりも優れていた。また、5×10<sup>-6</sup>Mから1×10<sup>-3</sup>Mの濃度範囲で傾き 56.8mV/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 57.1mV/decade となる）にほぼ一致した。

#### 3.2 選択性の検討

作製したセンサー膜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、種々の薬物を1mMの濃度で10mM塩酸に溶解し、電圧を測定した。その結果、錠剤の賦形剤等として含有が想定される乳糖、カフェイン及びアセトアミノフェンには、ほとんど応答せず（電圧は10mM塩酸のベースラインの値とほぼ同じ）、妨害成分とはならないことが判明した。一方、法規制されている他の向精神薬（クロルジアゼパキシド、ミタゾラム及びニトラゼパム等）には強く応答したので、これらの薬物については選択係数をマッチド・ポテンシャル法<sup>4)</sup>により評価した（Table 2）。表中に示した選択係数が、例えば10<sup>-1</sup>である場合には、その薬物に対する応答性はジアゼパムよりも1/10弱いことを示している。今回作製した電極では、他の向精神薬にも強く応答しており、薬物の選択性に欠けていることは否めない。しかし、法規制されている向精神薬は多種・多様であり、税関の現場での活用を念頭においていた場合、選択性を犠牲にしても、ジアゼパムグループとして複数の法規制物質を一括してスクリーニングできた方が、現場向きであるとも考えられる（現場では詳しい薬物の同定を必要としない）。

Table2 Selectivity coefficients,  $k_{\text{diazepam},X}^{\text{Pot}}$

Interfering drug (X)	$k_{\text{diazepam},X}^{\text{Pot}}$ *
Phentermine	1.3×10 <sup>-1</sup>
Nitrazepam	2.0×10 <sup>-1</sup>
Chlordiazepoxide	1.7
Midazolam	2.9
Methylephedrine	8.0×10 <sup>-2</sup>

\* Obtained by the matched-potential method.

#### 3.3 膜寿命の検討

電極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をジアゼパム濃度（M）の対数とすれば、当初  $y = 56.8x + 378.6$  から、1週間後では  $y = 56.1x + 375.5$ 、4週間後では  $y = 54.2x + 369.4$ （ $5 \times 10^{-6}$ Mから $1 \times 10^{-3}$ Mの濃度範囲）と表された。この結果は、電極の傾きはやや小さくなっているものの、1ヶ月程度では電極はそれほど大きく劣化しないことを示した。

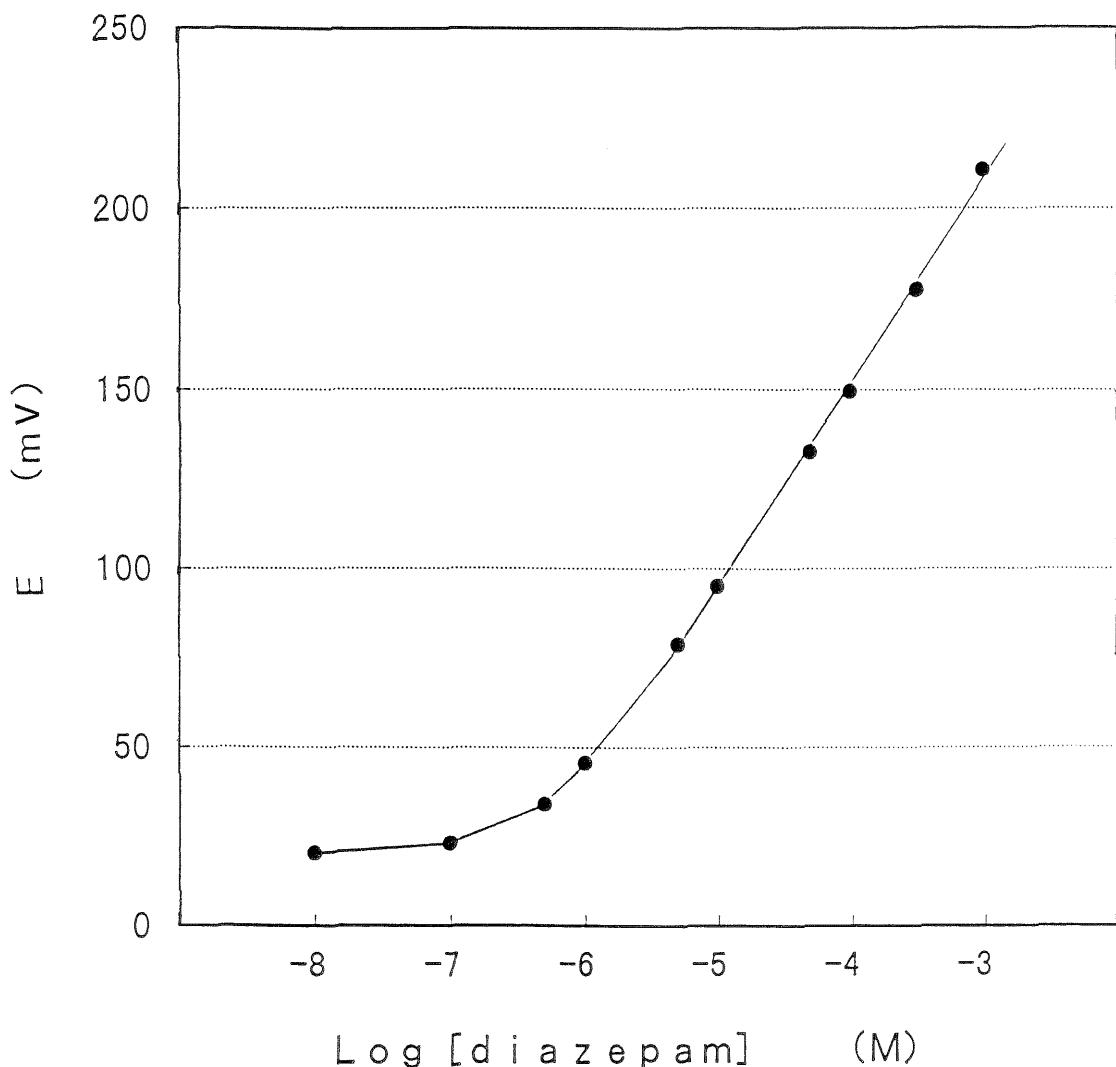


Fig.1 Calibration graph of electric potential vs. diazepam concentration in 10mM HCl

## 4. 要 約

市販の電極実験用キット (DKK 製) を用いて、ジアゼパム電極を作製した。電極のセンサー膜はイオン交換体としてテトラキス [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)、膜溶媒としてフタル酸ジオクチル (DOP) を用いた。ジアゼパムの検出下限は  $5 \times 10^{-7}$  M であり、 $5 \times 10^{-6}$  M から  $1 \times 10^{-3}$  M の濃度範囲で傾き  $56.8 \text{ mV/decade}$  の直線性を示した。本法は、税関で摘発・押収した向精神薬の迅速・簡便な定量法の一つとして有用であるとともに、今後の進展によっては、税関等の現場で職員が薬物を一次スクリーニングする際に使用する判定装置として応用できる可能性もあると考えている。

## 文 献

- 1) K. Watanabe, K. Okada, T. Katsu : Anal. Chim. Acta, 274, 59 (1993)
- 2) 渡辺清之, 岡田邦夫, 小田秀夫, 勝 孝 : 分析化学, 46, 1019 (1997)
- 3) 勝 孝, 渡辺清之 : 衛生化学, 42, 453 (1996)
- 4) V.P.Y. Gadzekpo, G.D. Christian : Anal. Chim. Acta, 164, 279 (1984)
- 5) L.-H. Nie, D.-Z. Liu, S.-Z. Yao : J. Pharm. Biomed. Anal., 8, 379 (1990)