

p-フルオロアンフェタミン中の微量アンフェタミンの分析

森藤 一志*, 佐貫 薫*, 杉山 真士*, 松本 啓嗣*, 秋枝 毅*

Analyzing Trace Amphetamine in p-Fluoroamphetamines

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

*Tokyo Customs Laboratory

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

When we used GC-MS to analyze an illegal imported drug (so-called “designer drug”) named p-fluoroamphetamine, a very small amount of amphetamine was also detected. In this study, we tried to synthesize p-fluoroamphetamine from two starting materials, and determined by-products from the synthetic processes and cleavage products from the synthesized p-fluoroamphetamine. We also examined a method that analyzes whether or not trace amphetamine exists in p-fluoroamphetamine. It was found that the presence of trace amphetamine in p-fluoroamphetamine resulted directly from both synthetic processes, and that p-fluoroamphetamine had good stability. It was possible to detect and identify trace amphetamine in p-fluoroamphetamine by combination of HPLC and GC-MS analyses, including determination of sample as TFA derivatives.

1. 緒 言

昨今のマスコミ報道等からも知られるように違法ドラッグ（いわゆる脱法ドラッグ）の濫用が社会問題化している。昨年、東京税関においてその違法ドラッグの 1 つである、p-フルオロアンフェタミンについて分析を行う機会があった。p-フルオロアンフェタミンは、覚せい剤として厳格に取り締まられているアンフェタミンにフルオロ基を付加させただけの化合物であるが、この薬物の分析を行ったところ GC-MS により微量のアンフェタミンが検出された (Fig.1)。しかしながら、HPLC による分析においては、耐塩基性逆相カラムである ZORBAX Extend-C18 を用い、東京税関での通常の薬物分析条件により、標準アンフェタミンと同一の保持時間にピークが検出されたが、UV スペクトルが異なったことからアンフェタミンを確認することは出来なかった (Fig.2,3)。これは、依頼試料にはアンフェタミンが極微量しか含まれていなかったこと、不純物を多数含んでいたこと等が原因として考えられ、結局 GC-MS 以外の方法ではアンフェタミンの検出に至らなかった。また、GC-MS による分析では 320℃ という高温に晒されるが、そのような高温において p-フルオロアンフェタミンが安定であるかは不明であり、また抽出時の酸や塩基等に対しても安定であるかは不明である。そのため、実際に p-フルオロアンフェタミンを合成してそれらの影響について確認する必要がある。

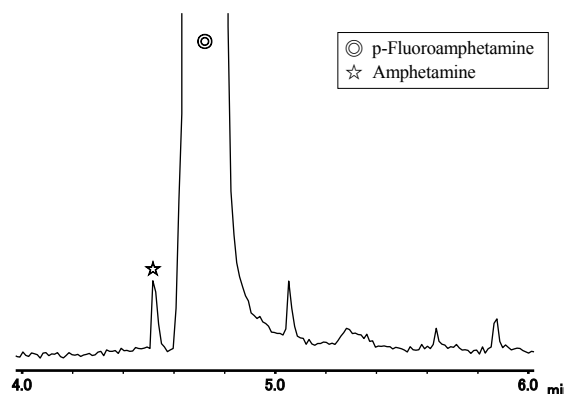


Fig. 1 Total ion chromatogram of sample requested

また、p-フルオロアンフェタミンは、覚せい剤取締法や麻薬及び向精神薬取締法で規制されていないことから、これ自体は輸入禁制品となっていない。しかし、アンフェタミンが含まれているのであれば、覚せい剤取締法の規制対象となることから、p-フルオロアンフェタミンの合成過程で副生成物として常にアンフェタミンが生成するのであればその物品を輸入することはできない。そこで、p-フルオロアンフェタミンに含まれる微量アンフェタミンの分析法について検討するにあたり、まず、複数の出発原料から p-フルオロアンフェタミンの合成を行い、合成副生物、分解生成物について分析し、微量アンフェタミンの起源について検討するとともに、HPLC 等による微量アンフェタミンの分析法を検討したので報告する。

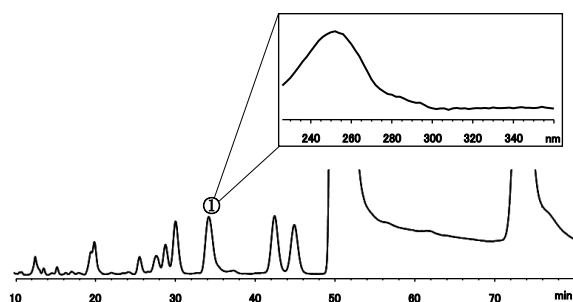


Fig. 2 Liquid chromatogram of sample requested and UV spectrum of peak ①

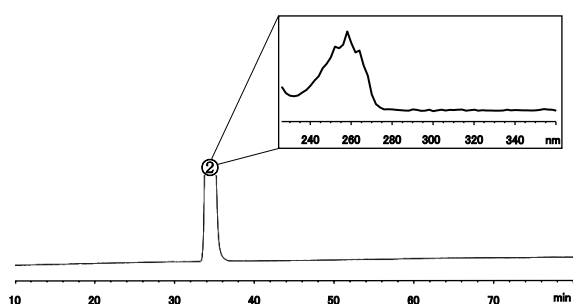


Fig. 3 Liquid chromatogram of standard amphetamine and UV spectrum of peak ②

2. 実験

2. 1 試料

2. 1. 1 合成用試薬

- ・ 4-Fluorobenzaldehyde (東京化成)
- ・ n-Butylamine (関東化学)
- ・ Nitroethane (和光純薬)
- ・ Lithium aluminium hydride (和光純薬)
- ・ (4-Fluorophenyl)acetone (ACROS ORGANICS)
- ・ Ammonium acetate (和光純薬)
- ・ Sodium cyanotrihydroborate (和光純薬)

2. 1. 2 アシル化剤

- ・ Trifluoroacetic anhydride (東京化成)

2. 1. 3 分析試料

- ・ p-フルオロアンフェタミンを主成分とする依頼試料

2. 2 分析装置及び測定条件

2. 2. 1 ガスクロマトグラフ質量分析計 (GC/MS)

装置 : 6890 (GC) / 5973 (MS) (Agilent 社製)
 カラム : DB-5MS (30 m×0.25 mm I.D. 膜厚 0.25 μm)
 注入口温度 : 320 °C
 昇温条件 : 100 °C(3 min)→(20 °C/min)→320 °C(8 min)
 スプリット比 : 50:1
 注入量 : 0.5 μl

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 社製)
 カラム 1 : CAPCELLPAK SCX UG80 (4.6 mm ID×150 mm)
 カラム 2 : Ascentis RP-Amide (4.6 mm ID×150 mm)
 移動相 : 水/アセトニトリル=80/20 + 50 mM KH₂PO₄
 検出器 : フォトダイオードアレイ検出器

カラム 1 とカラム 2 を、六方バルブを介して直列に接続し、一定時間カラム 1 を通じて試料成分を分離させた後に (Fig.4<A>), 流路を変えて、必要な成分だけをカラム 2 で分離させて検出した (Fig.4).

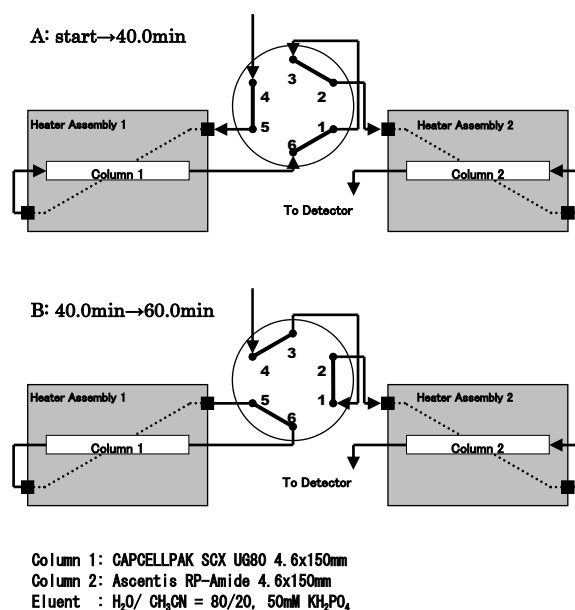


Fig. 4 Column switching system

2. 2. 3 核磁気共鳴装置 (NMR)

装置 : MERCURY-300 (VARIAN 社製)
 測定核種 : ¹H, ¹³C
 溶媒 : 重水

2. 3 p-フルオロアンフェタミンの合成

アンフェタミンの合成法を参照して、4-フルオロベンズアルデヒド及び4-フルオロフェニルアセトンを出発原料として、それぞれ以下の手順でp-フルオロアンフェタミンを合成した (以下「合成法A」及び「合成法B」という)。精製したそれぞれのp-フルオロアンフェタミンは、GC/MS 及び NMR で同定した。

2. 3. 1 合成法 A

- ① 4-フルオロベンズアルデヒド、ニトロエタン、n-ブチルアミンを2-プロパノールに溶解させ、攪拌しながら反応させる。
- ② 反応後、一晚放置した後に溶媒を減圧留去し、黄色の4-フルオロフェニル-2-ニトロプロペンの粗結晶を得る。
- ③ 水素化リチウムアルミニウムを脱水テトラヒドロフラン (THF) に溶解させ、攪拌しながら②で得られた4-フルオロフェニル-2-ニトロプロペンを脱水 THF に溶解させた溶液を

ゆっくりと滴下し、攪拌しながら反応させる。

④5% KOH 水溶液を加えて反応を終了させ、不溶物をろ過し THF で洗浄する。

⑤溶媒を減圧留去し、NaOH 水溶液を加えて塩基性下においてクロロホルムにより抽出する。

⑥抽出したクロロホルム溶液に HCl ジエチルエーテル溶液を加え塩酸塩とする。

⑦溶媒を減圧留去し再結晶化させる。

2. 3. 2 合成法 B

①酢酸アンモニウムをメタノールに溶解させ、4-フルオロフェニルアセトン、シアノトリヒドロホウ酸ナトリウムを加え、HCl メタノール溶液により弱酸性に調整する。

②室温で攪拌し反応させて、少量の水を加えた後に、過剰の塩酸を加えて反応を終了させ、クロロホルムで洗浄する。

③水層に NaOH 水溶液を加え塩基性とし、クロロホルムで抽出する。

④抽出したクロロホルム溶液に HCl ジエチルエーテル溶液を加え塩酸塩とする。

⑤溶媒を減圧留去し再結晶化させる。

2. 4 微量アンフェタミンの起源の解明

2. 4. 1 微量成分の分析

GC/MS により、合成した p-フルオロアンフェタミンに含まれる微量成分の分析を行った。また、それぞれの出発原料に含まれる微量成分の分析もあわせて行った。試料の濃度を約 1.0 mg/ml で分析しても微量成分が確認できない場合は、導入量を数倍～数 10 倍程度にして測定を行った。

2. 4. 2 安定性の検討

p-フルオロアンフェタミンの安定性について、以下の方法により確認を行った。分解生成物が確認されない場合は、そのまま実験を続け、概ね 2 ヶ月間、経過の観察を続けた。

①光に対する安定性

p-フルオロアンフェタミン塩酸塩をバイアルに入れてデシケータ内に置き、1 日約 6 時間程度日光の当たる場所に放置したものを、GC/MS により定期的に分析し、分解物生成の有無を確認した。

②酸に対する安定性

p-フルオロアンフェタミン塩酸塩を濃塩酸に溶解させ、マグネチックスターラーにより攪拌を続けたものを、GC/MS 及び HPLC により定期的に分析し、分解物生成の有無を確認した。

③塩基に対する安定性

p-フルオロアンフェタミン塩酸塩を KOH メタノール溶液 (2 mol/l) に溶解させ、マグネチックスターラーにより攪拌を続けたものを、GC/MS 及び HPLC により定期的に分析し、分解物生成の有無を確認した。

2. 5 分析法の検討

2. 5. 1 HPLC

2. 3 において合成した p-フルオロアンフェタミンについて、

約 10 mg/ml の濃度に調整し 0.45 μ m のメンブランフィルターでろ過した試料溶液を、2.2.2 で示した条件により HPLC で測定した。

2. 5. 2 GC/MS TFA 誘導体化

2. 3 において合成した p-フルオロアンフェタミンについて、NaOH 水溶液に溶解して塩基性とした後、液-液抽出法によりクロロホルムで抽出する。抽出液に無水硫酸ナトリウムを加えることで脱水した後に、濃度が 20% となるように無水トリフルオロ酢酸を加え 60 $^{\circ}$ C のホットプレート上で 30 分間誘導体化反応を行った。

反応により得られた溶液を GC/MS で測定した。

2. 6 依頼試料への応用

2. 5 において検討した条件を確認するために、p-フルオロアンフェタミンを主成分とする依頼試料について、2. 5 と同様の条件にて分析を行った。

3. 結果及び考察

3. 1 p-フルオロアンフェタミンの合成

合成法 B により得られた塩酸塩の結晶の融点は 159.0 - 160.0 $^{\circ}$ C であり、EI マススペクトル (Fig.5) 並びに 1 H 及び 13 C-NMR スペクトル (Fig.6,7) により p-フルオロアンフェタミンであると確認できた。¹⁾

また、合成法 A、B それぞれの方法により得られた p-フルオロアンフェタミンについて、GC/MS により同一の保持時間に同じフラグメンテーションパターンを有するマススペクトルが得られた。

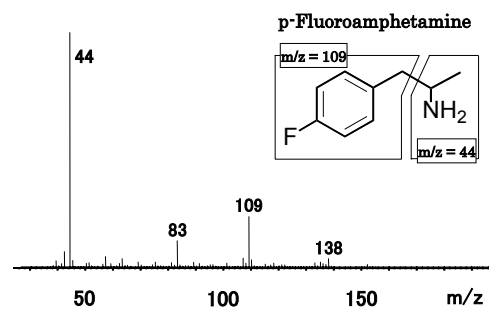


Fig. 5 EI-MS spectrum of p-fluoroamphetamine

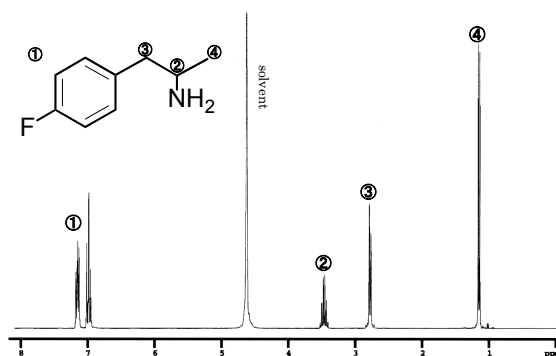
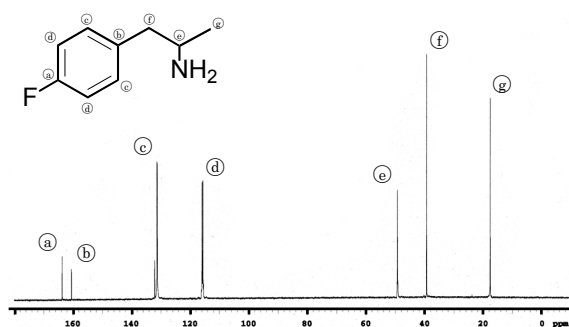


Fig. 6 1 H-NMR spectrum of p-fluoroamphetamine

Fig. 7 ^{13}C -NMR spectrum of p-fluoroamphetamine

3. 2 微量成分の分析

2つの合成法により得られた p-フルオロアンフェタミン（試料濃度 1.0 mg/ml, 0.5 μl 注入）からは不純物としてアンフェタミンを検出することはできなかった。そこで、通常よりも導入量を多くしたところ、合成法 A により合成した p-フルオロアンフェタミンについては、約 10 倍程度の導入量でアンフェタミンの生成を確認することができた (Fig.8)。合成法 B により合成した p-フルオロアンフェタミンについては、約 30 倍程度の導入量としても確認できなかったが、導入量を数 100 倍としたところ、極微量ではあるがアンフェタミンの生成を確認することができた。

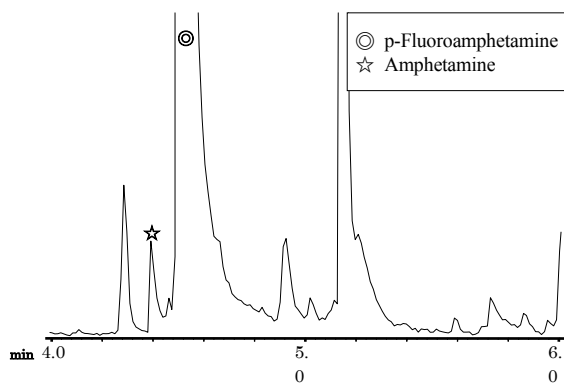
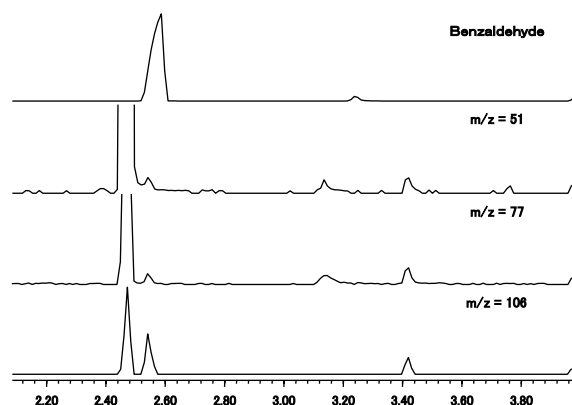
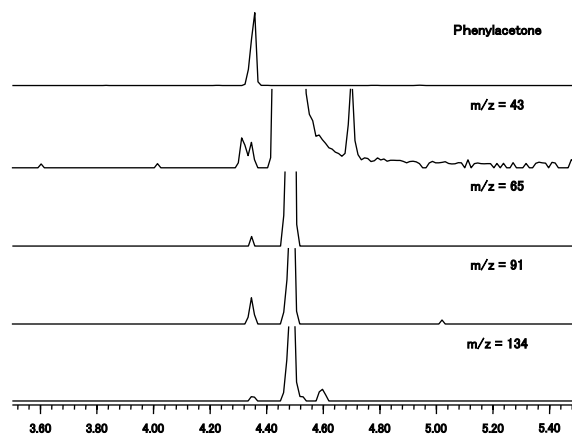


Fig. 8 Total ion chromatogram of synthesized p-fluoroamphetamine

次に、合成原料である 4-フルオロベンズアルデヒド及び 4-フルオロフェニルアセトンに、アンフェタミンの原料となるベンズアルデヒド及びフェニルアセトンがそれぞれ含有されているかどうかを検証した。いずれもトータルイオンクロマトグラムでは両者のピークを確認することができなかった。しかしながら、4-フルオロベンズアルデヒドについては、ベンズアルデヒドに特徴的な $m/z=106$ のイオンクロマトグラムを抽出したところ、標準のベンズアルデヒドの保持時間である 2.58 分にピークが確認でき、そのピークのマススペクトルから、その直前のマススペクトルを減算処理することによりベンズアルデヒドと考えられるマススペクトルを得ることが出来た (Fig.9)。4-フルオロフェニルアセトンについては、フェニルアセトンに特徴的な $m/z=134, 91, 65$ 及び 43 のイオンクロマトグラムを抽出したところ、それぞれのクロマトグラムの 4.35 分にピークを確認することができ、フェニルアセトンと

考えられるマススペクトルを得ることが出来た (Fig.10)。また、合成法 A の中間体である 4-フルオロフェニル-2-ニトロプロペン中に含まれると考えられるフェニル-2-ニトロプロペンについては、4-フルオロフェニル-2-ニトロプロペンとの分離が不可能である上に、その特徴的なフラグメントイオンは 4-フルオロフェニル-2-ニトロプロペンのものと共通するものがほとんどであるため、今回は確認することが出来なかった。

Fig. 9 Total ion chromatogram of benzaldehyde and ion chromatograms of p-fluorobenzaldehyde ($m/z = 106, 77$ and 51)Fig. 10 Total ion chromatogram of phenylacetone and ion chromatograms of (4-fluoro)phenylacetone ($m/z = 134, 91, 65$ and 43)

合成法 A 及び B いずれの方法により合成しても、極微量ではあるが必然的にアンフェタミンが生成することがわかった。さらに、合成法 B により合成した p-フルオロアンフェタミンについては、出発原料中に含まれるフェニルアセトン由来と考えられるアンフェタミンの量を明らかに超える量のアンフェタミンが検出されたことから、出発原料由来のアンフェタミンだけではなく、合成過程で生成されたアンフェタミンもあることが示唆された。

3. 3 安定性の検討

光、酸、塩基に対する安定性を検討したところ、いずれも 2 ヶ月間以上経過しても分解物の生成は見られなかった。このことから、p-フルオロアンフェタミンは安定性が良好で非常に分解しにくい化合物であることがわかった。

3. 4 分析法の検討

3. 4. 1 HPLC

2. 3において合成した p-フルオロアンフェタミン及び標準のアンフェタミンについて、2. 2. 2の条件で測定した HPLC のクロマトグラムを Fig.11 に示す。アンフェタミンが分離でき、標準と UV スペクトルも一致したものの、標準のアンフェタミンとは異なる保持時間となってしまった（標準アンフェタミン：38.8 分、p-フルオロアンフェタミン中のアンフェタミン：37.4 分）。そこで、合成した p-フルオロアンフェタミンに標準のアンフェタミンを添加して測定したところ、Fig.11 に示したクロマトグラムのように、アンフェタミンのピーク面積が増加していることから、確実に合成物にアンフェタミンが含まれていることがわかった。

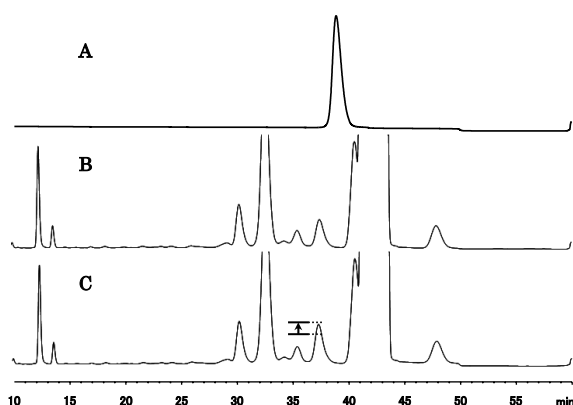


Fig. 11 Liquid chromatograms of amphetamine, synthesized p-fluoroamphetamine and mixture of synthesized p-fluoroamphetamine and trace amphetamine.
A: amphetamine
B: synthesized p-fluoroamphetamine
C: mixture of synthesized p-fluoroamphetamine and trace amphetamine

この条件を用いて依頼試料について同様に測定を行ったところ、Fig.12 に示すように、合成物と同様にアンフェタミンが分離でき、標準と UV スペクトルも一致したものの、やはり標準のアンフェタミンとは異なる保持時間となってしまった。（標準アンフェタミン：38.8 分、依頼試料中のアンフェタミン：38.4 分）そこで、合成物と同様にして、依頼試料に標準のアンフェタミンを添加して測定したところ、Fig.12 に示したクロマトグラムのように、アンフェタミンのピーク面積が増加していることから、確実に依頼試料にアンフェタミンが含まれていることがわかった。

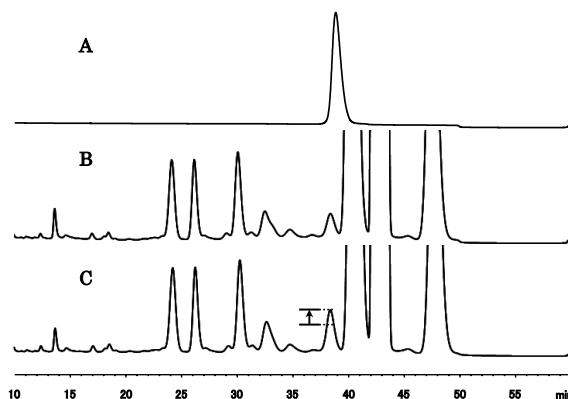


Fig. 12 Liquid chromatograms of amphetamine, sample requested and mixture of sample requested and trace amphetamine
A: amphetamine
B: sample requested
C: mixture of sample requested and trace amphetamine

3. 4. 2 GC/MS TFA 誘導体化

2. 5. 2に示した条件のように TFA 誘導体化を行ったところ Fig.13 に示すように、アンフェタミン TFA が良好に分離、同定された。

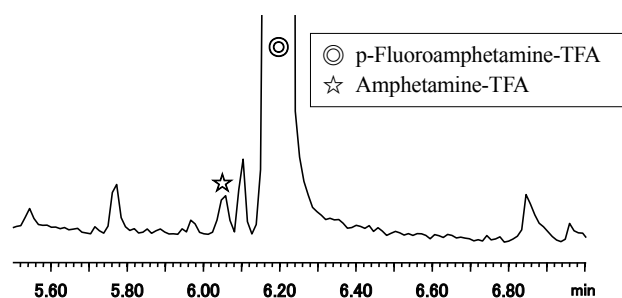


Fig. 13 Total ion chromatogram of p-fluoroamphetamine as TFA derivatives

アンフェタミンのマススペクトルは、アミンの部分に由来する $m/z=44$ のフラグメントイオン以外は特徴的なフラグメントイオンが少なく、構造異性体である N-メチルフェネチルアミン等のマススペクトルと類似している。しかし、TFA 誘導体化することにより特徴的なパターンを有するマススペクトルを示すことから、N-メチルフェネチルアミン等と判別することが可能となった。

この条件を用いて依頼試料の TFA 誘導体化を行ったところ、Fig.14 に示すようにアンフェタミン TFA は良好に分離、同定された。

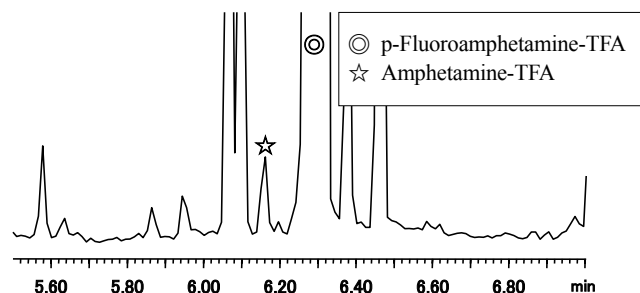


Fig. 14 Total ion chromatogram of sample requested as TFA derivatives

3. 5 考察

p-フルオロアンフェタミンは安定性が高く、HPLC でも検出できたことから、通常の薬物分析操作及び分析機器によりアンフェタミンが生成されることは考えられない。今回の合成においては、p-フルオロアンフェタミンを合成する際に確実にアンフェタミン（合成原料中の不純物を起源とするものまたは合成の副生成物として生成するもの）が生成してしまうことから、今後 p-フルオロアンフェタミンについて分析依頼があれば、常に微量アンフェタミンを含有しているものとして分析しなければならないことがわかった。

また、p-フルオロアンフェタミン中の微量アンフェタミンは、二種類のカラムを直列に接続することで HPLC でも検出でき、通常の GC/MS による分析に加えて、TFA 誘導体化を行うことでより信頼性の高い分析ができることがわかった。

4. 要 約

今回合成した p-フルオロアンフェタミンは、合成原料中に含まれる不純物を起源とするアンフェタミンを含むことがわかった。さらに、4-フルオロベンズアルデヒドを出発原料とする合成方法においては、反応過程においてフルオロ基が外れることがわかった。

また、p-フルオロアンフェタミンに含まれる微量アンフェタミンについて、GC/MS 以外の分析方法を検討したが、TFA 誘導体化及び二種類のカラムを用いて行う HPLC 分析も有効であることがわかった。

文 献

- 1) 荒木 峻, 益子 洋一郎, 山本 修, 鎌田 利敏: “有機化合物のスペクトルによる同定法 第6版”, P.142, P.214 (1999), (東京化学同人)