

リスデキサンフェタミンメシル酸塩の合成と分析

松本 健志*, 行本 剛*, 大崎 伸明*, 勅使川原 尚行*

Synthesis and analysis of lisdexamfetamine dimesylate

Tsuyoshi MATSUMOTO *, Takeshi YUKIMOTO *, Nobuaki OSAKI*,
and Naoyuki TESHIGAWARA*

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

(2S)-2,6-diamino-N-[(1S)-1-methyl-2-phenylethyl] hexanamide dimethanesulfonate (lisdexamfetamine dimesylate) is a central nervous system stimulant and is used for the treatment of Attention Deficit Hyperactivity Disorder (AD/HD) in the USA, Canada, and Brazil. Since lisdexamfetamine is made from D-amphetamine, which is regulated by the Stimulant Control Law, and essential amino acid L-lysine, there is some possibility that the pharmaceutical preparations of lisdexamfetamine contain unreactive D-amphetamine. In Japan, lisdexamfetamine is not regulated by the Stimulant Control Law, so when analyzing the pharmaceutical preparations of lisdexamfetamine, it is very important to judge whether the pharmaceutical preparations contain amphetamine or not. Therefore, we synthesized lisdexamfetamine dimesylate and analyzed it by using Fourier transfer-infrared spectrophotometer (FT-IR), nuclear magnetic resonance apparatus (NMR), electrospray ionization-time of flight mass spectrometer (ESI-TOF/MS), gas chromatograph-mass spectrometer (GC-MS) and high performance liquid chromatograph (HPLC). As a result, we obtained the standard data (IR spectra, ¹H-NMR spectra, ESI-MS spectra and EI-MS spectra) of lisdexamfetamine, and found that lisdexamfetamine could be analyzed by GC-MS and HPLC.

1. 緒 言

2007 年、注意欠陥・多動性障害 (AD/HD) の治療薬として、(2S)-2,6-ジアミノ-N-[(1S)-1-メチル-2-フェニルエチル] ヘキサナムイドジメタンサルホン酸塩 (リスデキサンフェタミンメシル酸塩 (Lisdexamfetamine dimesylate)、以下、「LDX-DM」という。また、LDX-DM の遊離塩基を「LDX」という。Fig1) を含有する製剤が米国で販売開始された¹⁾。LDX は、(+)-1-フェニルプロパン-2-アミン (D-amphetamine、以下、「アンフェタミン」という。) 及び必須アミノ酸の L-リジンを原料にして製造されるため、LDX 含有製剤は未反応の原料アンフェタミンを含有している可能性がある。我が国において、アンフェタミンが覚せい剤取締法 (以下、「覚取法」という。) で厳格に規制されている一方で、LDX は覚取法や麻薬及び向精神薬取締法等の法律で規制されていないため、LDX 含有製剤を分析する際、覚取法該当物の原料アンフェタミンを含有しているか否かを正確に判断することは非常に重要である。

そこで本研究では、LDX-DM を合成し、フーリエ変換赤外分光光度計 (以下、「FT-IR」という。)、核磁気共鳴装置 (以下、「NMR」という。)、電子スプレーイオン化-飛行時間型質量分析計 (以下、「ESI-TOF/MS」という。)、ガスクロマトグラフ質量分析計 (以下、

「GC-MS」という。) を用いて LDX の標準データ (IR スペクトル、¹H-NMR スペクトル、ESI マススペクトル、EI マススペクトル) を収集するとともに、アンフェタミンの含有を確認できる GC-MS 及び高速液体クロマトグラフ (以下、「HPLC」という。) の分析条件について検討したので報告する。

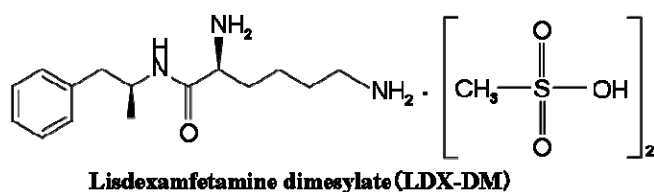


Fig.1 Chemical structure of lisdexamfetamine dimesylate (LDX-DM)

2. 実 験

2.1 試薬及び試料

2.1.1 合成出発原料

D-アンフェタミン硫酸塩 (関税中央分析所所有のもの)
Na, Ne-ビス (tert-ブトキシカルボニル) -L-リジンジシクロヘキ

* 財務省関税中央分析所 〒277-0882 千葉県柏市柏の葉 6-3-5

シルアンモニウム (東京化成)

2.1.2 合成用試薬

プロピルホスホン酸無水物 (50 wt % 酢酸エチル溶液、Sigma-Aldrich)

N,N-ジイソプロピルエチルアミン (Sigma-Aldrich)

酢酸エチル (和光純薬)

メタンスルホン酸 (和光純薬)

1,4-ジオキサン (和光純薬)

2.1.3 NMR 用試薬

ジメチルスルホキシド- d_6 (以下、「DMSO- d_6 」という。) (和光純薬)

2.1.4 GC-MS 用試薬

1mol/L 水酸化ナトリウム水溶液 (以下、「1N NaOH」いう。) (和光純薬)

0.1mol/L 水酸化ナトリウム水溶液 (以下、「0.1N NaOH」いう。) (和光純薬)

1mol/L 塩酸 (以下、「1N HCl」いう。) (和光純薬)

0.2 mol/L 塩酸 (以下、「0.2N HCl」いう。) (和光純薬)

N,O-ビス (トリメチルシリル) アセトアミド (以下、「BSA」いう。) (和光純薬)

クロロホルム (和光純薬)

2.1.5 HPLC 用試薬

メタノール (HPLC 用、和光純薬)

りん酸二水素カリウム (以下、「 KH_2PO_4 」いう。) (和光純薬)

りん酸水素二ナトリウム十二水和物 (以下、「 Na_2HPO_4 」いう。) (和光純薬)

2.2 分析装置及び測定条件

2.2.1 FT-IR

装置 : Nicolet 6700 (Thermo)

測定波数 : 4000~400 cm^{-1}

2.2.2 NMR

装置 : JNM-ECS400 (日本電子)

測定核種 : ^1H

溶媒 : DMSO- d_6

2.2.3 ESI-TOF/MS

装置 : SYNAPT G2 HDMS (Waters)

イオン化法 : 電子スプレーイオン化法 (ポジティブモード)

ソース温度 : 80 $^{\circ}\text{C}$

脱溶媒温度 : 450 $^{\circ}\text{C}$

キャピラリー電圧 : 3.0kV

サンプルコーン電圧 : 20V

2.2.4 GC-MS

装置 : 7890A/5975C (Agilent)

カラム : DB-5MS 30m \times 0.25mm I.D., 0.25 μm (Agilent)

イオン化法 : 電子イオン化法

注入口温度 : 280 $^{\circ}\text{C}$

オープン温度 : 40 $^{\circ}\text{C}$ (2min) \rightarrow (20 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$) \rightarrow 320 $^{\circ}\text{C}$ (8min)

スプリット比 : 50 : 1

2.2.5 HPLC

装置 : Alliance e2695 (Waters)

カラム : CAPCELL PAK C18 MG II (資生堂)

カラム温度 : 40 $^{\circ}\text{C}$

移動相 : 25mmol/L りん酸緩衝溶液 (KH_2PO_4 : Na_2HPO_4 =1 : 1 in molar ratio) / メタノール=80 : 20

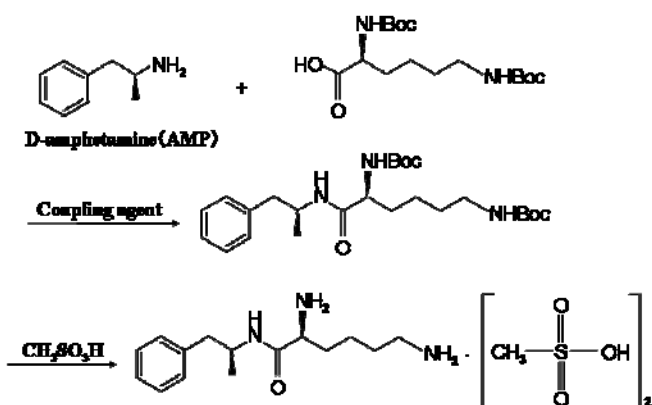
流速 : 1.0ml/min

検出器 : フォトダイオードアレイ検出器 (210nm) (Waters)

2.3 実験

2.3.1 LDX-DM の合成

Meudt らの方法²⁾に従って LDX-DM を合成した (Scheme 1)。



Scheme 1 Synthesis of LDX-DM

2.3.2 構造の確認

2.3.1 で合成した LDX-DM の構造確認のため、その IR スペクトル及び ^1H -NMR スペクトルを測定した。IR スペクトルは KBr 錠剤法により、 ^1H -NMR スペクトルは DMSO- d_6 に溶解させ測定した。

また、分子量の確認のため、合成した LDX-DM を水/メタノール ($v/v=50/50$) の混合溶液に溶解させ、ESI-TOF/MS で ESI マススペクトルを測定した。

2.3.3 分析条件の検討

2.3.3(1) GC-MS による分析

2.3.3(1)① EI マススペクトルの測定

LDX-DM 及びアンフェタミン硫酸塩を水に溶解させ、0.1N NaOH で pH9 程度に調整した後にクロロホルムで抽出 (以下、「塩基性条件下クロロホルム抽出」という。) し、2.2.2 の条件で EI マススペクトルを測定した。

次いで、この抽出溶液に BSA を加え、室温で 30 分間トリメチルシリル誘導体化 (以下、「TMS 誘導体化」という。) し、EI マススペクトルを測定した。

2.3.3(1)② 安定性の確認

GC-MS は注入口で試料溶液を加熱し、気化させてからカラムに導入するため、注入口温度によっては試料が熱分解を起こし、正しく分析できないことがある。また、試料溶液の調製において、試料を酸又は塩基に溶解させることがあるため、試料の構造によっては加水分解を起こすことが考えられる。LDX においては、熱

分解又は加水分解によりアンフェタミンが生成される可能性がある。

そこで、注入口温度を 325℃に設定し、塩基性条件下クロロホルム抽出したものを測定し、アンフェタミンが観測されるか確認した。

また、LDX-DM を 1N NaOH、0.1N NaOH、1.0N HCl、0.2N HCl に直接溶解させ、室温で 30 分間超音波振動し、HCl に溶解させたものは 1N NaOH で pH を塩基性に調整した後にクロロホルムで抽出したものを、NaOH に溶解させたものはそのままクロロホルムで抽出したものをそれぞれ測定し、アンフェタミンが観測されるか確認した。

2.3.3(2) HPLC による分析

LDX-DM 及びアンフェタミン硫酸塩を水/メタノール (v/v=50/50) の混合溶液に溶解させ、2.2.4 の条件で分離できるか検討した。

3. 結果及び考察

3.1 構造の確認

2.3.1 で合成した LDX-DM の IR スペクトルを Fig.2 に示す。IR スペクトルにおいて、N-H 伸縮振動 (3500~3300 cm^{-1} 付近)、C-H 伸縮振動 (3100~2800 cm^{-1} 付近)、C=O 伸縮振動 (1680~1630 cm^{-1} 付近)、S=O 伸縮振動 (1210~1150 cm^{-1} , 1060~1030 cm^{-1} 付近) に由来する吸収が観測された。

合成した LDX-DM の $^1\text{H-NMR}$ スペクトル及びシグナル帰属結果を Fig.3 に示す。 $^1\text{H-NMR}$ スペクトルのシグナル積分比は、LDX-DM の理論プロトン数比と一致した。

また、合成した LDX-DM の ESI マススペクトルを Fig.4 に示す。(a)に示すように、トラップコリジョンエネルギー、トランスファーコリジョンエネルギーともに 0eV で測定すると、LDX (分子量 263) のプロトン付加イオン ($[\text{M}+\text{H}]^+$) と考えられる m/z 264 のピーク及びナトリウム付加イオン ($[\text{M}+\text{Na}]^+(263+23)$) と考えられる m/z 286 のピークが観測された。また、(b)に示すように、トラップコリジョンエネルギーを 0eV から 5eV に、トランスファーコリジョンエネルギーを 0eV から 8eV に上げて測定すると、(a)で観測された m/z 286 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$) 及び 264 ($[\text{M}+\text{H}]^+$) の他に、 m/z 247、136、129、119、101、91、84 などのピークが観測された。これは、Fig.5 に示す LDX 分子の開裂に由来するフラグメントイオンピークであると考えられる。

IR スペクトル、 $^1\text{H-NMR}$ スペクトル及び ESI マススペクトルより、合成した化合物は LDX-DM であると確認した。

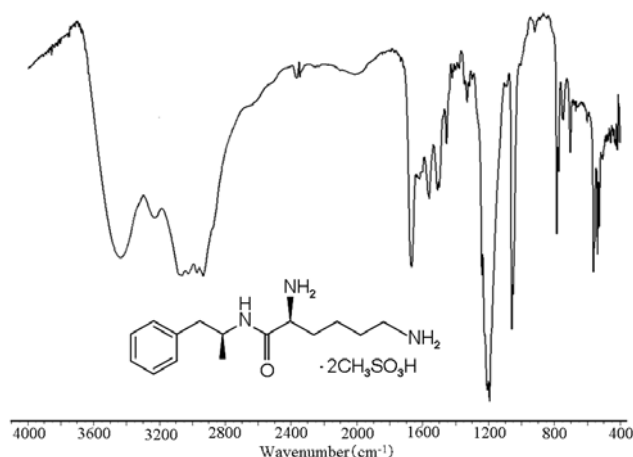


Fig.2 IR spectrum of LDX-DM

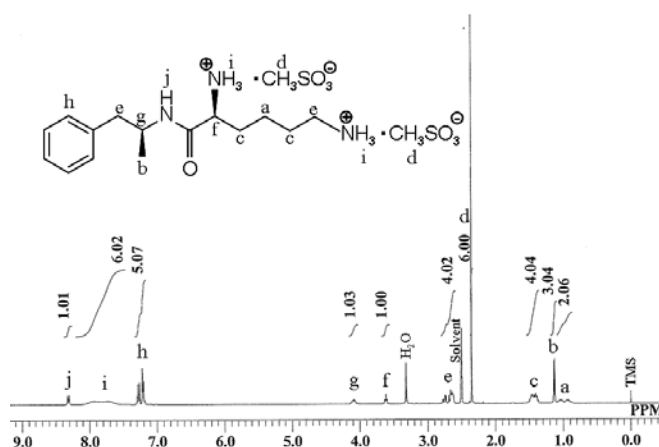


Fig.3 $^1\text{H-NMR}$ spectrum of LDX-DM in $\text{DMSO-}d_6$

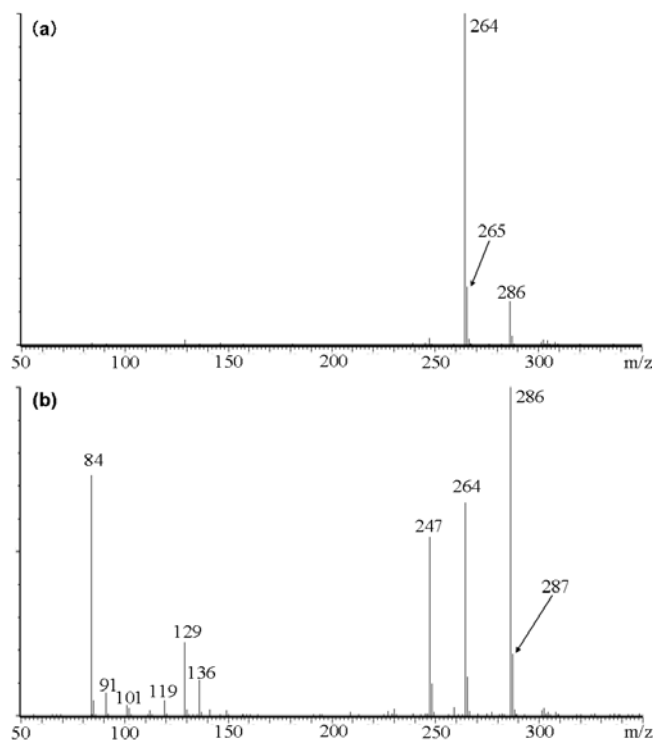


Fig.4 ESI-MS spectra of LDX

(a) Trap collision energy is 0eV, transfer collision energy is 0eV.
(b) Trap collision energy is 5eV, transfer collision energy is 8eV.

MW:263

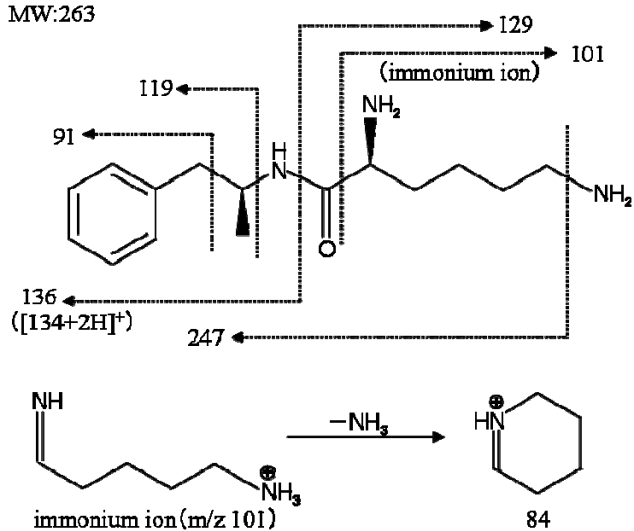


Fig.5 Fragmentation of LDX

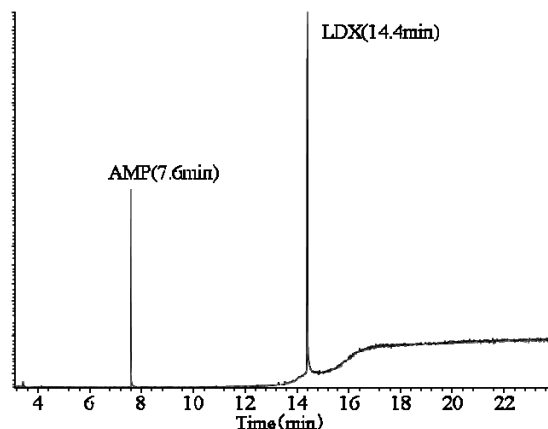


Fig.6 Total ion current chromatogram of LDX and AMP

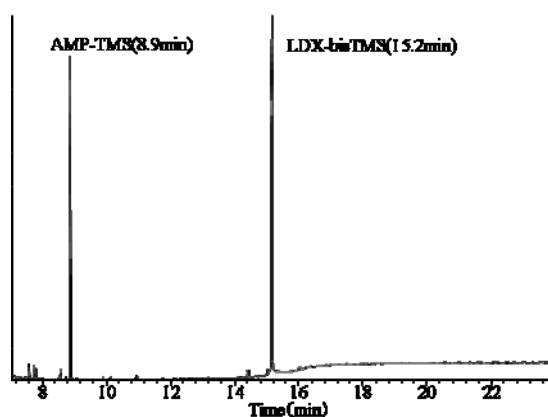


Fig.7 Total ion current chromatogram of TMS derivatives of LDX (LDX-bisTMS) and AMP (AMP-TMS)

3.2 分析条件の検討

3.2.1 GC-MSによる分析

3.2.1① EIマスペクトルの測定

2.3.3(1)①により得られた TMS 誘導体化前のトータルイオンカレントクロマトグラムを Fig.6 に、TMS 誘導体化後のトータルイオンカレントクロマトグラムを Fig.7 に示す。また、TMS 誘導体化前の EI マスペクトルを Fig.8 に、TMS 誘導体化後の EI マスペクトルを Fig.9 に示す。

LDX とアンフェタミンは TMS 誘導体化の前後それぞれにおいて、2.2.2 の GC-MS 測定条件で分離できた。

LDX の EI マスペクトルは m/z 84 をベースピークとし、その他に m/z 173、155、101、91、56、44 などのフラグメントイオンピークが観測された。アンフェタミンの EI マスペクトルは m/z 44 をベースピークとし、その他に m/z 120、91、65 などのフラグメントイオンピークが観測された。

また、LDX の TMS 誘導体は TMS 二置換体 (分子量 407) であると考えられ、 m/z 84 をベースピークとし、その他に m/z 407 (分子イオン)、156、128、102、91、73 (TMS) などのフラグメントイオンピークが観測された。アンフェタミンの TMS 誘導体は TMS 一置換体 (分子量 207) であると考えられ、 m/z 116 をベースピークとし、その他に m/z 192、73 (TMS) などのフラグメントイオンピークが観測された。

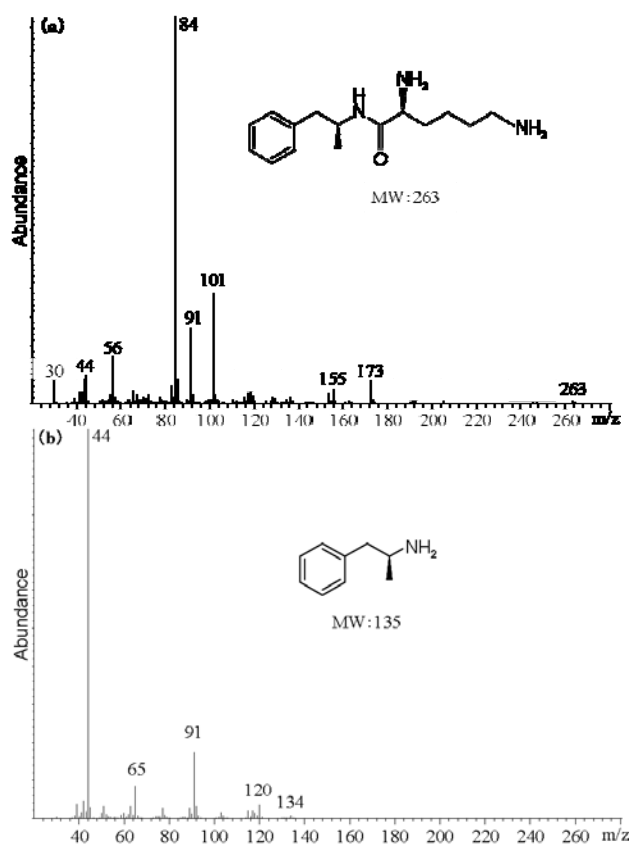


Fig.8 EI-MS spectra of (a) LDX and (b) AMP

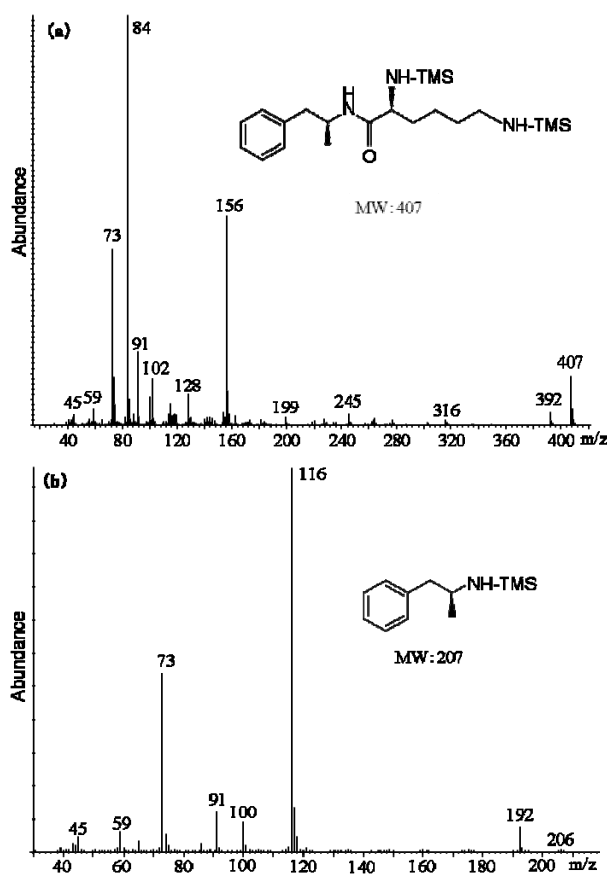


Fig.9 EI-MS spectra of (a) LDX-bisTMS and (b) AMP-TMS

3.2.1② 安定性の確認

2.3.3(1)②のいずれの条件においても、トータルイオンカレントクロマトグラムは LDX のシングルピークを示し、アンフェタミンは観測されなかった。例として注入口温度を 325℃に設定した場合におけるトータルイオンカレントクロマトグラムを Fig.10 に示す。

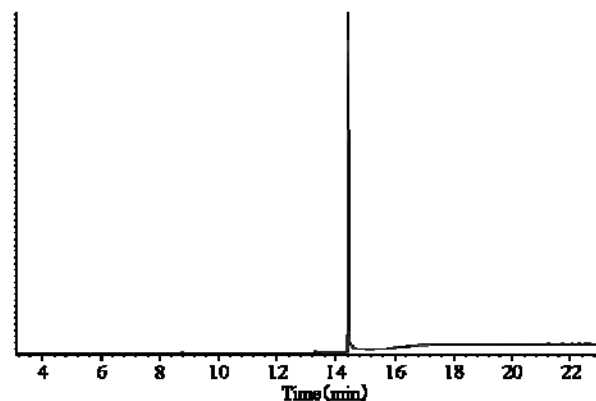


Fig.10 Total ion current chromatogram of LDX at inlet temperature 325°C

3.2.2 HPLC による分析

2.3.3(2)により得られたクロマトグラムを Fig.11 に示す。2.2.4の条件で、LDX とアンフェタミンは分離可能であることが分かった。

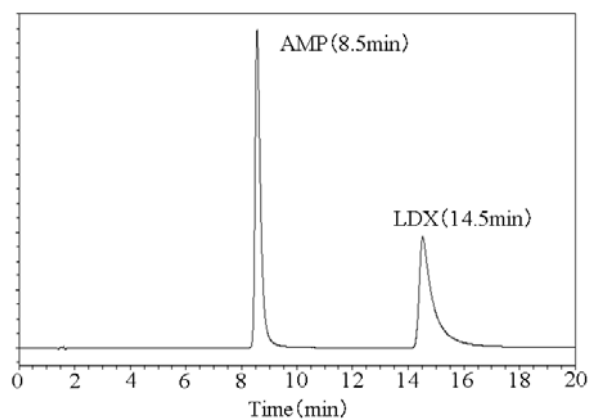


Fig.11 HPLC chromatogram of LDX and AMP

4. 要 約

LDX-DM の合成を行い、FT-IR、NMR、ESI-TOF/MS、GC-MS、HPLC で分析し、これらの標準データ (IR スペクトル、¹H-NMR スペクトル、ESI マススペクトル、EI マススペクトル) を得ることができた。また、GC-MS 及び HPLC により分析可能であることが分かった。

文 献

- 1) Shire US Inc : Vyvanse®(lisdexamfetamine dimesylate), HIGHLIGHTS OF PRESCRIBING INFORMATION.
- 2) Andreas Meudt et al. : U.S.Patent Application Publication US 2011/0196173 A1(2011.8.11)