

逆相高速液体クロマトグラフィー (HPLC) によるイオンペア試薬を使用しないエフェドリン類の分析方法の検討

丹 佑太*, 秋元 里美*, 村上 孝之*, 松本 啓嗣**, 寺内 豊**, 長沼 宏美*

Analysis Method for Ephedrine, Pseudoephedrine, Methylephedrine and Norephedrine without Ion Pair Reagents by Reverse Phase Chromatography

TAN Yuta*, AKIMOTO Satomi*, MURAKAMI Takayuki*, MATSUMOTO Yoshitsugu**, TERAUCHI Yutaka** and NAGANUMA Hiromi*

*Narita Air Cargo Branch Customs Laboratory, 2159 Aza, Tennamino, Komaino, Narita, Chiba 282-8603 Japan

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

Ephedrine and its analogs are contained in some nonprescription medicines in order to suppress coughs or rhinitis. At the same time, they are used as ingredients of methamphetamine and content regulations exist for products which contain the aforementioned. According to current customs analysis, ion pair reagents are utilized when the quantity of ephedrine, pseudoephedrine, methylephedrine and norephedrine are determined by reverse phase chromatography. However, the reagents stick to the columns regardless of how thoroughly they are washed. Therefore, it is necessary to prepare exclusive columns for each measured substance. Recently, some manufacturers have invented columns which can measure basic compounds without reagents. We examined methods of quantitative analysis with such columns for ephedrine and its analogs which are basic compounds. We used 2 columns, 2 organic solvents and 3 buffers (pH 2.6 - 6.9) to examine the condition under which the compound's peaks are separated from each other. As a result, when L-column3 and a mobile phase which was mixed 25mM phosphate buffer (pH 6.9) with methanol were employed, their peaks were perfectly separated. Furthermore, by using the condition and etilefrine as an internal standard material, accurate determination of the quantity of pseudoephedrine and methylephedrine in some nonprescription medicines was achieved.

1. 緒 言

感冒薬中に含有されている、1-フェニル-2-メチルアミノプロパノール-1 (以下、エリトロ体をエフェドリン、トレオ体をプソイドエフェドリンと略記する)、1-フェニル-2-ジメチルアミノプロパノール-1 (以下、メチルエフェドリンと略記する) 及びエリトロ-2-アミノ-1-フェニルプロパン-1-オール (以下、ノルエフェドリンと略記する) は、鎮咳作用や鼻炎症状の緩和作用を目的として利用されていると同時に、覚醒剤取締法第 2 条第 5 項により規制される覚醒剤原料である。同法の規定により、各濃度規制の含有量以下の製剤については規制の対象外となるため、エフェドリン、プソイドエフェドリン、メチルエフェドリン及びノルエフェドリン (以下、エフェドリン類と略記する) を含有する製品の輸入の際には、その含有量を明らかにする必要がある。

製剤中のエフェドリン類の含有量を測定するためには水素炎イオン化検出器付ガスクロマトグラフ (以下、GC-FID と略記する) 又は高速液体クロマトグラフ (以下、HPLC と略記する) を用いることが一般的であるが、前者は危険性の高い水素ガスを使用するため、安全性が高く前処理の簡便な HPLC を使用する場合は

とんどである。しかし、HPLC を使用する場合は、エフェドリン類の種類によって内標準物質、移動相の有機溶媒比及びイオンペア試薬の種類などの分析条件が異なる。そのため、分析試料が複数種のエフェドリン類を含有している場合には同時に分析することができず、分析に時間を要し、かつ必要な試薬が多くなり、作業が煩雑になる。また、移動相にイオンペア試薬を添加するため、ベースラインの安定化に時間を要することが多く、さらには、一度イオンペア試薬を使用したカラムからイオンペア試薬を除去することが困難であり、専用カラムを用意する必要がある、などの運用上の改善点がある。

近年、移動相にイオンペア試薬を添加せずに、塩基性化合物を分析することが可能なカラムが市販されており、税関においても、それらのカラムを用いた分析法の研究がなされている。唯らは、塩基性 (pH11.5) 条件下でエフェドリン類を分離した¹⁾と報告している。しかし、塩基性の移動相を使用すると、基材のシリカゲルの分解が速く進行し²⁾、長期間にわたる安定的な運用に支障を来す可能性がある。

そこで今回、これらの課題を解決するため、酸性又は中性条件下で、移動相にイオンペア試薬を添加せずに塩基性化合物を分析可能なカラムによる、エフェドリン類に適用可能な分析条件の検

* 東京税関成田航空貨物出張所 〒282-8603 千葉県成田市駒井野字天並野 2159

** 財務省関税中央分析所 〒277-0882 千葉県柏市柏の葉 6-3-5

討と、その検討結果を元に、プソイドエフェドリンまたはメチルエフェドリンを含有する市販薬 3 種類を用いて、エフェドリン類の定量を行ったので報告する。

2. 実 験

2.1 試料及び試薬

2.1.1 標準物質（5 種類）

- エフェドリン塩酸塩
- プソイドエフェドリン塩酸塩
- メチルエフェドリン塩酸塩
- ノルエフェドリン塩酸塩
- l-ノルプソイドエフェドリン塩酸塩

2.1.2 内標準物質

- エチレフリン塩酸塩（東京化成工業株式会社）
- 2-フェニルエチルアミン塩酸塩（和光純薬，特級）

2.1.3 移動相用試薬

- アセトニトリル（純正化学，高速液体クロマト用）
- メタノール（純正化学，高速液体クロマト用）
- リン酸（和光純薬，特級）
- リン酸二水素カリウム（和光純薬，特級）
- リン酸水素二カリウム（和光純薬，特級）
- リン酸二水素ナトリウム（和光純薬，特級）
- リン酸水素二ナトリウム（和光純薬，特級）
- 酢酸（和光純薬，特級）
- 酢酸ナトリウム（和光純薬，特級）
- ギ酸(約 99 %)（和光純薬，高速液体クロマトグラフ用）
- 1mol/l ギ酸アンモニウム溶液（和光純薬，高速液体クロマトグラフ用）

2.1.4 市販薬

- 塩酸プソイドエフェドリンを含有する錠剤（45 mg/2 錠）の市販薬（以下，医薬品 A と略記する）
- メチルエフェドリン塩酸塩を含有するカプセル（60 mg/4 カプセル）状の市販薬（以下，医薬品 B と略記する）
- メチルエフェドリン塩酸塩を含有する散剤（40 mg/4 包）の市販薬（以下，医薬品 C と略記する）

2.2 分析装置及び測定条件

2.2.1 移動相条件の検討

5 種類の標準物質を下記の条件下で測定し，それぞれの分離が良好となる移動相条件の検討を行った。

- 分析装置 : HPLC 1260 Infinity II（Agilent Technologies 社製）
- カラム : CAPCELL PAK C₁₈ MG II（0.25 mmI.D.×150 mm，粒子径 5 μm，株式会社大阪ソーダ社製，以下，MG II と略記する）
- L-column3 C18（0.25 mmI.D.×150 mm，粒子径 5 μm，一般財団法人化学物質評価研究機構製，以下，L-3 と略記

- する）
- ガードカラム : L-column3 C18 カートリッジ式ガードカラム（4.6 mmI.D.×10 mm）
- カラム温度 : 40 °C
- 移動相 : Table1 参照
- 流速 : 1.0 mL/min
- 注入量 : 10 μL
- 検出波長 : 210 nm（リファレンス波長 : 360 nm）
- 試料 : エフェドリン類及び l-ノルプソイドエフェドリンの濃度がそれぞれ 100 mg/L，メタノールが 40 %v/v となるよう調製したものを試料とした。

Table1 Condition of mobile phase	
pH	2.6 - 6.9
Organic solvent	Methanol, Acetonitrile
Buffer	Phosphoric acid
	Formic acid
	Acetic acid
Buffer concentration (mM)	10 - 100
Organic solvent concentration(%v/v)	5 - 40
LC mode	Isocratic

また，ガードカラムは L-3 にのみ使用した。なお，以降の実験において，カラム温度，流速，注入量及び検出波長は上記の値ですべて統一した。

2.2.2 試料濃度変化に伴うピーク形状変化の確認

2.2.1 での検討結果を元に，下記の条件において，エフェドリン類の濃度変化によるピーク形状の変化を観察した。

- 分析装置 : HPLC LC-20A システム（島津製作所製）
- カラム : MG II，L-3
- 移動相 : いずれも緩衝液濃度は 25mM
- リン酸緩衝液（pH2.6）：アセトニトリル = 96 : 4
- リン酸緩衝液（pH6.9）：メタノール = 90 : 10
- 試料 : エフェドリン類の濃度がそれぞれ 25 mg/L から 500 mg/L までの範囲で水溶液を複数点調製した。

2.2.3 内標準物質の検討

内標準物質として，エチレフリン及び 2-フェニルエチルアミンが利用可能か検討した。

- 分析装置 : HPLC LC-20A システム（島津製作所製）
- カラム : L-3
- ガードカラム : L-column3 C18 カートリッジ式ガードカラム
- 移動相 : 25mM リン酸緩衝液(pH6.9) : メタノール = 90 : 10
- 試料 : 内標準物質及びエフェドリン類の組成が Table2 となるよう調製したものを試料とした。

Table2 Composition of sample solutions

	Sample A(mg/L)	Sample B(mg/L)
Etilefrine	100	
2-Phenylethylamine		100
Ephedrine (EP)	100	100
Pseudoephedrine (PEP)	100	100
Methylephedrine (MEP)	100	100
Norephedrine (NEP)	100	100

2.2.4 市販薬中のプソイドエフェドリン及びメチルエフェドリンの定量

2.2.4.1 検量線の作成及び直線性の確認

プソイドエフェドリン塩酸塩 122 mg 及びメチルエフェドリン塩酸塩 120 mg を量り採り、それぞれ超純水で 100 mL に定容した。この溶液から 5, 15 及び 25 mL をそれぞれ 50 mL メスフラスコに採り、内標準物質の 1 mg/mL エチレフリン水溶液を終濃度 100 mg/L になるよう加え、それぞれ超純水で定容したものを試料とした。この試料を下記の条件にて測定(n=3)し、検量線を作成した。

分析装置 : HPLC 1200 G1311A (Agilent Technologies 社製)

その他の条件については、2.2.3 と同様。

2.2.4.2 市販薬の定量測定

市販薬を錠剤は 2 錠、カプセルは 2 つ、散剤は 2 包ずつそれぞれ計量した。計量した錠剤は乳鉢により粉末状にすり潰し、カプセルは内容物のみを、散剤はそのまま、それぞれメスフラスコ内に入れて再度重量を測定した。これらのメスフラスコに内標準液を正確に加え、エフェドリン類の濃度がそれぞれ Table3 に示す値になるよう一定量に定容したものを、0.45 μ m フィルタを用いてろ過し、試料とした。市販薬に関するその他の詳細については Table3 のとおり。市販薬ごとに試料は 3 検体用意した。

移動相 A : 25mM リン酸緩衝液(pH6.9) : メタノール = 90 : 10

移動相 B : 25mM リン酸緩衝液(pH6.9)

移動相 C : メタノール

グラジエント : Table4-6 参照

その他分析条件については 2.2.4.1 と同様。

Table3 Preparation of nonprescription medicine samples

Medicine	A	B	C
Shape	Tablet	Capsule	Granules
Volume of volumetric flask (mL)	200	100	100
Internal standard volume(mL)	20	10	10
Kind of ephedrine	PEP	MEP	MEP
Concentration of Ephedrin's analogs(mg/L)	185	249	166

Table4 Gradient time table of medicine A

Time(min)	A(%)	B(%)	C(%)
0	100	0	0
12	100	0	0
13	0	40	60
18	0	40	60
19	100	0	0
32	100	0	0

Table5 Gradient time table of medicine B

Time(min)	A(%)	B(%)	C(%)
0	100	0	0
14.5	100	0	0
15	0	40	60
22	0	40	60
23	100	0	0
35	100	0	0

Table6 Gradient time table of medicine C

Time(min)	A(%)	B(%)	C(%)
0	100	0	0
14.5	100	0	0
15	0	40	60
22	0	40	60
23	100	0	0
32	100	0	0

3. 結果及び考察

3.1 移動相条件の検討

2.2.1 の移動相条件の検討結果を Table7 に示す。ただし、有機溶媒比率が 15%以上の条件については、すべての分離度が 1.5 を超える条件が得られなかったため、表記を割愛する。

Table7 Separation of EP, PEP, NEP, MEP and *l*-Norpseudoephedrine(*l*-NPE) for each condition

Column	pH	Buffer	Organic solvent	Buffer concentration [mM]	Organic solvent concentration [%v/v]	
					10	5
MGII	2.6	Phosphoric acid (Cation:Na)	Methanol	100		
				50		
				25		
				10		
		Acetonitrile		100		
				50		
				25		
				10		
		Phosphoric acid (Cation:K)	Acetonitrile	100		
				50		
				25		
				10		
	3.0	Formic acid	Methanol	50		
			Acetonitrile	50		
	4.0	Acetic acid	Methanol	50		
			Acetonitrile	50		
	5.5	Acetic acid	Methanol	50		
			Acetonitrile	50		
L-3	6.9	Phosphoric acid (Cation:Na)	Methanol	100		
				50		
				25		
				20		
				10		
		Acetonitrile		100		
				50		
				25		
				20		
				10		
	6.9	Phosphoric acid (Cation:K)	Methanol	25		
				50		
				25		
				50		
L-3	2.6	Phosphoric acid (Cation:K)	Methanol	50		
			Acetonitrile	50		
			Acetonitrile	25		
	3.0	Formic acid	Methanol	50		
			Acetonitrile	50		
	4.0	Acetic acid	Methanol	50		
			Acetonitrile	50		
	5.5	Acetic acid	Methanol	50		
			Acetonitrile	50		
	6.9	Phosphoric acid (Cation:K)	Methanol	50		
			Acetonitrile	50		

Legend	Unmeasured
	Including the separation of less than 1.5
	All separations are more than 1.5

なお、分離度 R は 2 つのピークの分離の程度を表す尺度であり、JIS K 0124 では次式で定義され³⁾、分離度が 1.5 以上であれば、二つのピークが完全に分離したと見なされる。

$$R = 0.118 * (t_{R2} - t_{R1}) / (W_{0.5h1} + W_{0.5h2})$$

t_{R1} : 1 番目のピークの保持時間

t_{R2} : 2 番目のピークの保持時間

$W_{0.5h1}$: 1 番目のピークの半値幅

$W_{0.5h2}$: 2 番目のピークの半値幅

Table7 中の橙色の条件では、分離度が 1.5 以上で良好に分離した。また、これらの条件において、試料はノルエフェドリン、*l*-ノルプソイドエフェドリン、エフェドリン、プソイドエフェドリン、メチルエフェドリンの順で溶出した。なお、リン酸緩衝液調製時のナトリウム塩及びカリウム塩の違いによる、測定結果の明確な差異は認められなかった。カリウム塩はナトリウム塩に比べて有機溶媒と水の混合液に溶けやすいという利点がある⁴⁾ため、3.2 以降の実験ではリン酸緩衝液調製時にカリウム塩を使用した。

3.1.1 有機溶媒種毎の pH 変化に伴う分離度への影響

緩衝液の pH 変化に伴う、分離度の変化を Fig.1 に示す。有機溶媒にメタノールを使用した場合、いずれのカラムでも pH2.6-5.5 の範囲でプソイドエフェドリン及びメチルエフェドリンの分離度が 1.5 を下回ったが、pH6.9 ではすべての分離度が 3 を超えた。一方で、有機溶媒にアセトニトリルを使用した場合、いずれのカラムでも pH2.6 ではすべての分離度が 1.5 を超えた。

この結果から、以降の実験では有機溶媒にメタノールを使用する場合、緩衝液は pH6.9 とし、有機溶媒にアセトニトリルを使用する場合、緩衝液は pH2.6 とした。

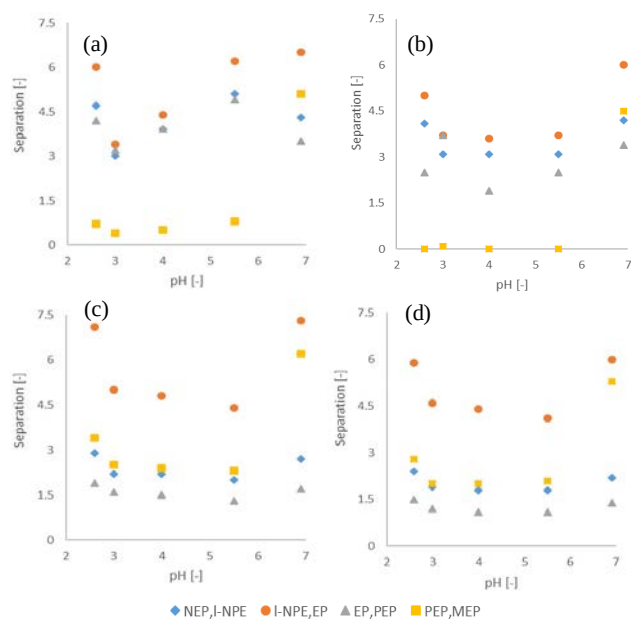


Fig.1 Relationship between pH and separation

50mM Buffer : Organic solvent = 95 : 5

(a) MG II Methanol, (b) L-3 Methanol, (c) MG II Acetonitrile, (d) L-3 Acetonitrile

3.1.2 有機溶媒比率変化に伴う分離度の比較

緩衝液中の有機溶媒比率変化に伴う分離度の変化を Fig.2 に示す。いずれの条件においても L-3 に比べて MG II の方が分離度は高かった。pH6.9 の緩衝液とメタノールの組み合わせでは、どちらのカラムでもすべての分離度が 1.5 を超え、良好な分離が確認できた。一方で、pH2.6 の緩衝液とアセトニトリルの組み合わせでは、アセトニトリルが 5 %v/v の場合、エフェドリン及びプソイドエフェドリンの分離度が 2 を下回り、10 %v/v の場合、分離されなかった。

したがって、有機溶媒にメタノールを使用する場合、その緩衝液中の有機溶媒比率は 10 %v/v 以下、アセトニトリルを使用する場合、5 %v/v 以下が適切であると考えられる。

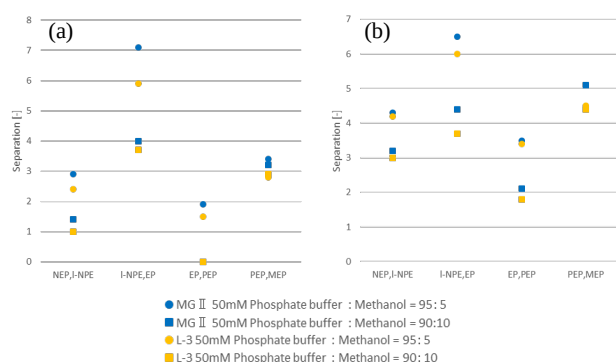


Fig.2 Each separation in 2columns

(a) pH2.6, (b) pH6.9

3.1.3 緩衝液濃度の検討

3.1.2 で結果の良好であった MG II にて、リン酸緩衝液濃度に対するエフェドリン及びプソイドエフェドリンの分離度の変化を観察した。その結果を Fig.3 に示す。25mM 以上の緩衝液濃度ではエフェドリン及びプソイドエフェドリン間の分離度の明らかな変化は見られなかった。また、逆相条件における塩濃度の推奨範囲は 10-50mM とされており、高塩濃度の場合、緩衝液が有機溶媒と混合した際に、塩が析出する危険性がある⁵⁾。以上のことを考慮し、緩衝液濃度を 25mM に決定した。

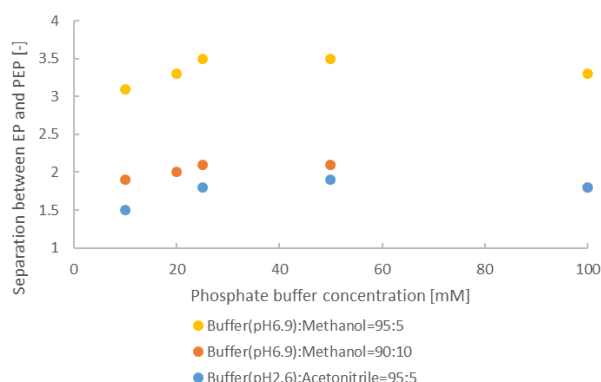


Fig.3 Relationship between buffer concentration and separation in MG II

3.2 試料濃度変化に伴うピーク形状変化の確認

定量の際、リーディングやテーリングにより、ピーク形状が歪になると正確な定量を行うことができない。そこで、ピークの対称性を示す指標であるシンメトリ係数を用いて、試料濃度変化に伴うピーク形状の変化を確認した。なお、ノルブソイドエフェドリンは量規制がされていないため、エフェドリン、プソイドエフェドリン、メチルエフェドリン及びノルエフェドリンについて実験を行った。2.2.2 の実験による、各エフェドリン類の試料濃度変化に伴う、ピークのシンメトリ係数の変化を Fig.4 に示す。

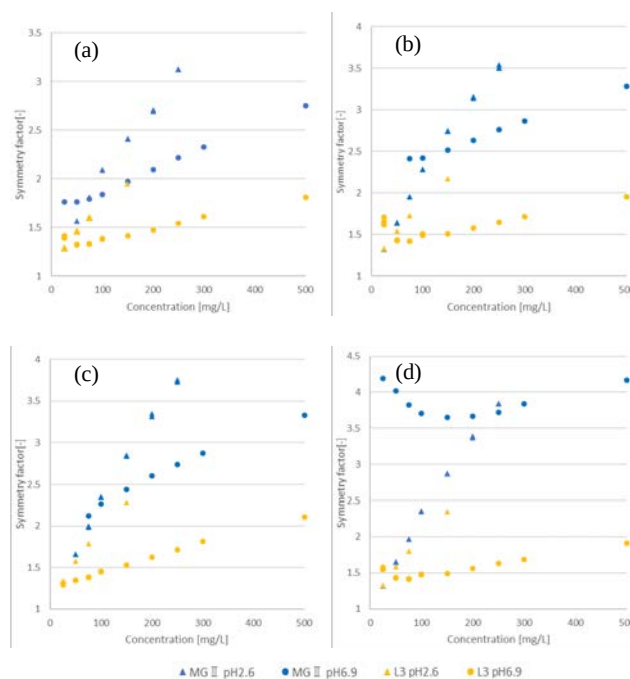


Fig.4 Symmetry factor of EP and its analogues.

(a)NEP, (b)EP, (c)PEP, (d)MEP

シンメトリ係数はピークの対称性を数値化したものであり、JIS K 0124 では次式で定義される³⁾。

$$S = W_{0.05h}/2f$$

$W_{0.05h}$ はピークのベースラインからピーク高さの 1/20 の高さまでのピーク幅であり、 f は $W_{0.05h}$ のピーク幅をピーク頂点から横軸へおろした垂線で二分したときのピークの立ち上がり側の距離である。シンメトリ係数が $S < 1$ ならばピークがリーディング、 $S > 1$ ならばピークがテーリングしていることを表す。今回の測定条件において、シンメトリ係数はすべて $S > 1$ となった。一般的に、ODS カラムと中性移動相を使用した場合、カラムの残存シラノール基が解離し、塩基性化合物との間に、不均一なイオン交換相互作用がはたらき、ピークがテーリングすることが知られており、今回の測定でも、この作用がはたらいたと考えられる⁶⁾。

今回の分離条件では、L-3 (pH6.9) がエフェドリン類のいずれにおいても、濃度の上昇に伴うピーク形状の変化が最も小さかった。また、pH6.9 の条件下では、L-3 は試料濃度 500 mg/L でもすべての分離度が 1.5 を下回ることがなく (Fig.5)、MG II と比較すると、いずれの試料濃度でもシンメトリ係数が 1 に近い値を示した。この要因としては、L-3 に残存シラノールが中性条件下でより解離しにくい処理が施されている可能性が考えられる⁷⁾。したがって、カラムは L-3 を使用することとした。

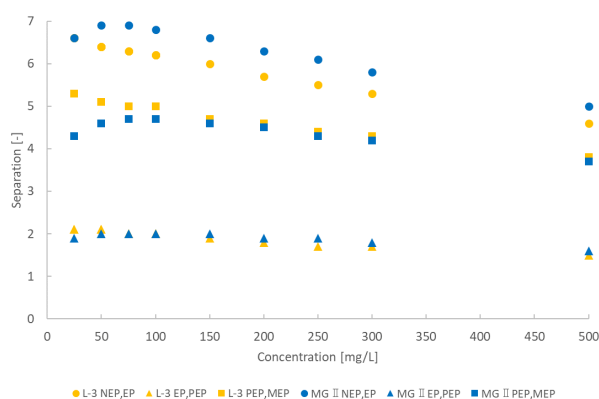


Fig.5 Change of the separation for the concentration of EP and its analogs

3.1 及び 3.2 の結果から、エフェドリン類の定量分析に最適な分離条件を、下記の条件に決定した。

カラム : L-3

ガードカラム : L-column3 C18 カートリッジ式ガードカラム

移動相 : 25mM リン酸緩衝液(pH6.9) : メタノール = 90 : 10

カラム温度 : 40 °C

流速 : 1.0 mL/min

注入量 : 10 µL

検出波長 : 210 nm (リファレンス波長 : 360 nm)

この条件では、移動相の pH が中性付近であることから、酸性や塩基性条件に比べてカラムへの負荷が低く、また、有機溶媒にメタノールを使用しており、メタノールはアセトニトリルに比べて廉価で、かつ安定的にメーカーにより供給されるなどの利点が挙げられる。

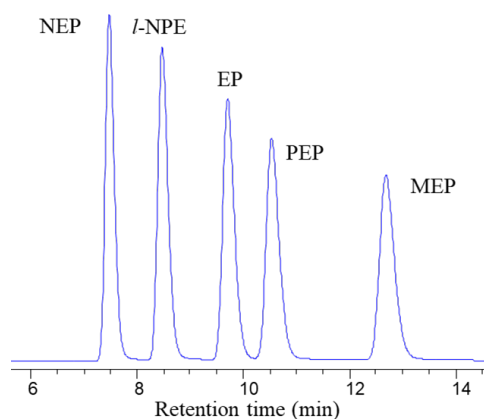


Fig.6 HPLC chromatograms of EP, PEP, NEP, MEP and l-NPE in an ideal condition

3.3 内標準物質の検討

3.2 で決定した分析条件下において、エフェドリン類 4 種に、エチレフリンを添加した Sample A、及び 2-フェニルエチルアミンを添加した Sample B をそれぞれ測定した。そのクロマトグラムを Fig.7 に示す。エチレフリンはノルエフェドリンよりも約 4 分早く

溶出し、4 種すべてのエフェドリン類と保持時間が重ならないことが確認できた。一方で、2-フェニルエチルアミンはノルエフェドリンとピークが重なり、ノルエフェドリンを含有する試料の分析において、内標準物質として利用できないことが分かった。したがって、本研究ではエチレフリンを内標準物質として、検量線の作成及び回収率の確認を行った。

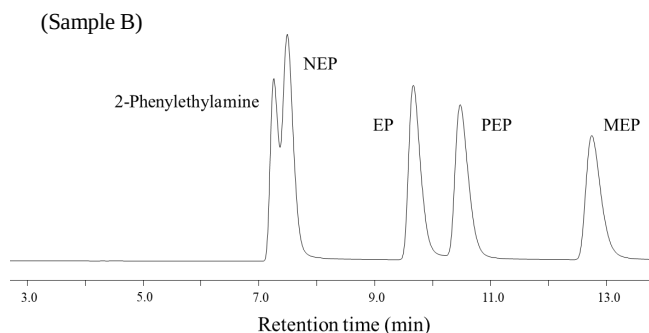
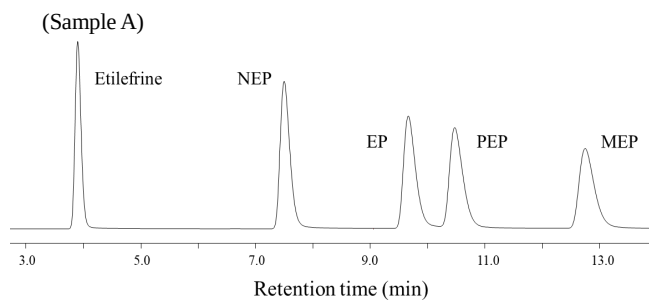


Fig.7 HPLC chromatograms of EP, its analogs and internal standard substances

3.4 市販薬中のプソイドエフェドリン及びメチルエフェドリンの定量

3.4.1 検量線の作成

得られた検量線、回帰式及び相関係数を Fig.8 に示す。プソイドエフェドリン及びメチルエフェドリン共に相関係数は 0.999 以上であり、今回測定した濃度範囲において、直線性に問題ないことが確認できた。

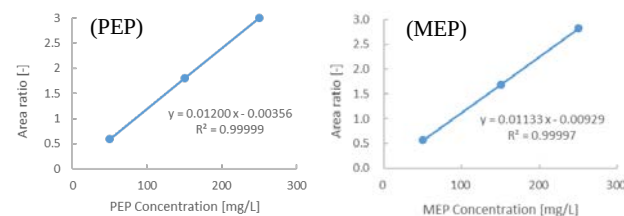


Fig.8 Calibration curve of PEP and MEP

3.4.2 市販薬の定量測定

薬中成分のうち、測定対象であるエフェドリン類の溶出後に溶出する成分については、Table4-6 の様にグラジエント法を利用す

ることで、溶出を早め、測定時間を 20 - 100 分程度短縮した。

3.4.1 で得られた検量線を元に、市販薬中のエフェドリン類の濃度を求めた。得られた結果を Table 8 に示す。

医薬品 A には塩酸ブソイドエフェドリン 45 mg (1/2 錠)、医薬品 B 及び医薬品 C にはメチルエフェドリン塩酸塩がそれぞれ 60 mg (1/4 カプセル)、40 mg (1/4 包) 含有していることが製品パッケージに記載されている。この数値を元に、各製品の測定平均値から回収率を求めたところ、医薬品 A では 99%、医薬品 B では 100%、医薬品 C では 101%と高い回収率が得られた。各検体の相対標準偏差はすべて 0.5 未満となり、再現性が十分にあり安定的な結果が得られた。

Table8 Quantitative results

Medicine	A [1/2 tablets]	B [1/2 capsules]	C [1/2 granules]
Mean (SD) [mg/L]			
1 (n = 3)	180 (0.0)	248 (0.0)	172 (0.0)
2 (n = 3)	182 (0.0)	248 (0.0)	171 (0.0)
3 (n = 3)	181 (0.0)	250 (0.0)	171 (0.0)
Mean [mg/L]	181	249	171
R.S.D [%]	0.41	0.45	0.47

今回検討した最適条件にて、市販薬中に含有されるブソイドエフェドリン及びメチルエフェドリンを精度よく定量できた。一方で、エフェドリン及びノルエフェドリンについては含有量が明記された市販薬が入手できず、検証することができなかった。

今後の課題として、添加回収試験や現行の分析法との比較などにより、今回検討した条件でのエフェドリン類のより精度の高い定量の検証を行う必要がある。

以下に今回検討した最適条件を次に示す。

カラム : L-column3 C18 (0.25 mmI.D.×150 mm, 粒子径 5 µm)

ガードカラム : L-column3 C18 カートリッジ式ガードカラム

(4.6 mmI.D.×10 mm)

カラム温度 : 40 °C

移動相 : 25mM リン酸緩衝液 (pH6.9) : メタノール = 90 : 10

流速 : 1.0 mL/min

注入量 : 10 µL

検出波長 : 210 nm (リファレンス波長 : 360 nm)

内標準物質 : エチレフリン

4. 要 約

HPLC を用いた逆相クロマトグラフィーによるエフェドリン類の定量分析法では、移動相にイオンペア試薬を添加するため、ベースラインの安定化を含む分析に要する時間が長く、また、一度使用したイオンペア試薬をカラムから完全に除去することが困難であるなどの運用上の課題がある。そこで、酸性又は中性条件下で、移動相にイオンペア試薬を添加せずに塩基性化合物を分析可能なカラムによる、エフェドリン及びその類似物質に適用可能な定量分析法を検討した。カラム 2 種類、有機溶媒 2 種類を用いて、緩衝液 3 種類を pH2.6 - 6.9 の範囲で、エフェドリン及びその類似物質計 5 物質を、共通の移動相で分離できる条件を検討した。その結果、カラムに L-column3 C18 (0.25 mmI.D.×150 mm, 粒子径 5 µm)、移動相に 25mM リン酸緩衝液 (pH6.9) とメタノールを使用した分析条件により、エフェドリン類の良好な分離が可能であった。また、同条件にて内標準物質としてエチレフリンを使用することで、3 種類の市販薬に含まれるブソイドエフェドリン及びメチルエフェドリンを定量し、各市販薬の表示含有量の 99～101%という結果を得た。

文 献

- 1) 唯是稔, 岡崎龍介, 石川順一, 樋野千寿, 寺内豊, 笹川邦雄 : 関税中央分析所所報, **41**, 55 (2001)
- 2) 一般財団法人 化学物質評価研究機構. “LC Technical Report Vol.06 2008 年 1 号”. 一般財団法人 化学物質評価研究機構.
https://www.cerij.or.jp/service/09_chromatography/technical_report/technical_report_06.pdf, (参照 2021-6-10)
- 3) JIS K 0124, 高速液体クロマトグラフィー通則 (2011)
- 4) 中村洋 : “液クロの巻”, P80(2003), (筑波出版会)
- 5) 中村洋 : “液クロの巻”, P81(2003), (筑波出版会)
- 6) 中村洋 : “液クロ武の巻”, P54(2005), (筑波出版会)
- 7) 一般財団法人 化学物質評価研究機構. “製品情報”. 一般財団法人 化学物質評価研究機構
https://www.cerij.or.jp/service/09_chromatography/L-column3_01.html, (参照 2021-6-10)