

## ノート

# トリフルオロアセテル(TFA)化及びトリメチルケイ素(TMS)化による微量成分のガスクロマトグラフ

松井 清

税表分類上主要な意義のある糖成分、麻薬のコデイン医薬品のアドレナリンについて迅速な分離同定法を調査した。前処理を行った試料を TMS 化又は TFA 化した数分後にガスクロマトグラフ (GC) にかけて分離、同定した。有機分析に於てはその速度、簡易性、再現性、分離能の点で GC は優れていると思われる。この結果 ECD では 0.4nanogram ( $10^{-9}$ ) のアドレナリン FID では 8microgram ( $10^{-6}$ ) のコデインを検出した。

### 試 薬

#### 装 置

分離カラム（低液層カラム）

#### 反 応

実施例 1. 輸入はちみつ

2. コデイン

3. アドレナリン

### 試 薬；

トリフルオロ無水醋酸 ( $(F_3CCO_2)_2O$  TFAA)

ヘキサメチルジシラザン ( $(CH_3)_3 - Si - NH - Si -$

$(CH_3)_3$  HMDS

トリメチルクロルシリラン ( $(CH_3)_3 - Si - Cl$  TMCS)

ビス(トリメチルシリル)アセトアミド BSA

$CH_3 - C - O - Si - (CH_3)_3$

$N - Si - (CH_3)_3$

ジメチルジクロルシリラン( $(CH_3)_2 - Si - Cl_2$  DMDS)

### 装 置；

島津ガスクロマトグラフ GC1B

島津ガスクロマトグラフ GC1C

水素焰イオン化検出器 (FID)

エレクトロンキヤツプチヤー検出器 (ECD)

U 字型ガラス管カラム 4mm × 1875mm

金属ナトリウム押出装置

### 分離カラム；

Methods of Biochemical Analysis

(Interscience) P.80 記載の方法に従って

分離カラムを作る。

(1) 酸処理；担体を共栓三角コルベンに入れ、1 級

HCl を加えて上澄傾斜法により数回洗滌を行う。

HCl 層の黄色が薄くなれば、蒸溜水で Cl イオンのなくなる迄洗滌し、次にメタノールで洗滌、80 度で乾燥する。

(2) シラン処理；乾燥担体 (60~80 メッシュ)

100ml を 300ml の吸引びんに入れ、

DMDS 4ml トルオール 120ml 混液を直ちに注入して栓をする。次いで数回吸引ポンプにより吸引を行なって担体粒子内に残る空気を吸引する。そのまま 10 分間放置、場合によっては湯せん上で加熱し、濾別する。トルエン及乾燥メタノールで 3 回洗滌する。風乾後更に 80 度で乾燥する。

(3) 固定相液体処理；シラナイズした担体をビーカーに入れ担体重量に対して計算量の固定相液体をエーテル溶液として加える。ビーカーは時々ゆるやかに攪拌してエーテルを風乾し、減圧乾燥、加熱乾燥を行う。

(4) 充填；ガラスカラムは石鹼水、硝酸、水で充洗したのち、アセトンで乾燥後 DMDS で数分シリル化を行い更に乾燥後常法により充填を行う。

### 反 応；

目的成分を溶媒抽出及びイオン交換カラムを通して出来るだけ防害成分を分離したフラクションに分ける。次いで各クラクション毎にミクロコルベンに入れて湯煎上で注意しつロータリーエバポレートを行った。乾涸したコルベンはデシケーター中で真空ポンプにより乾燥する。

TFA 化、試料 0.1mg

ナトリウム乾燥テトラヒドロフラン THF 0.2ml

TFAA 0.05ml

ミクロコルベン中で上記に近い割合で混合し速かに密

### トリフルオロアセチル (TFA) 化及びトリメチルケイ素(TMS)化による微量成分のガスクロマトグラフ

栓し 5 分乃至 20 分間放置必要ならば 40 度位の湯浴中で振とうする。反応の終点は溶媒が透明になった事により見分けるが、ナノグラムオーダーの試料では目測出来る量について予試験を行なって定めた時間を反応時間とする。GC 注入の際希釈溶媒はノルマルヘキサン、アセトニトリルである。猶本試薬の取扱はドラフトで行う事が望ましい。

#### TMS 化

試 料	0.1mg
THF, CH <sub>3</sub> CN, ピリジン又はジオキサン	
0.7ml (溶媒)	
ジメチルスルホキサイド, 又は TMCS	
0.1ml (触媒)	
BSA, 又は HMDS	0.2ml (反応剤)
BSA の場合は触媒は不要である。	

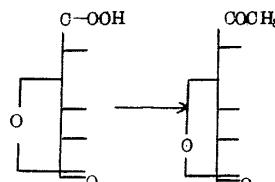
ミクロコルベン中で上記に近い割合で混合し、速かに密栓し 5 分乃至 20 分間放置、必要ならば 80 度位の湯浴中で振とうする。このまゝ注入してもよい。

TMS 体をクロロホルムに溶解し、氷水を加えて分液すると TMS 体は抽出される。

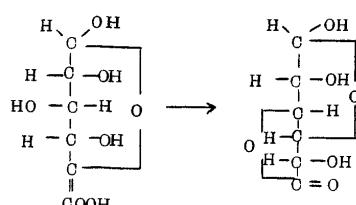
TMS 体を含むクロロホルム層を脱水芒硝で遠心分離乾燥を行いクロロホルム層をエバボレートする。この濃縮試料を使うと高感度に GC チャートを得るが、更にケトンと混合してシフベースにすると保持時間をのばす事が可能である。

メチルエステル化 -COOH 基を有する化合物は TMS 化されるが、メチル化すると保持時間が短縮される。

#### メチルエステル化



#### ラクトン化



Glucaro - 6 - 3 - Lactone は試料を乾燥メタノールに溶かし。ドラフト中でデアゾメタンエーテル溶液を加える。液の黄色がもやは消失せず、泡が出なくなる迄振とうし、evapolate した。

#### ラクトン化

Glucuron Acid のような -COOH と -OH 基を有する化合物では冰醋酸と油浴上で加熱約 30 分で Glucurono (6 - 3) 除去 lacton になる。冰醋では 体と 体の一方が出来る。これは -OH を TFA 化又は TMS 化によって GC で確認される。アルデヒド・ケトンの還元 氷冷しつつ KBH<sub>4</sub>を加え 30 分放置後 HCl で過剰の KBH<sub>4</sub>を中和する。NaBH<sub>4</sub>ではケトンも -OH 迄還元される。

#### 1. 輸入はちみつの GC 第一図

GC1 - C 5%DC550 R4 × 10<sup>2</sup>

CT (カラム温度) 90 度

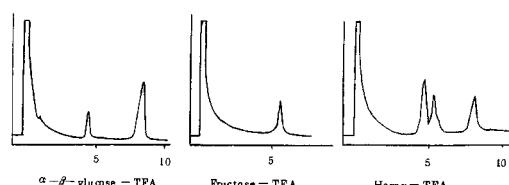
DT (検出器温度) 120 度

IP (注入口温度) 150 度

N<sub>2</sub>ガス 0.8kg / cm<sup>2</sup> FID

試料 1 滴をミクロコルベンに入れ乾燥。THF, TFAA を適量加え 40 ~ 50 度に 5 分間加温、GC に注入した及び 葡萄糖と果糖が同定された。

第一図 41 - 7 - 8 5%DC550



松井清

## 2 ヨデインのG C 第二図

## GC1B 2% SE52 on GASCHRON P

R0.4 × 10<sup>2</sup>

CT 190 °

DT 200 °

IP 210 °

$N_2$  1.9 kg / c m<sup>2</sup> 30cc / min

$H_2$  110cc / min 0.6kg / c m<sup>2</sup>

Air 0.9l/min FID

保持時間 遊離ヨデイン 16.5 分

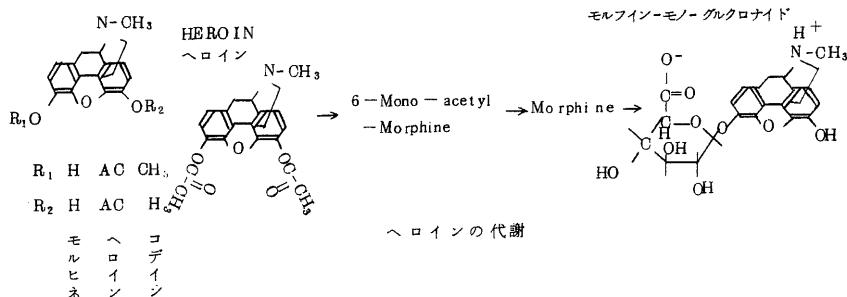
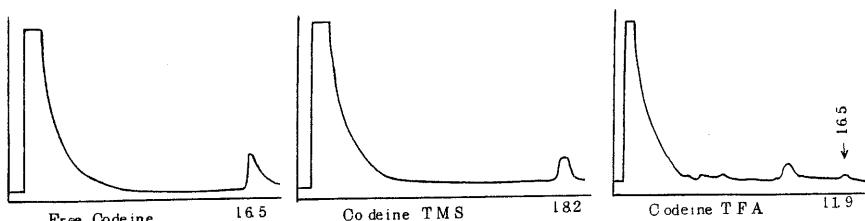
ヨデイン TMS 18.2 分

第二図に於ける注入量はコデイン 8 ガンマーである  
現在ヘロインは医薬品としては抹殺されて居り、かつ  
モルヒネ類は麻薬研究者の資格がないと取扱えない故  
構造式の類似した（第二図下表）コデインについて  
GC を行なった。100 倍散磷酸コデインからベース  
の抽出は日本薬局方記載に従ってクロロホルムで抽出、  
抽出物をエバペレートした残渣 0.5mg について TFA 化  
及び TMS 化を行った。麻薬取締法で重要なヘロイン  
は生体内に入ると速かに 3 の位置のアセチル基を失

なって 6 - mono - acetyl - morphine となり  
このものが容易に blood - brain - barrie を通  
して神経細胞に達し、そこで更にアセチル基を失なっ  
てモルフィンとなって作用する。その後は 3 位の OH  
基にグルクロン酸が抱合してきて、morphine - 3 -  
monoglucuronide となる。これは鎮痛作用のない  
水溶性のもので、尿中にはこの形で排泄されその割合  
は投与量の 50% 以上を占める。ヘロインの一回量は  
平均 20 ~ 50mg 程度と云われてあり、それ等は 24  
時間以内に排泄されるから、尿中麻薬の GC による  
検出は可能である。但し吉村、朝比奈らの抽出法を  
正確に行わねばならない。

尿  $\downarrow$  1 / 10 量の HCl を加え、水浴中で 30 分間加熱  
 冷後 NaOH アルカリ性でクロロホルムによる抽出。  
 $\downarrow$  水層塩酸酸性とし、 $\text{NaHCO}_3$  饱和後アンモニア  
 $\text{CHCl}_3$   $\downarrow$  アルカリ性  $\text{CHCl}_3$  . イソプロパノール  
 $\downarrow$  (3 : 1) で抽出  
 $\text{CHCl}_3$  . イソプロパノール混液は溜去してモルヒ  
 ネの検出を行う。

## 第二図 42-1-13 2% SE52



## トリフルオロアセチル(TFA)化及びトリメチルケイ素(TMS)化による微量成分のガスクロマトグラフ

## 3. アドレナリンのGC 第三図

GC1 - C 2% CNSi ガラスカラム  
 CT 170° on - Calum 注入  
 DT 180° Range 0.2 ~ 1.6 × 10<sup>2</sup>  
 IP 180°

N<sub>2</sub>gas 0.8kg / cm<sup>2</sup> ECD 10V 反応常温 5分

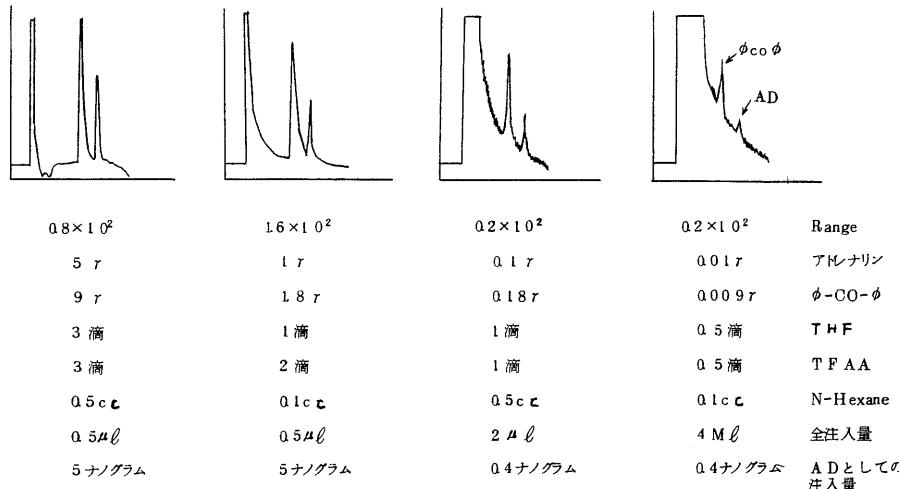
前処理は日本内分泌学雑誌 33 . 932 ( 1958 ) 記載の方法により 0.2N 酢酸で溶出する。此の場合注意すべき点は

- (1) Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> は使用前に更に活性化しておく事。
- (2) Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> は pH が 5~6 になった時加えた。
- (3) pH7 で特に激しく振とうする。
- (4) EDTA は同じ試料についてキレート滴定法により消費される量を測定しておきその量だけ試

料に加える ( 指示薬 Black.T. )

(5) 0.2N 酢酸で溶出する前に pH8.0 の H<sub>2</sub>O でよく水洗する事( これはアルミナに吸着したカテコール以外の成分を洗滌して TFA 反応の妨害を防ぐ ) 溶出液のモデル試料について GC を行なったものが第三図である。此の様なシャープな ECD の検出チャートはガラスカラムでないと得られない。なお反応液は一分間乾燥空気を通じて TFAA を揮発させた。この調査・実験は東京大学薬品分析学教授田村教室の今成助手、河合氏の御指導によった。又税関分析技術向上の為、今回の研修に御理解いたゞいた東京税関鑑査部長、井上課長、浮田補佐及分析室諸氏にも御協力を謝します。

第三図 41 - 10 - 20.212% CNSi



Micro Analysis of Trimethyl Silyl or Trifluoroacetyl derivatives by Gas chromatography.

K. MATSUI

Higashi-shinagawa Shinagawaku Tokyo  
 Tokyo Customs Laboratory