局所麻酔剤の微量分析法 (I) ガスクロマトグラフィーによる分離

浜田 昭, 星野 乙松, 丹沢 珪子, 浮田忠之進
(東京大学薬学部, 衛生裁判化学教室*)

Microanalysis of Local Anesthetics (I) Separation by Gas Chromatography

Akira Hamada, Otomatsu Hoshino, Keiko Tanzawa and Tyunosin Ukita
(Faculty of Pharmaceutical Sciences University of Tokyo*)

The gas chromatographic analyses of 11 local anesthetics, meprylcaine, hexylcaine, anesthesin, procaine, tutocaine, cornecaine, tetracaine, lidocaine, carbocaine, dibucaine, and cocaine, in the form of free bases, are described. Microgram samples, in ethanol solvent, are subjected to separation in the argon gas chromatography with a column containing 1 % SE-30, 1 % Fs-1265 or Thermol-Q as the stationary phase. The best separation was generally obtained by using the column of Thermol-Q.

(Received August 27, 1963)

臨床各科の手術などの際に、局所麻酔剤が使用されるが、その手術時に事故が起こることが往々にしてある。これら事故の場合には麻酔剤の注射部位、血液、脳脊髄液、尿などから使用した局所麻酔剤の微量検索を行わなければならない。従来はこれら生体組織中よりの麻酔剤の微量検出法として、検液のアルカリ性水溶液をエーテル抽出し、その抽出されてくる画分について呈色反応および沈澱反応、または種々の結晶を作らせてその結晶を検査するなどの煩雑な操作を行なってきた。紫外外部吸収スペクトルは吸収をもつものに対しては有用な手段であり、よく用いられているが、検体が混合物である場合には、その使用には重大な制約がある。近年はこれら局所麻酔剤の検索にペーパークロマトグラフィーや汙紙上電気泳動などを行なって各成分を分離し、各種呈色試薬による発色およびその移動度から同定したり、さらに汙紙から分離したスポットを溶出して検討を加えるようになってきている。しかしこれらの方法にも溶媒や試薬の選択などのむずかしい問題が含まれており、定性確認の方法としては必ずしも十分であるとはいえない。定量試験については比色法、紫外外部吸光度測定法などが用いられているが、いまだ十分満足すべき方法はない。

最近3ヵ年間著者の教室で取扱った局所麻酔剤によ

る事故例は8例にもおよび、いずれも試料中の麻酔剤の含量はきわめて微量のため、局所麻酔剤が微量の場合の迅速なる定性、定量法の確立が望まれていた。

最近生体組織中の異常成分の検索の手段としてガスクロマトグラフィーが用いられるようになり、特に非揮発性物質のガスクロマトグラフによる分析の進歩は目覚ましく、その医薬品分析への応用に関する報告も多くなってきた¹⁾。局所麻酔剤についてもその1~2のものについては最近報告されているが²⁾、種々の局所麻酔剤について系統的に行なった例はない。著者らは局所麻酔剤のうち、比較的手に入り易く、またよく用いられていると思われるものを選んで、ガスクロマトグラフによる検査法の確立を目的にこれを試験し、若干の知見を得たので報告する。

局所麻酔剤は大きく分類すると、安息香酸エステル類、パラアミノ安息香酸エステル類、アニリン誘導体、キノリン誘導体、コカイン類およびその他に分けられる。今回試験に用いた局所麻酔剤は Table I に示してある11種のもので、塩を形成しているものはその水溶液をアルカリ性でエーテル抽出し、遊離型にしたのちに、エタノールに1%を溶解して装置に注入した。用いたカラムはSE-30(1%), Fs-1265(1%)およびThermol-Qである。各サンプルを種々のカラムでガスクロマトグラフィーにかけた場合の条件および相対保持時間を Table II に示す。

* 東京都文京区本富士町1; Motofuji-cho, Bunkyo-ku, Tokyo.

Table I Local Anesthetics Tested

Table II Relative Retention Time of Local Anesthetics Studied on Various Columns*

Column	SE-30 ^a	Fs-1265 ^a	Fs-1265 ^b	Thermol-Q			Limit of Detection (μg)
	230°C	230°C	200°C	I	II	III	
	60 ml/min.	120 ml/min.	120 ml/min.	200°C 120 ml/min.	230°C 60 ml/min.	250°C 180 ml/min.	
Anesthesin	0.85	0.48	0.81	0.30	0.40	nr	0.5 } I
Meprylcaine	—	—	0.21	0.44	0.57	nr	
Lidocaine	1.00 (2.30) ^c	1.00 (2.70) ^c	1.00 (4.30) ^c	1.00 (3.70) ^c	1.00 (2.50) ^c	—	
Hexylcaine	—	—	—	1.42	1.29	—	2 } II
Tutocaine	1.96	1.41	4.72	1.75	1.48	—	
Procaine	2.38 ^d	2.15 ^d	5.42	1.81	1.50	—	
Carbocaine	—	—	—	2.06	1.77	—	0.6 } III
Cocaine	2.35	2.02	nr	3.36	2.27	1.00 (1.65) ^c	
Tetracaine	—	—	—	4.15	3.13	1.12	
Cornecaine	—	nr	—	nr	6.23 ^d	1.79	9 } III
Dibucaine	nr	nr	nr	nr	nr	4.90	

a. 1 % coating of the liquid phase on 100 ~ 120 mesh Diasolid L.

b. 1 % coating of the liquid phase on 100 ~ 120 mesh Diasolid A.

c. actual retention time, minutes.

d. main peak.

nr. no response observed.

* column length used ; 150 cm for Thermol-Q, and 100 cm for the others.

SE-30 のカラムでは吸着現象が見られ、あまりよい結果は得られなかった。サンプル量によってピークは移動する。注入サンプル量がアネステジン、リドカインについては $1\mu\text{l}$ 、ツトカイン、プロカインについては $2\mu\text{l}$ 、コカインについては $4\mu\text{l}$ のときの相対保持時間を Table II に示した。

Fs-1265 のカラムの場合、幾分吸着現象は少なくなり、特にリドカインは対称的なピークを与えるようになるが、それ以外のものについては充分満足すべき結果は得られなかった。しかしこの場合カラムの担体を塩基性を持たせた担体になると、非常に良好なガスクロマトグラムが得られた。特に前述した2つのカラムではよい結果が得られなかったプロカインでもこのカラムでは非常にシャープなピークを与えるようになった。このカラムは約半日の使用で次第に老化し、ピークの中が広がっていくが、しかし老化後でも幾分分離能は悪いが、再現性もよく、十分使用することができる。ただしコカインはこのカラムではピークを現わさなかった。

Thermol-Q のカラムは今回試験したカラムの中では最もよく、サンプルの中にはテーリングを示すものもあ

るが、再現性もよく、分離能も高い。保持時間の短いものについては条件 I (Table II), その他は大体条件 II (Table II) に示す条件が適当と思われる。ただしプロカインとツトカインの分離は悪い。これらは前述した Fs-1265 のカラムでは十分に分離されたものである。またアネステジンとメプリルカインは他のカラムの場合とくらべると溶出順序の逆転が起こっていることがわかる。コルネカインとジブカインについてはピークが得られにくく、コルネカインは条件 II で5つくらいピークを与え、どれが主ピークであるかはっきりしないが、条件を強めて条件 III で行なうと、1番あとに現われるピークが主ピークであり、他は混在する不純物によるものであることが判明した。ジブカインはこの条件 III ではじめてピークを与えた。局所麻酔剤の1%アルコール溶液を用いて Thermol-Q カラムにおける検出限度を Table II の最右端の欄に示した。3~5種の混合物についてガスクロマトグラフィーを行ない、得られたチャートを Fig. 1 に示す。Fig. 1 (b) 中矢印はそれらの麻酔剤を記載の条件で行なった場合のピークの位置を示している。

Fig. 1. (a) Separation of a Mixture of Five Local Anesthetics.

1. Anesthesin	2. Meprylcaine
5. Cocaine	6. Hexylcaine

Fig. 1. (b) Separation of a Mixture of Three Local Anesthetics.

3. Lidocaine	4. Procaine
7. Carbocaine	8. Tetracaine

以上述べた結果から明らかなように、ガスクロマトグラフィーは局所麻酔剤の定性試験に十分用い得るばかり

でなく、正確にかつ迅速に、しかも微量で分析できることがわかった。

実験の部

この研究に用いたガスクロマトグラフ装置は大倉理化学研究所製 Sr⁹⁰ による放射線イオン化検出器付 GRT-360 型である。本研究では通常検出器高電圧は 1,400 または 1,600 V, 増幅器感度は 10 MΩ, 記録計感度は 5 × 128 または 5 × 256 mV で行なった。キャリアーガスはアルゴンを用い, 流速は Table II に記載した。カラムはステンレス製, 長さ 100 および 150 cm, 内径 5 mm のものを用い, 充填剤は 1 % SE-30 (GE) または 1 % Fs-1265 (1,000) を担体 Diasolid L (100 ~ 120 mesh)** にコーティングしたもの, 1 % Fs-1265 (1,000) を塩基性担体 Diasolid A (100 ~ 120 mesh)** にコーティングしたもの, および Thermol-Q*** を用いた。

サンプルは市販品を用い, 塩を形成しているもの, および製剤化したものはアルカリ性としてエーテルで抽出し, エーテルを留去し, 残留せる遊離型物質を 1 % エタ

ノール溶液としてその 1 ~ 2 μl を注入した。Fig. 1 はいずれもそれぞれの化合物 0.8 ~ 5 μg のピークである。

Thermol-Q のカラムにおける検出限度の測定条件は検出器高電圧 1,400 V, Amp. 感度 100 MΩ, および記録計感度 5 × 32 mV で, 各サンプルはその単一 1 % エタール溶液を用いてサンプル注入量を加減して注入し, ピークの現われる最少注入量から決定した。

サンプルを入手するに当たり, 種々便宜をはかっていただいた東京大学医学部附属病院薬剤部岩崎由雄氏, 同病院麻酔科大熊佳晴氏に深謝致します。

文 献

- 1) K. D. Parker, P. L. Kirk : *Anal. Chem.*, **33**, 1378 (1961); K. D. Parker, C. R. Fontan, P. L. Kirk : *Ibid.*, **34**, 757 (1962); 増田美保, 池川信夫 : 薬誌, **82**, 1664 (1962).
- 2) K. D. Parker, C. R. Fontan, P. L. Kirk : *Anal. Chem.*, **35**, 356 (1963).

** 日本クロマト工業株式会社製

*** 株式会社島津製作所製

微量拡散法によるエタノールの比色定量法の検討*

小沢 樹夫, 長岡 達, 角野 勝明 (静岡薬科大学**)

Studies on the Determination of Ethanol by Micro-Diffusion Method coupled with Colorimetry.

Tatsuo Ozawa, Satoshi Nagaoka and Katsuaki Sumino

(Sizuoka College of Pharmacy**)

Micro-diffusion analysis coupled with colorimetry has been used as a convenient method for determination of ethanol.

In the present experiment the optical density of the green color of Cr³⁺ formed by oxidation of ethanol with K₂Cr₂O₇-H₂SO₄ was measured at 610 mμ.

Half milliliter of ethanol (0.1 ~ 0.5 % (v/v)) and 1 ml. of K₂Cr₂O₇ solution (1.0 g. of K₂Cr₂O₇ was dissolved in 18.5 N H₂SO₄) were used.

(Received September 23, 1963)

緒 言

エタノールの定量法として Conway unit を用いる微量拡散法¹⁾に準じて, エタノールを重クロム酸カリウム・硫酸で酸化する際の変色を比色定量する方法は, 中村

²⁾, 原田, 佐藤³⁾, 杉森⁴⁾らにより報告されている。ただこれらの報告ではその試薬の調製法, 操作法にそれぞれ多少の相違がある。また衛生試験法・犯罪科学試験法 (昭和 38 年度追加) では, エタノールの鑑識法として暫定的に Widmark 法を採用している現状である。われわれはこの微量拡散法によるエタノール比色定量法の正

* 本報の要旨は第 17 回日本薬学会にて報告。

** 静岡市小鹿 160 ; Oshika, Shizuoka.