ガスクロマトグラフィーによる局所麻酔剤の分析

浜田 昭, 武田 靖子, 郷右近 菊子

昭和大学薬学部¹⁾

Analysis of Local Anesthetics by Gas-liquid Chromatography

AKIRA HAMADA, YASUKO TAKEDA and KIKUKO GOUKON

School of Pharmaceutical Sciences, Showa University¹⁾

(Received August 16, 1968)

Gas-liquid chromatography of 10 kinds of local anesthetics has been carried out on 1 m column packed with Daichrom A (washed Celite 545) coated with 1% silicone QF-1 or with Daichrom F (quartz powder) coated with 0.5% thermol No. 3. Each sample (in free base state) in ethanolic solution was introduced into gas chromatograph equipped with hydrogen flame ionization detector. The column with thermol No. 3 was preferred for the separation of all these drugs including dibucaine which had been difficult to detect with gas-liquid chromatography.

Rapid and superior separation of a mixture of these drugs was also performed by thermol No. 3 column using a temperature gradient.

臨床各科の手術などの際に、局所麻酔剤を使用して、いわゆるショック死などの事故を起こすことは、最近でも依然としてあとを絶たない状態である。²⁾ これら事故の場合、裁判化学的には注射部位、血液、脳脊髄液、または施用した薬剤の残部といったものから使用した微量の局所麻酔剤の検出を行なう必要がある。

著者の一人はさきにガスクロマトグラフィーによる各種局所麻酔剤の分析法について検討し、この方法が微量の局所麻酔剤の定性試験に有用な分析法であることを報告した。³⁾

局所麻酔剤による事故例の内訳を見ると、ジブカインによるものが圧倒的に多く、大半をしめている。^{2,4)} しかし前報の結果では、ジブカインは強い条件によってのみクロマトグラム上にピークを与えたが、まだ十分満足すべきものではなかった。局所麻酔剤の分析法についての

報告は多いが、その大部分は沈殿反応、呈色反応、紫外線 (UV) および赤外線 (IR) 吸収、ペーパークロマトグラフィーや薄層クロマトグラフィーによるものが多くガスクロマトグラフィーによる局所麻酔剤の分析例は比較的少なく、⁵⁾ しかもジブカインについての報告は他に見られない。

本報ではジブカインについて特に検討し、また10種の局所麻酔剤についての一斉分析を試み、さらに昇温ガスクロマトグラフィーによる分析を検討し、好結果が得られたので報告する。

実験方法

1. 試料および試験溶液の調製 試料として用いた局所麻酔剤は Table I に掲げる10種のもので、いずれも市販品を用いた。各試料は塩を形成しているものはその水溶液 (製剤化してあるものは直接) を10%水酸化ナト

1) Location: Hatanodai-1, Shinagawa-ku, Tokyo (東京都品川区旗の台 1-5-8).

2) “薬物による中毒事故等の発生状況, 1957—1966年,” 科学警察研究所資料, 1958—1967.

3) 浜田 昭, 星野乙松, 丹沢珪子, 浮田忠之進, 衛生化学, **10**, 14 (1964).

4) 丹沢珪子, 星野乙松, 浮田忠之進, 衛生化学, **12**, 129 (1966).

5) a) 宮下 繁, 松村芳子, 科学警察研究所報告, **16**, 295 (1963); b) H. M. Koehler, J. J. Hefferren, *J. Pharm. Sci.*, **53**, 745 (1964).

リウム溶液で、アルカリ性としたのち、エーテルで抽出する。エーテル層を乾燥後エーテルを留去し、遊離型となっている残留物を1%エタノール溶液として試験溶液とした。

2. Gas Chromatography Hitachi Gas Chromatograph model K-53 equipped with hydrogen flame ionization detector and an automatic temperature programmer

column: 100 cm stainless steel, i. d. 3 mm

① 1% Silicone QF-1 on Daichrom A (60-80 mesh)⁶⁾

② 0.5% Thermol No. 3 on Daichrom F (60-80 mesh)⁶⁾

Carrier gas: N₂

TABLE I. Local Anesthetics Tested

1. Benzoic acid ester Hexylcaine(Hex)	3. Anilide derivative Lidocaine(Lid)
2. <i>p</i> -Amino-benzoic acid ester Anesthesin(Ane) Procaine(Pro) Cornecain(Cor) Tetracaine(Tet) T-cain	4. Quinoline derivative Dibucaine(Dib) 5. Cocaine derivative Cocaine(Coc)

結果および考察

Table I に示した各局所麻酔剤を用いてガスクロマトグラフィーを行なった場合の条件および得られた保持時間を Table II, III に示した。

QF-1 のカラムでは幾分吸着現象が見られ、とくに保持時間の長いもの (Dib) については、注入サンプル量によってピークの最大値の移動が見られる。しかし過剰のサンプル添加を避け、感度を上げて行なうと良いピークを得ることが出来る。カラム温度を上昇し、240°にすればこの様な現象は見られなくなり、保持時間の再現性も良くなる。しかしながら保持時間の短いものについてはこの現象は見られず、分離も良い。各試料について1%溶液 1 μl を用いたときの保持時間を Table II に示した。ただし Cor については前回報告したごとく、またつぎに述べる thermol No. 3 カラムのときと同様に他のものと同くらべ非常に感度が低く、1 μl (Cor として 10 μg) のサンプル量ではピークが得られず、サンプル量を非常に増加し、10 μl (100 μg) を用い、220°の条件ではじめてピークが得られた。

Koehler^{5b)} 等は固定相液体に SE-30 を用い、種々の担体を検討した結果、glass bead が最も良い結果を与えたことを報告している。前回比較的好結果を示した ther-

TABLE II. Retention Time of Local Anesthetics by Silicone QF-1 Column (in minutes)^{a)}

Condition ^{b)} Column temp. Flow rate	150° 20ml/min	200° 40ml/min	220° 20ml/min
Anesthesin	1.1	0.3	
Hexylcaine		0.6	
Procaine	7.1	1.1	0.8
Lidocaine	7.6	1.2	
Cocaine		1.5	
Carbocaine		1.8	
Tetracaine	14.3	2.0	1.3
T-cain		2.7	
Cornecain		n. r.	3.5 ^{c)}
Dibucaine		9.9	

a) The retention time was measured from the appearance of solvent (ethyl alcohol).

b) 1% QF-1 on 60-80 mesh Daichrom A, injection port temp.: 250°, attenuation: × 100, sample size: 1 μl of each 1% solution

c) sample size: 10 μl of 1% sample solution
n. r.: no response observed

TABLE III. Retention Time of Local Anesthetics by Thermol No. 3 Column (in minutes)^{a)}

Condition ^{b)} Column temp Flow rate	80° 30ml/min	200° 40ml/min	230° 40ml/min	Limit of detection ^{c)} (μg)
Anesthesin	0.8	0.4		
Hexylcaine	3.6	1.5		
Procaine	4.7	1.8		0.002
Lidocaine	2.7	1.2		
Cocaine	8.5	3.2		
Carbocaine	5.4	2.1		
Tetracaine	10.2	3.7		
T-cain	17.6	6.1	2.1	0.1
Cornecain	n. r.	7.4 ^{d)}		
Dibucaine	57	18.0	5.7	0.3

a) The retention time was measured from the appearance of solvent (ethyl alcohol)

b) 1% thermol No. 3 on 60-80 mesh daichrom F, injection port temp.: 250°, attenuation: × 100, sample size: 1 μl of each 1% solution

c) condition tested: procaine (conc. of sample solution, 0.0001%; column temp., 180°; flow rate, 40 ml/min; attenuation, × 10), T-cain (0.01%; 230°; 40 ml/min; × 20), Dibucaine (0.01%; 200°; 40 ml/min; × 20)

d) sample size 6 μl of 1% sample solution
n. r.: no response observed

mol-Q カラムが市販品で、その組成も明らかでなく、一般的でないので、今回は液相として高沸点用の thermol

6) 大倉理化学研究所製: Daichrom A (washed Celite 545), Daichrom F (quartz powder).

No. 3を用い、担体として出来るだけ吸着の少ないといわれている水晶粉末を用いてガスクロマトグラフィーを試みた。

この thermol No. 3 のカラムは今迄検討を加えたカラムの中では最も優れ、分離能も高く、再現性も良い。特に従来良いピークを得られなかった Dib が比較的対称的な型のピークを与え、しかも緩やかな温度条件で感度もよく分析することが出来る。

従来の報告を見ると Dib や Cor を除いた比較的气体クロマトグラフィーによって分析されやすい局所麻酔剤においても、大抵の場合210°以上のカラム温度において行なわれているが、今回行なって結果では180°のカラム温度で主な局所麻酔剤は、短時間で溶出され、200°では Dib を除いては10分以内にクロマトグラム上、それぞれ良いピークを示し、同定することが出来る。Cor はこのカラムの場合では QF-1 カラムに比較すると多少感度があがっているが、やはり多量のサンプル量を必要とする。⁷⁾ Table III に各試験溶液 1 μ l (10 μ g) (Cor については 60 μ g) を用いたときの保持時間を示した。また主な局所麻酔剤の検出限度を最右欄に示した。

ここに用いた局所麻酔剤は十分再現性よくこのカラムによって分離することが示されたが、QF-1 カラムに比べると Lid が Hex や Pro より早く溶出され、また Car と Coc の溶出順序の逆転が認められる。

また局所麻酔剤混合物の分析を行なうために各局所麻

Fig. 1. Chromatogram of 10 Local Anesthetics

condition; column: 100×0.3 cm i.d. stainless steel, 0.5% thermol No.3 on Daichrom F (60–80 mesh), flow rate: 30 ml/min N₂, column temp.: 180°, injection port temp. 250°, sensitivity (attenuation): × 100. sample size: 10 μ l of a mixture (10 ml) prepared from each 1 ml of 1% ethanolic solution

酔剤の 1% 溶液を等量混合して、その 10 μ l (各試料について 10 μ g) を用い、thermol No.3 カラムにより、180°の条件下で行なったときのクロマトグラムを Fig. 1 に示した。Fig. 1 から明らかなごとく、Cor はこの量ではピークを与えていないし、Dib にはこの温度条件は低過ぎて良い条件とはいえないが、その他のものについては非常に良く分離し、同定が可能である。ここに用いた試料溶液は各試料の濃度が 0.1% で、したがって注入した溶媒の量が多過ぎたため、Ane は溶媒として用いたエタノールのピークにかくれてしまっている。

局所麻酔剤はその種類も多く、また化学的組成も種々であり、同一条件で一斉に分析を行なうことはかなり困難とされており、したがって局所麻酔剤の種類によって色々と条件を変えて行なう必要があった。上にのべたごとく、今回用いた Table III に示したような条件で行なうとき、ここで用いた試料について同一条件で分離、同定することが可能である (例 Fig. 1) が、さらに昇温ガスクロマトグラフィーによる局所麻酔剤の混合物の分離を試みた。試験溶液として Cor を 3%, Dib を 2%, その他のものは 1% に含まれるように調製した混合物のアルコール溶液 1 μ l を用い、thermol No. 3 カラム、カラム温度: 最初 150°, 最終 220°, 昇温速度 5°/min の条件で行なった。得られたクロマトグラムは Fig. 2 に示してあ

Fig. 2. Separation of 10 Local Anesthetics under Temperature Gradient Condition

condition; column: same as given in Fig.1, flow rate: 40 ml/min N₂, column temp.: initial temp. 150° with temp. increase of 5°/min, final temp. 220°, injection port temp. 250°, sensitivity (attenuation): × 200. sample size: 1 μ l of an alcoholic solution containing dibucaine (2%), cornecain (3%) and others (1%)

- 7) カラム温度を250°にすれば Cor は 20 μ g でもシャープなピークを与える。250°における Cor および Dib の保持時間はそれぞれ 1.5, 2.7 min である。

るが、用いた局所麻酔剤はそれぞれよく分離し、本昇温ガスクロマトグラフィーによる法は一斉分析の方法として非常によいことが分った。

以上述べた結果から明らかなように、従来ガスクロマトグラフィーによって良い結果が得られていなかったジブカインが、今回用いた thermol No. 3 カラムによって感度よく、しかも対称的なピークとして検出された。またこのカラムによって局所麻酔剤の同一条件下における一斉分析も可能であり、さらに昇温ガスクロマトグラフ

ィーを行なえば、より容易に定性試験を行なえるばかりでなく、正確かつ迅速に、しかも微量分析が可能である。

今回試験した QF-1 カラムおよび thermol No. 3 カラムによる Dib の溶出パターンとの相異は、固定相に用いた担体による差が大いに影響していると思われる。この点についてはさらに検討を加えている。

謝辞 サンプルの一部を提供していただいた東京大学薬学部薬害研究施設大沢利昭助教授に感謝する。