薬物の裁判化学的研究 (第2報¹⁾)

覚せい剤混合試料中の *l*-エフェドリンおよび *d*-プソイド
エフェドリンのガスクロマトグラフィーによる同時定量

鵜飼茂夫, 広瀬一雄,^{2a)} 河瀬章司^{2b)}
岐阜薬科大学,^{2a)} 岐阜県警察本部鑑識課^{2b)}

Forensic Chemical Studies on Drugs. II.¹⁾

Simultaneous Determination of *l*-Ephedrine and *d*-Pseudoephedrine in
Sympathomimetic Amines Mixture by Gas Chromatography

SHIGEO UKAI, KAZUO HIROSE,^{2a)} and SHŌZI KAWASE^{2b)}
Gifu College of Pharmacy^{2a)} and Identification Section,
Gifu Prefectural Police Headquarters^{2b)}

(Received March 12, 1975)

l-Ephedrine (I) and *d*-pseudoephedrine (II) in a mixture of sympathomimetic amines were determined simultaneously by gas chromatography of their trifluoroacetyl derivatives (I-TFA and II-TFA). Resolution of these derivatives was carried out by the gas chromatograph equipped with a hydrogen flame ionization detector in a glass column (1 m×3 mm), packed with 1% SE-30 on Gas-chrom Z, at 80°, with N₂ at the flow rate of 70 ml/min. This method is well suited not only for the simultaneous determination of I and II but also for the screening test of sympathomimetic amines (phenylmethylephedrine, phenylaminopropane, and methylephedrine).

Based on the results of nuclear magnetic resonance, infrared, and mass spectra, N,O-ditrifluoroacetyl-*l*-ephedrine was assigned for I-TFA and N,O-ditrifluoroacetyl-*d*-pseudoephedrine for II-TFA.

緒 言

近年, 覚せい剤の氾濫に伴ない押収された鑑定物件中にはフェニルアミノプロパン, フェニルメチルアミノプロパンとともに, それらの製造原料であるエフェドリンおよびその関連化合物がしばしば増量剤として混和されている。これらの増量剤のうち, エフェドリン (*erythro*型) およびプソイドエフェドリン (*threo*型) は互いに diastereoisomer の関係にあり, 化学的ならびに物理的性状が酷似するため, 遊離塩基のまま両者をガスクロ

マトグラフィー (GC) によって分離することは困難である。³⁻⁵⁾ それゆえ, *l*-エフェドリン (I) および *d*-プソイドエフェドリン (II) を種々の誘導体, すなわち, oxazoline 誘導体,⁵⁾ pentafluorobenzoyl 誘導体,⁶⁾ heptafluorobutyryl 誘導体⁷⁾ などに導いた後, GC を行う方法が試みられている。しかしながら, 覚せいアミン混在下における GC 分析に関しては, trifluoroacetyl 化法による I の単独検出,⁸⁾ acetonide 化法による I, II の同時検出⁹⁾ などが知られているが, I, II の同時定量について

1) 第1報: 鵜飼茂夫, 広瀬一雄, 河瀬章司, 衛生化学, **19**, 281 (1973).

2) Location: a) Mitahora 492-36, Gifu; b) Yabuta, Gifu.

3) E. Brochman-Hanssen, A. B. Svendsen, *J. Pharm. Sci.*, **51**, 938 (1962).

4) A. H. Beckett, G. R. Wilkinson, *J. Pharm. Pharmacol.*, **17**, Suppl., 104 S (1965).

5) K. Yamasaki, K. Fujita, M. Sakamoto, K. Okada, M. Yoshida, O. Tanaka, *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), **22**, 2898 (1974).

6) G. R. Wilkinson, *Analytical letters*, **3**, 289 (1970).

7) L. M. Cummins, M. J. Fourier, *Analytical letters*, **2**, 403 (1969).

8) 日本薬学会編, “薬毒物化学試験法注解,” 南山堂, 東京, 1974, p. 238.

の報告は見当たらない。

著者らは I および II の trifluoroacetyl 誘導体 (I-TFA, II-TFA) の GC による分析法について種々検討した結果、覚せいアミン共存下において I-TFA および II-TFA を容易に分離しうる条件を見出すとともに、I-TFA および II-TFA をもととする I および II の同時定量法を確立することが出来た。また、I-TFA および II-TFA を合成し、それらの化学構造を明らかにしたので、あわせて報告する。

実験の部⁹⁾

1. 試薬ならびに試料 試薬——水酸化ナトリウム、酢酸エチル、酢酸、トリフルオロ無水酢酸は、いずれも市販特級品を用いた。ジフェニル、ヘプタフルオロ無水酪酸はいずれも市販一級品を用いた。エーテルは新たに蒸留精製した後、使用した。

試料——I の塩酸塩、フェニルメチルアミノプロパン (III) 塩酸塩、フェニルアミノプロパン (IV) 硫酸塩、dl-メチルエフェドリン (V) 塩酸塩は、いずれも日本薬局方品を用いた。II の塩酸塩は鑑定試料から分離精製したものをを用いた。本品は mp 181°, $[\alpha]_D^{20} + 62^\circ$ ($c = 0.8$, H₂O) を示し、標品の赤外線吸収スペクトル (IR)¹⁰⁾ との比較によって同定した。

2. GC の装置ならびに条件 装置——日立製 037 型に水素炎イオン化検出器を接続。

条件——カラム：内径 3 mm、長さ 1 m あるいは 2 m の硬質ガラスカラムを dimethyldichlorosilane にてシラン処理した後、1% SE-30 で被覆した Gas-chrom Z (60—80 mesh) を充填。カラム温度：80°あるいは 120°、試料注入口温度：250°、キャリアーガス：窒素、70 ml/min あるいは 30 ml/min、感度：8×10。

3. 試料のトリフルオロアセチル化 10 ml の共栓試験管に試料水溶液 (I, II, III, IV, V の塩酸塩または硫酸塩を 100—500 μg 含有) 1 ml を加え、ついで各試験管に 6 N 水酸化ナトリウム溶液 1 ml を加えてアルカリ性とし、エーテル 2 ml (×4) で激しく振盪抽出。エーテル層を合し、少量の酢酸を加えて濃縮乾涸。残渣を酢酸エチルに溶かして同量のトリフルオロ無水酢酸を加え、水浴中 50° で約 5 分間加熱したのち、40—50° で減圧濃縮。残渣は酢酸エチルに溶かして GC に注入。

4. 検量線作成用試料の調製 10 ml の共栓試験管

に I, II 両者含有標準溶液 (I ならびに II の塩酸塩両者を 1 ml 中にそれぞれ 100 μg, 300 μg, 500 μg ずつ含む溶液) 1 ml を加え、6 N 水酸化ナトリウム溶液 1 ml でアルカリ性となし、以下、前節 3 と同様に処理。得られた残渣を 0.1% ジフェニル酢酸エチル溶液 200 μl に溶解。その酢酸エチル溶液 0.6 μl を GC に注入。

内部標準：ジフェニル。

5. I ならびに II の Trifluoroacetyl 誘導体の合成 N,O-Ditrifluoroacetyl-l-ephedrine (I-TFA)——I 20 mg を酢酸エチル 200 μl に溶解。この溶液に同量のトリフルオロ無水酢酸を加えて水浴中 50° で約 5 分間加熱した後、40—50° で減圧濃縮。残渣を少量のクロロホルムに溶解。カラムクロマトグラフィー (シリカゲル、展開溶媒クロロホルム) によって精製。無色油状物 41.4 mg を得。 $[\alpha]_D^{30} - 50.2$ ($c = 0.7$, CHCl₃)。収率 95.8%。Anal. Calcd. C₁₄H₁₃O₃NF₆: C, 47.07; H, 3.67; N, 3.92. Found: C, 46.82; H, 3.87; N, 3.86. NMR τ 値 (chemical shift: TMS を内部基準とした): 2.56 (5H,

singlet, aromatic proton), 3.85 (1H, $\begin{array}{c} \text{O}- \\ | \\ -\text{CH}- \end{array}$, doublet ($J = 7\text{Hz}$)), 5.23 (1H, $\begin{array}{c} \text{N}= \\ | \\ -\text{CH}- \end{array}$, quintet ($J = 7\text{Hz}$)), 7.05 (3H, =N-CH₃, quartet), 8.60 (3H, C-CH₃, doublet ($J = 7\text{Hz}$)).

N,O-Ditrifluoroacetyl-d-pseudoephedrine (II-TEA) ——II 20 mg, 酢酸エチル 200 μl, トリフルオロ無水酢酸 200 μl を用い、以下 I-TFA の場合と同様に処理、無色油状物 42.8 mg を得。 $[\alpha]_D^{30} + 83.0$ ($c = 0.7$, CHCl₃)。収率 99.0%。Anal. Calcd. C₁₄H₁₃O₃NF₆: C, 47.07; H, 3.67; N, 3.92. Found: C, 47.24; H, 3.85; N, 3.89. NMR τ 値 (chemical shift: I-TFA の場合と同様): 2.52 (5H, singlet, aromatic proton), 3.94 (1H, $\begin{array}{c} \text{O}- \\ | \\ -\text{CH}- \end{array}$, doublet ($J = 9.5\text{Hz}$)), 4.95 (1H, octet, $\begin{array}{c} \text{N}= \\ | \\ -\text{CH}- \end{array}$), 6.89 (3H, quartet, =N-CH₃), 8.86 (3H, C-CH₃, doublet ($J = 7\text{Hz}$)).

結果および考察

1. GC 測定条件の検討

1-a I および II のトリフルオロアセチル誘導体 (I-TFA および II-TFA) の分離 I および II を遊離塩基

9) NMR は Hitachi R-20 (60 MHz), Mass スペクトルは JEOL JMS-D 100, 旋光度は JASCO DIP-4, IR は JASCO IR-G で測定。

10) E.G.C. Clarke ("Isolation and Identification of Drugs," The Pharmaceutical Press, London, 1971, p. 760.) の IR チャートならびに大日本製薬総合研究所から提供された標品の IR チャートと比較同定。

のまま GC によって分離するために、5% PEG 20 M, 5% KOH・5% PEG 20 M, 1% OV-17, 1% SE-30 等で被覆した Gas-chrom Z を充填したガラスカラムを用い種々検討したが、Brockmann-Hanssen⁸⁾ ならびに Yamasaki⁵⁾ らの報告と同様、両者の分離は不成功に終わった。そこで、トリフルオロ無水酢酸によって I および II を trifluoroacetyl 体 (I-TFA, II-TFA) に導き、両者の分離条件について検討した結果、Fig. 1 のごとく 1% SE-30 Gas-chrom Z ガラスカラム (カラム: 3mm × 2m, 温度: 120°, キャリアーガス: 窒素, 30 ml/min) の使用によって I-TFA および II-TFA はそれぞれ保持時間 (T_R) 5.7 分および 7.3 分に安定した対照的なピークを与えた。すなわち、I および II の trifluoroacetyl 化法が有用であることがわかった。I ならびに II の trifluoroacetyl 化による I-TFA ならびに II-TFA の生成は後述の合成実験 (節 3) から明らかなように高収率である。

Fig. 1. Gas Chromatogram of I-TFA and II-TFA

GC conditions: 1% SE-30 on Gas-chrom Z (60–80 mesh); glass-column (DMCS treated), i. d. 3 mm, length 2 m; injection temp., 250°; column temp., 120°; carrier gas, N₂, 30 ml/min; detector, HFID

1-b 覚せいアミン共存下における I-TFA および II-TFA の分離 I および II が覚せい剤関連物質として裁判化学の領域で取扱われるときは、多くの場合、覚せいアミン共存下における分析が要求される。

まず、I, II, III, V の塩酸塩および IV の硫酸塩の混合物を水酸化ナトリウムによって遊離塩基となし TFA 体へ導いた後、1-a と同一の GC 条件のもとで GC を行

Fig. 2. Gas Chromatogram of the Trifluoroacetyl Derivatives of I, II and Sympathomimetic Amines

GC conditions: 1% SE-30 on Gas-chrom Z (60–80 mesh); glass-column (DMCS treated), i. d. 3 mm, length 2 m; injection temp., 250°; column temp., 120°; carrier gas, N₂, 30 ml/min; detector, HFID

なったところ、Fig. 2 に示すように IV-TFA および V-TFA が T_R 3.3 分に、I-TFA および III-TFA が 5.7 分にそれぞれ重なって現われ、覚せい剤のスクリーニングの場合および I, II の同時定量の際に支障をきたすことが判明した。そこで、これらの混合物の TFA 誘導体の分離条件について、さらに検討した結果、1% SE-30 Gas-chrom Z (60–80 mesh) を充填した長さ 1 m, 内径 3 mm のガラスカラムを用い、カラム温度 80°, 窒素流量 70 ml/min の条件で GC を行なうことによって各成分が IV-TFA (T_R : 3.6 分), V-TFA (T_R : 5 分),¹¹⁾ III-TFA (T_R : 7.2 分), I-TFA (T_R : 8.2 分), II-TFA (T_R : 11.5 分) の順で合目的的に分離することが見出された (Fig. 3 参照)。すなわち、この GC 条件は覚せい剤のスクリーニングを行なう場合に、きわめて有用と考えられる。

なお、これらの覚せいアミン混合物は heptafluorobutyryl (HFB) 化法によっても分離され、Fig. 4 (GC 条件: 前節 1-a と同様) に示すように、TFA 化法の場合と同様 heptafluorobutyryl (HFB) 体はそれぞれ IV-HFB (T_R : 4.2 分), V-HFB (T_R : 4.5, 5.1 分), III-

11) V-TFA は不安定であり、その酢酸エチル溶液を室温一夜放置することによって、もはや GC ピークを生じない。おそらく脱アシル化によって生成したトリフルオロ酢酸と V とが不揮発性の塩を形成するためと考えられる。

Fig. 3. Gas Chromatogram of the Trifluoroacetyl Derivatives of I, II and Sympathomimetic Amines

GC conditions: 1% SE-30 on Gas-chrom Z (60–80 mesh); glass-column (DMCS treated), i. d. 3 mm, length 1 m; injection temp., 250°; column temp., 80°; carrier gas, N₂, 70 ml/min; detector, HFID

Fig. 4. Gas Chromatogram of the Heptafluorobutyryl Derivatives of I, II and Sympathomimetic Amines

GC conditions: 1% SE-30 on Gas-chrom Z (60–80 mesh); glass-column (DMCS treated), i. d. 3 mm, length 2 m; injection temp., 250°; column temp., 120°; carrier gas, N₂, 30 ml/min; detector, HFID

HFB (T_R : 6.8分), I-HFB (T_R : 9.7分), II-HFB (T_R : 12.0分)の順序で検出されるが、V-HFBはIV-HFBにかなり接近し、ややテーリングした2本のピークとして現われる。この原因については検討中である。

2. IおよびIIの同時定量

IおよびIIが覚せい剤原料として覚せい剤取締法の対象となる場合は、その含有量が遊離塩基として10%以上の場合であり、鑑定上、しばしばそれらの定量が必要となる。Yamasakiら³⁾は oxazoline 誘導体法によって麻黄中のI, IIの定量を行なっているが、覚せい剤アミン混在下の場合については報告されていない。

前節1-bのGC条件において、IおよびIIのTFA誘導体のピークを基として内部標準物質に diphenyl を用い、検量線を作成したところ、IおよびIIの塩酸塩とも0.1 mg/ml–0.5 mg/mlの濃度範囲において、それぞれ直線関係が得られ、きわめて高い再現性を示した。この条件において、覚せい剤アミン(III, IV)混在下でIおよびIIを同時定量する場合にはFig. 3に見られるようにIII-TFAおよびIV-TFAの T_R (7.2分, 3.6分)がII-TFAのそれ(11.5分)とかなり異なるため、III, IVの混在によるIIの定量値への影響は認められない。そして、またIV-TFAの T_R (3.6分)がI-TFAのそれ(8.2分)と、かなり異なるので、IVの混在によるIの定量値への影響は認められない。しかし、I-TFAおよびIII-TFAの T_R は8.2分および7.2分で、やや接近しているためIの定量値へのIIIの影響が懸念される。そこで、IおよびIIIの塩酸塩の混合比(I:III)50:50, 38:62, 17:83, 5:95, 3:97, 1:99の場合について検討した結果、両者の混合比50:50から5:95までの範囲においてIの定量値に殆んど影響が認められず、IおよびIIIの混合物中Iが5%以上含有する場合には充分定量しうる事が判明した。覚せい剤アミンとしてVが混在する場合には、V-TFAの T_R (5分)が内部標準物質 diphenyl と同一の T_R を有するので(Fig. 5)、内部標準物質として naphthalene (T_R : 1.5分)を使用することにより目的を達することができる。

本法によれば、覚せい剤混合試料中のIおよびIIを、覚せい剤アミンの混在のままで、上記の範囲において能率的に定量することができる。なお、今回はGC検出器として水素炎イオン化検出器を用いたが、高い検出感度を要求する場合には電子捕獲型検出器の使用が望ましく、この点については検討中である。

3. IおよびIIのTFA誘導体の化学構造

I-TFAおよびII-TFAの化学構造については、IおよびIIの分子中の水酸基あるいは methylamino 基のいずれか一方が trifluoroacetyl (TFA) 化されている場合と、両基がいずれも TFA 化されている場合とが考えられる。

IおよびIIをそれぞれトリフルオロ無水酢酸にてTFA化した後、silica-gel カラムクロマトグラフィー

Fig. 5. Gas Chromatogram of I-TFA and II-TFA

GC conditions: 1% SE-30 on Gas-chrom Z (60–80 mesh); glass-column (DMCS treated), i.d. 3 mm, length 1 m; injection temp., 250°; column temp., 80°; carrier gas, N₂, 70 ml/min; detector, HFID

(展開溶媒：クロロホルム) によって精製し、I-TFA および II-TFA を無色油状物として、それぞれ95.8%および99.0%の高収率で得た。これらの物質は1—bのGC条件において、I-TFAは T_R 8.2分に、II-TFAは11.5分にそれぞれ単一ピークを与える。I-TFA および II-TFA はマスペクトル(Mass)において、いずれも m/e 357 に分子イオンピーク (M^+) を、 m/e 338 にイオンピーク (M^+-F) を示し、両者とも元素分析値は $C_{14}H_{13}O_3NF_6$ に一致した。また、赤外線吸収スペクトル(IR)において、I-TFAは 1692 cm^{-1} , 1787 cm^{-1} に、II-TFAは 1690 cm^{-1} , 1785 cm^{-1} にそれぞれ酸アミドならびにエステルに基づく吸収をもつこと、および Mass, 元素分析の結果から、I-TFA および II-TFA は分子中に $-N-COCF_3$ 基ならびに $-O-COCF_3$ 基を有することは明らかである。

NMRにおいて、I-TFAのHaは3.85 τ にdoublet, J_{ab} =7Hzを, II-TFAのHaは3.94 τ にdoublet, J_{ab} =9.5Hzを与えた(Iの場合は J_{ab} =4.07Hz, IIの場合は J_{ab} =8.23Hz¹²⁾). また、I-TFAの場合には7.05 τ に, II-TFAの場合には6.89 τ にそれぞれN-CH₃に基

Fig. 6. Calibration Curve for Simultaneous Determination of I and II (HCl salt) based on I-TFA and II-TFA

concentration : rate of weight (component/diphenyl)
GC condition : shown in Fig. 3.

づくシグナルが quartet として現われたが、 -N-COCF_3 の F に由来する long range coupling と考えられる。

I-TFA の比旋光度 $[\alpha]_D^{30}$ ($c=0.70, \text{CHCl}_3$) は -50.2 を, II-TFA のそれは $+83.0$ を示した.

以上の事実から、I-TFA を N,O-ditrifluoroacetyl-*l*-ephedrine に、II-TFA を N,O-ditrifluoroacetyl-*d*-pseudoephedrine に帰属した。

Chart 1

結 び

覚せい剤混合試料をトリフルオロ無水酢酸によって TFA 化を行ない、試料中に含有する I および II を TFA 誘導体 (I-TFA および II-TFA) となし、1% SE-30 Gas-chrom Z ガラスカラムを用い GC (カラム温度: 80°, キャリヤーガス: N₂, 70 ml/min) を行なうことによって覚せい剤アミン共存下における I および II を同時定量 (濃度範囲 0.1 mg/ml—0.5 mg/ml) することに成功した。本法は覚せい剤混合試料中の I および II の検出ばかりでなく、覚せい剤のスクリーニング試験にもきわめて有用である。

また、I および II の TFA 化体の化学構造は IR, Mass, NMR 等の結果から I-TFA を N,O-ditrifluoroacetyl-*l*-ephedrine に、II-TFA を N,O-ditrifluoroacetyl-*d*-pseudoephedrine に帰属した。

12) P.S. Portoghese, *J. Med. Chem.*, **10**, 1057 (1967).