

知事指定薬物の純度測定及び不純物の推定構造

鈴木 仁*, 瀬戸 隆子*, 長嶋 真知子*,
高橋 美佐子*, 奥本 千代美*, 安田 一郎*

Measurement of Purity of Governor-designated Drugs and Estimated Structural Formula of the Impurities

Jin SUZUKI*, Takako SETO*, Machiko NAGASHIMA*,
Misako TAKAHASHI*, Chiyomi OKUMOTO* and Ichiro YASUDA*

The purity of governor-designated drugs (2,5-dimethoxy-4-iodophenethylamine (2C-I), *N*-methyl- α -ethyl-3,4-methylenedioxyphenethylamine (MBDB), 3-[2-(isopropylmethylamino)ethyl]-5-methoxyindole (5-MeO-MIPT), and 3-chlorophenylpiperazine (3CPP)) used for the purpose of living body influence evaluation was measured. The samples were analyzed by using TLC, GC-FID, IC, HPLC, and NMR. Using TLC and GC-FID methods, only one main spot and a single peak was detected in all samples. Using IC, the form of existence of all compounds was clarified, and using HPLC-PDA and NMR methods, the purity of all samples was calculated with to be over 90%.

Keywords : 知事指定薬物 a governor-designated drug, 純度 purity, 不純物 impurity, 薄層クロマトグラフィー TLC, イオンクロマトグラフィー IC, ガスクロマトグラフィー GC, 高速液体クロマトグラフィー HPLC, 核磁気共鳴スペクトル NMR

はじめに

「知事指定薬物」は、平成17年4月1日施行の「東京都薬物の濫用防止条例」第12条に基づき、東京都内で現に濫用され、または濫用されるおそれがあると認める薬物を、東京都知事が指定したものである。指定することができる薬物は、大麻取締法・覚せい剤取締法・麻薬及び向精神薬取締法・あへん法・毒物及び劇物取締法施行令で規定する薬物を除くもののうち、これらと同等に興奮・幻覚・陶酔等の作用を人の精神に及ぼし、濫用することにより人の健康に被害が生じると認められるものである。

都は、2,5-ジメトキシ-4-ヨードフェネチルアミン (以下2-CI), *N*-メチル- α -エチル-3,4-メチレンジオキシフェネチルアミン (以下MBDB) 及び3-[2-(イソプロピルメチルアミノ)エチル]-5-メトキシインドール (以下5-MeO-MIPT) を知事指定薬物に指定 (第1回) し、平成17年5月25日に告示した。次いで3-クロロフェニルピペラジン (以下3CPP) を指定 (第2回) し、平成17年9月15日に告示した。知事指定薬物の検討段階での生体影響評価試験において、不純物の影響を試験の結果に影響させないために、純度の高いこれらの薬物の標準品が必要であった。現在のところ、各試薬メーカーからはこれらの標準品を入手することは困難であることから、試買した製品の中から純度の高いものを標

準品として使用せざるを得ない。しかしながら、これらの標準品は純度や塩類としての存在形態に関する情報がなく、評価試験に使用できない可能性もある。そこで著者らは、生体影響試験に使用した薬物について、薄層クロマトグラフィー (以下TLC), 水素炎検出ガスクロマトグラフィー (以下GC-FID), イオンクロマトグラフィー (以下IC), フォトダイオードアレイ検出高速液体クロマトグラフィー (以下HPLC-PDA) 及び核磁気共鳴スペクトル法 (以下NMR) を用いて純度及び塩類の測定を行った。また、これらの標準品に含まれる微量の不純物について、化学構造を明らかにすることを試みた。

実験方法

1. 試料

生体評価試験に使用した知事指定薬物 (2C-I, MBDB, 5-MeO-MIPT及び3CPP) 及び比較対象薬物 [(3-ジイソプロピルアミノ)エチル]-5-メトキシインドール (以下5-MeO-DIPT) 及び1-ベンジルピペラジン (以下BZP) を試料とした。2C-I, MBDB, 5-MeO-MIPT及び5-MeO-DIPTは試買した純度の高いものをそのまま使用した。3CPPは和光純薬工業 (株) 製一級品をイソプロパノールで再結晶したものを使用した。BZPはAldrich社製を使用した。

* 東京都健康安全研究センター医薬品部医薬品研究科 169-0073 東京都新宿区百人町 3-24-1

* Tokyo Metropolitan Institute of Public Health

3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjyuku-ku, Tokyo 169-0073 Japan

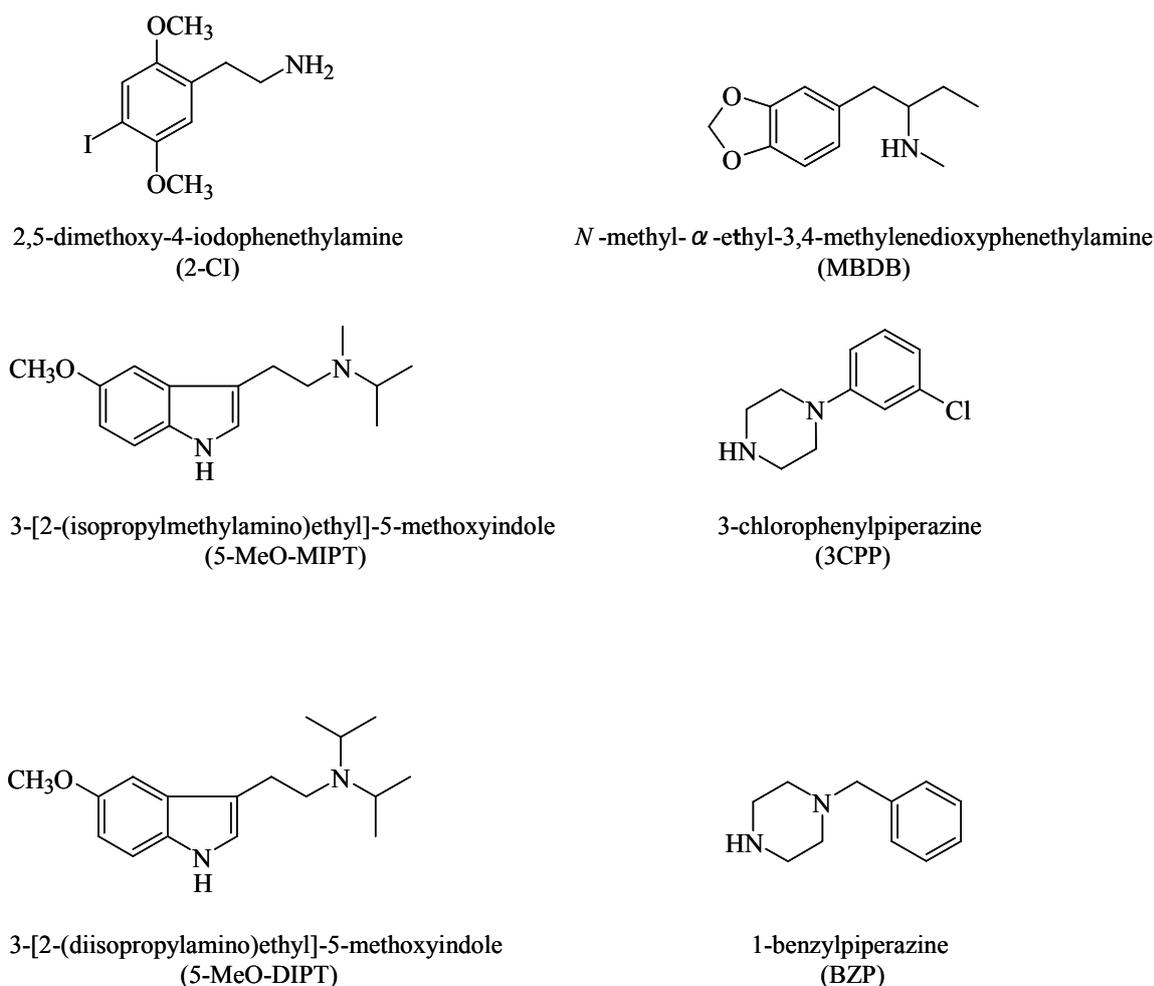


Fig. 1. Structures of Governor-Designated Drugs and Compared Substances

2. 試験溶液の調製

- 1) TLC 各試料約1.0 mgをメタノール100 μ Lに溶解した.
- 2) GC-FID 各試料約1.0 mgをアセトニトリル10 mLに溶解した.
- 3) IC 各試料約5 mgを精密に秤り, 水5 mLに溶かし試料溶液とした. 試料溶液1 mLを精密に秤り水で10 mLとしたものを試験溶液とした.
- 4) HPLC-PDA 各試料2.0 mgをメタノール10 mLに溶解した.
- 5) NMR 各試料約5.0 mgを重メタノール (BZPは重クロロホルム) 約0.8 mLに溶解した.

3. 試薬及び試液

ニンヒドリン試薬: 和光純薬(株)製ニンヒドリンスプレー, ドラージェンドルフ試薬: 薬毒物化学試験法¹⁾のTLC法反応試薬による. その他特に記載のないものは, 試薬特級, 日局一般試験法及び日局通則により調製したものをを用いた.

4. 分析法及び分析条件

- 1) TLC 薄層板: Silica gel 60 F₂₅₄ (MERCK 社製, 厚さ0.25 mm, 105°Cで1時間乾燥後使用). 展開溶媒は Table

1.に示す. 試験方法: 試料溶液2 μ Lを塗布し測定した.

- 2) GC-FID 装置: GC-17A ((株)島津製作所製), カラム: DB-5ms EVDX (J & W 社製, 0.2 mm \times 25 m, 膜厚0.33 μ m), 測定条件: インジェクター温度250°C, カラム温度250°C, デテクター温度280°C. 試験方法: 試料溶液1 μ Lを注入し測定した.

- 3) ICによる塩類の測定 装置: 8020 シリーズ, カラム: TSKgel IC-Anion-PW (10 μ m, 4.6 \times 50 mm), ガードカラム: TSKguardcolumn IC-A (4.6 \times 50 mm), カラム温度: 40°C, 移動相: TSKeluent IC-Anion-A (以上東ソー(株)製), 試験方法: 試料溶液20 μ Lを注入し測定した. 同様に陰イオン標準溶液 (F⁻, Cl⁻, Br⁻, NO₂⁻, NO₃⁻及びSO₄²⁻)を注入し, 定性及び定量試験を行った.

4) HPLC-PDAによる純度測定

- (1) 分析法 (A) 装置: Alliance PDA System (Waters 社製), カラム: L-column ODS ((財)化学物質評価研究機構製, 5 μ m, 4.6 \times 150 mm), カラム温度: 40°C, 移動相: 2C-I, MBDB 及び 5-MeO-MIPT; H₂O/CH₃CN/H₃PO₄/ドデシル硫酸ナトリウム (以下 SDS) = 460 mL/540 mL/1 mL/2.8 g, 3CPP; H₂O/CH₃CN/H₃PO₄/SDS = 580 mL/420 mL/1 mL/2.8 g, 5-MeO-DIPT; H₂O/CH₃CN/H₃PO₄/SDS = 500

Table 1. The Form of Existence and the purity of Governor-designated Drugs

Compound	TLC Analysis				IC Analysis	Purity (%)		
	R _f value		Detection			Free or Salt	Method	
	(A)	(B)	(a)	(b)	(A)		(B)	(C)
2C-I	0.37	0.46	+	+	Dihydrochloride	99.1	98.8	97.0
MBDB	0.57	0.38	+	+	Monohydrochloride	98.0	99.2	98.1
5-MeO-MIPT	0.48	0.26	±	+	Free	99.5	98.8	98.8
3CPP	0.60	0.34	+	+	Monohydrochloride	100	99.8	99.4
5-MeO-DIPT	0.46	0.20	±	+	Monohydrochloride	99.7	99.5	99.3
BZP	0.35	0.44	+	+	Free	98.3	97.8	91.8

TLC: Solvent System(A); CHCl₃/CH₃OH/NH₃(28)=75/25/1 (B); *n*-BuOH/AcOH/H₂O=7/1/2

Detection reagent(a); ninhydrin reagent (b); Dragendorff's reagent

Purity: Method(A); HPLC-PDA (column: L-column ODS) (B); HPLC-PDA (column: Atlantis dC18) (C); NMR

mL/500 mL/1 mL/2.8 g, BZP; H₂O/CH₃CN/ H₃PO₄/SDS=500 mL/500mL/1 mL/2.8 g. 流速: 1 mL/min, 定量法: 試料溶液 10 μL を注入し, UV210~350 nm の総吸収として検出される溶媒ピークを除いた S/N=3 以上の目的化合物以外のピークを不純物とし, 面積法により純度を算出した.

(2) 分析法(B) 装置: Jasco MD1510 BORWIN (日本分光(株)製), カラム: Atlantis dC18 (Waters 社製, 5 μm, 4.6×150 mm), カラム温度: 40°C, 移動相: 2C-I, MBDB, 5-MeO-MIPT; H₂O/CH₃CN/H₃PO₄/SDS=620 mL/380 mL/1 mL/1.8 g, 3CPP 及び 5-MeO-DIPT; H₂O/CH₃CN/H₃PO₄/SDS=580 mL/420 mL/1 mL/1.7 g, BZP; H₂O/CH₃CN/H₃PO₄/SDS=510 mL/490 mL/1 mL/1.5 g. 流速: 1 mL/min, 定量法: 3) (1) と同様.

5) NMR 装置: JNM-ECA500 (日本電子(株)製), 操作周波数: 500MHz, 積算回数: 128 回, データポイント数: 65536, ウィンドウ関数: 0 Hz, 試験方法: 0~20 Hz の範囲内に検出されるサイドバンドシグナルを除き, 次いで溶媒シグナルを除いたスペクトル S/N =3 以上の目的化合物以外の水素シグナルの積分値を不純物とし, 面積法により純度を算出した.

結果及び考察

分析結果の一覧を Table 1 に示した.

1. 2C-I の純度及び不純物の推定構造

TLC 分析では, 主スポット以外のスポットを検出せず, 類縁物質は認められなかった.

GC-FID 分析では, 保持時間 6.32 分に 2C-I を検出した. また, 主ピーク以外のピークを検出せず, 類縁物質は認められなかった.

IC 分析では定性試験の結果, 2C-I は塩酸塩であることがわかった. また試料溶液中の試料濃度と塩酸塩の定量値との比較で, 塩基に結合する塩酸塩の数を求めた. そ

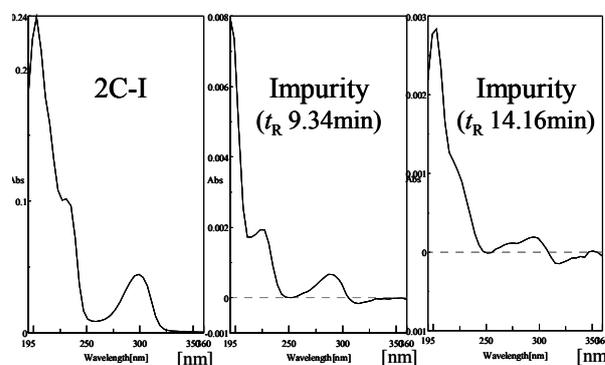


Fig. 2. UV Spectra of 2C-I and the Impurities

の結果, 二塩酸塩であることが判明した.

HPLC-PDA (A) 分析では, 保持時間 14.54 分に 2C-I を検出した. また保持時間 7.08 分及び 10.87 分に不純物のピークが認められた. すべてのピーク面積の総和に対する 2C-I 以外のピーク面積の総和の比を求めるとき, その値は 0.9%であった. 純度は 99.1%と算出された.

HPLC-PDA (B) 分析では, 保持時間 19.00 分に 2C-I を検出した. また保持時間 9.34 分及び 14.16 分に不純物のピークが認められた. すべてのピーク面積の総和に対する 2C-I 以外のピーク面積の総和の比を求めるとき, その値は 1.2%であった. 純度は 98.8%と算出された.

NMR 分析の水素シグナルによる純度測定は, 近年 LC-NMR を用いた方法が学会等³⁾で発表されている. しかし, LC-NMR 及び使用される重水素化溶媒は高価であり, 簡便な純度測定には向いていない. そこで通常の NMR 装置を用い, NMR 試料管内部での水素シグナルの存在比による純度の測定を試みた. その結果, すべてのピーク面積の総和に対する 2C-I 以外のピーク面積の総和の比を求めるとき, その値は 3.0%であった. 純度は 97.0%と算出された.

HPLC-PDA (B) 分析における保持時間 9.34 分の不純物の極大吸収は 287 nm, 227 nm 及び 216 nm, 保持時間

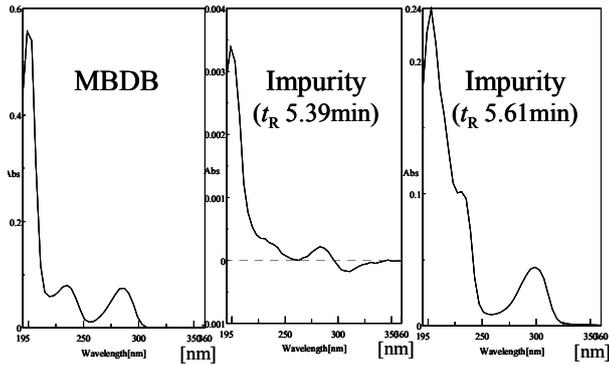


Fig. 3. UV Spectra of MBDB and the Impurities

14.16 分の不純物の極大吸収は 295 nm 及び 203 nm であった。2C-I の極大吸収は 299 nm, 231 nm, 227 nm 及び 203 nm であることから、いずれの不純物も 2C-I と同様にフェノール性の化合物であると考えられた (Fig. 2)。

2. MBDB の純度及び不純物の推定構造

TLC 分析では、主スポット以外のスポットを検出せず、類縁物質は認められなかった。

GC-FID 分析では、保持時間 6.32 分に MBDB を検出した。また、主ピーク以外のピークを検出せず、類縁物質は認められなかった。

IC 分析では定性試験・定量試験の結果から、MBDB は一塩酸塩であることが判明した。

HPLC-PDA (A) 分析では、保持時間 9.68 分に MBDB を検出した。また保持時間 2.64 分に不純物のピークが認められた。すべてのピーク面積の総和に対する MBDB 以外のピーク面積の総和の比を求めるとき、その値は 2.0% であった。純度は 98.0% と算出された。

HPLC-PDA (B) 分析では、保持時間 12.89 分に MBDB を検出した。また、保持時間 5.39 分及び 5.61 分に不純物のピークが認められた。すべてのピーク面積の総和に対する MBDB 以外のピーク面積の総和の比を求めるとき、その値は 0.8% であった。純度は 99.2% と算出された。

NMR 分析では、すべてのピーク面積の総和に対する MBDB 以外のピーク面積の総和の比を求めるとき、その値は 1.9% であった。純度は 98.1% と算出された。

HPLC-PDA (B) 分析における保持時間 5.39 分及び 5.61 分の不純物の極大吸収は 283 nm 及び 199 nm であった。MBDB の極大吸収は 287 nm, 235 nm 及び 199 nm であることから、これらの不純物は MBDB と同様に 3,4-メチレンジオキシフェニル基を持つ構造であると考えられた (Fig. 3)。

3. 5-MeO-MIPT の純度及び不純物の推定構造

TLC 分析では、主スポット以外のスポットを検出せず、類縁物質は認められなかった。

GC-FID 分析では、保持時間 10.36 分に 5-MeO-MIPT を検出した。また、主ピーク以外のピークを検出せず、類縁物

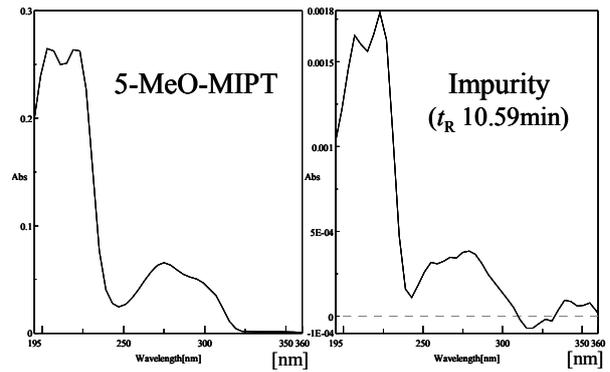


Fig. 4. UV Spectra of 5-MeO-MIPT and the Impurity

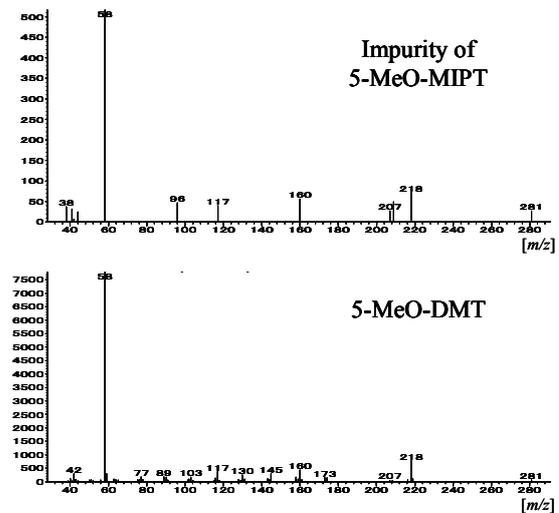


Fig. 5. Mass Spectra of Impurity of 5-MeO-MIPT and 5-MeO-DMT

質は認められなかった。

IC 分析では定性試験の結果から、5-MeO-MIPT は遊離塩基であることが判明した。

HPLC-PDA (A) 分析では、保持時間 9.79 分に 5-MeO-MIPT を検出した。また保持時間 7.27 分に不純物のピークが認められた。すべてのピーク面積の総和に対する 5-MeO-MIPT 以外のピーク面積の総和の比を求めるとき、その値は 0.5% であった。純度は 99.5% と算出された。

HPLC-PDA (B) では、保持時間 14.32 分に 5-MeO-MIPT を検出した。また保持時間 10.59 分に不純物のピークが認められた。すべてのピーク面積の総和に対する 5-MeO-MIPT 以外のピーク面積の総和の比を求めるとき、その値は 1.2% であった。純度は 98.8% と算出された。

NMR 分析では、すべてのピーク面積の総和に対する 5-MeO-MIPT 以外のピーク面積の総和の比を求めるとき、その値は 1.2% であった。純度は 98.8% と算出された。

HPLC-PDA (B) 分析における保持時間 10.59 分の不純物の極大吸収は 279 nm 及び 223 nm であった。5-MeO-MIPT の極大吸収は 275 nm 及び 219 nm であることから、不純物は 5-MeO-MIPT と同様にインドール環を持つ構造であると考えられた (Fig. 4)。また、試料を長嶋²⁾らの

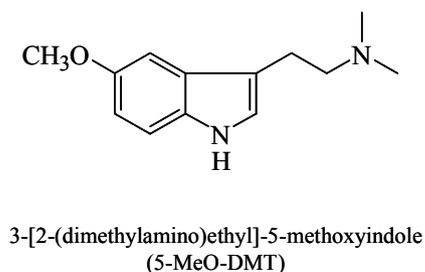


Fig. 6. Structure of Impurity of 5-MeO-MIPT

方法で分析した結果, 不純物は [(3-ジメチルアミノ)エチル]-5-メトキシインドール (以下 5-MeO-DMT) と HPLC-PDA の保持時間及び PDA スペクトルが一致した。また, GC-MS の保持時間及び MS スペクトルと一致した (Fig. 5)。以上の結果から 5-MeO-MIPT 中に 1.2%含まれる不純物は 5-MeO-DMT であることが判明した (Fig. 6)。

4. 3CPP の純度及び不純物の推定構造

TLC 分析では, 主スポット以外のスポットを検出せず, 類縁物質は認められなかった。

GC-FID 分析では, 保持時間 5.79 分に 3CPP を検出した。また, 主ピーク以外のピークを検出せず, 類縁物質は認められなかった。

IC 分析では定性試験・定量試験の結果から, 3CPP は一塩酸塩であることが判明した。

HPLC-PDA (A) 分析では, 保持時間 11.61 分に 3CPP のみを検出し, 不純物を検出できなかった。純度は 100%と算出された。

HPLC-PDA (B) 分析では, 保持時間 10.87 分に 3CPP を検出した。また, 保持時間 18.13 分に不純物のピークが認められた。すべてのピーク面積の総和に対する 3CPP 以外のピーク面積の総和の比を求めるとき, その値は 0.2%であった。純度は 99.8%と算出された。

NMR 分析では, すべてのピーク面積の総和に対する 3CPP 以外のピーク面積の総和の比を求めるとき, その値は 0.6%であった。純度は 99.4%と算出された。

本品については, 純度が高く不純物の含有量が少ないことから, 不純物の構造を追跡することは困難であった。

5. 5-MeO-DIPT の純度及び不純物の推定構造

TLC 分析では, 主スポット以外のスポットを検出せず, 類縁物質は認められなかった。

GC-FID 分析では, 保持時間 13.04 分に 5-MeO-DIPT を検出した。また, 主ピーク以外のピークを検出せず, 類縁物質は認められなかった。

IC 分析では定性試験・定量試験の結果から, 5-MeO-DIPT は一塩酸塩であることが判明した。

HPLC-PDA (A) 分析では, 保持時間 9.22 分に 5-MeO-DIPT を検出した。また保持時間 1.29 分, 1.80 分, 7.21 分

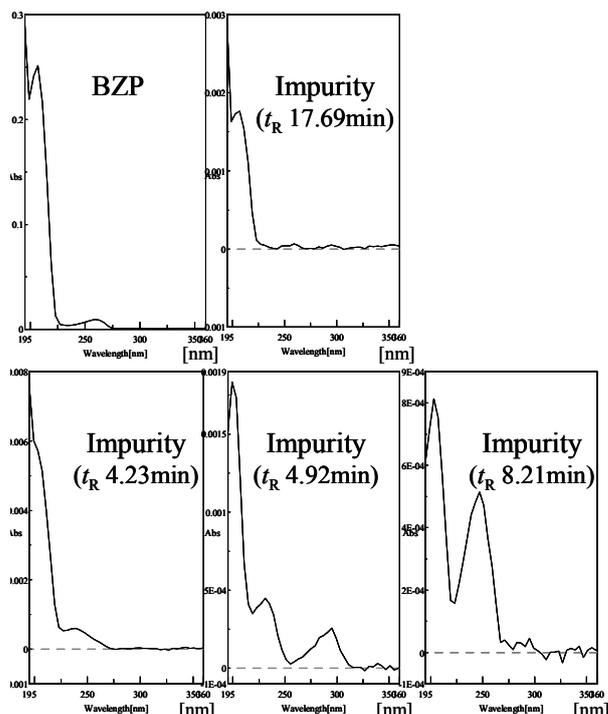


Fig. 7. UV Spectra of BZP and the Impurities

及び 8.28 分に不純物のピークが認められた。すべてのピーク面積の総和に対する 5-MeO-DIPT 以外のピーク面積の総和の比を求めるとき, その値は 0.3%であった。純度は 99.7%と算出された。

HPLC-PDA (B) 分析では, 保持時間 12.24 分に 5-MeO-DIPT を検出した。また, 保持時間 2.31 分, 3.25 分, 6.32 分, 8.93 分, 10.91 分及び 27.11 分に不純物のピークが認められた。すべてのピーク面積の総和に対する 5-MeO-DIPT 以外のピーク面積の総和の比を求めるとき, その値は 0.5%であった。純度は 99.5%と算出された。

NMR 分析では, すべてのピーク面積の総和に対する 5-MeO-DIPT 以外のピーク面積の総和の比を求めるとき, その値は 0.7%であった。純度は 99.3%と算出された。

本品についても, 純度が高く不純物の含有量が少ないことから, 不純物の構造を追跡することは困難であった。

6. BZP の純度及び不純物の推定構造

TLC 分析では, 主スポット以外のスポットを検出せず, 類縁物質は認められなかった。

GC-FID 分析では, 保持時間 6.11 分に BZP を検出した。また, 主ピーク以外のピークを検出せず, 類縁物質は認められなかった。

IC 分析では定性試験の結果から, BZP は遊離塩基であることが判明した。

HPLC-PDA (A) 分析では, 保持時間 9.79 分に BZP を検出した。また保持時間 2.35 分, 2.97 分, 3.20 分及び 17.75 分に不純物のピークが認められた。すべてのピーク面積の総和に対する BZP 以外のピーク面積の総和の比を求めるとき, その値は 1.7%であった。純度は 98.3%と算出された。

HPLC-PDA (B) では、保持時間 9.83 分に BZP を検出した。また、保持時間 4.23 分、4.92 分、8.21 分及び 17.69 分に不純物のピークが認められた。すべてのピーク面積の総和に対する BZP 以外のピーク面積の総和の比を求めるとき、その値は 2.2%であった。純度は 97.8%と算出された。

NMR 分析では、すべてのピーク面積の総和に対する BZP 以外のピーク面積の総和の比を求めるとき、その値は 8.2%であった。純度は 91.8%と算出された。

HPLC-PDA (B) 分析による保持時間 17.69 分の不純物の極大吸収は 259 nm 及び 207 nm であった。BZP の極大吸収は 259 nm 及び 207 nm であることから、この不純物は BZP と同様にベンジル基を持つ構造であると考えられた。一方、保持時間 4.23 分の不純物の極大吸収は 295 nm、239 nm 及び 227 nm、保持時間 4.92 分の不純物の極大吸収は 295 nm、231 nm 及び 219 nm、また保持時間 8.21 分の不純物の極大吸収は 203 nm、223 nm 及び 247 nm であることから、これらの不純物は BZP と異なる置換基を持つ構造であることが推察された (Fig. 7)。

ま と め

知事指定薬物の検討段階で生体影響試験に使用した薬物について、各種分析データを用いて純度及び存在形態につ

いての算出を行った。また、これらの標準品に含まれる不純物について、化学構造を明らかにすることを試みた。その結果、TLC及びGC-FID分析では、主スポット及び主ピーク以外は検出されず、類縁物質は認められなかった。IC分析では、化合物によって塩類の存在形態が異なることが明らかになった。HPLC-PDA及びNMR分析では、すべての試料で純度は90%以上と算出された。薬物中に含まれる微量の不純物の多くは、標準品と同様の置換基を持つ構造であることが推察された。また、5-MeO-MIPTに含まれる微量の不純物は5-MeO-DMTであることが判明した。指定される薬物は今後も増加していくことが予想されることから、より詳細な分析が必要であると考えられる。

文 献

- 1) 日本薬学会編：薬毒物化学試験法と注解，第 4 版，275-277，1992，南山堂，東京。
- 2) 長嶋真知子，瀬戸隆子，高橋美佐子，他：東京健安研セ年報，54，51-55，2003。
- 3) 井原俊英，齊藤剛，清水由隆，他：“LC-NMR によるフタル酸エステル類の純度測定”，日本分析化学会第 62 回学術討論会，2001。