

いわゆる「合法ドラッグ」中に含有する医薬品成分の分析

高速液体クロマトグラフィーによる塩酸ヨヒンピンの定量

宮 武 ノリア*, 安 田 一 郎*, 三 宅 啓 文*, 守 安 貴 子*,
中 嶋 順 一*, 岸 本 清 子*, 上 村 尚*

Qualitative and Quantitative Analysis of Yohimbine in Products So-called Legal Drug by High Performance Liquid Chromatography and Capillary electrophoresis

NORIE MIYATAKE*, ICHIRO YASUDA*, HIROFUMI MIYAKE*, TAKAKO MORIYASU*,
JUN-ICHI NAKAJIMA*, KIYOKO KISHIMOTO* and HISASHI KAMIMURA*

Keywords : いわゆる「合法ドラッグ」 products so-called legal drug, ヨヒンピン yohimbine, 高速液体クロマトグラフィー HPLC, 定性試験 qualitative analysis, 定量試験 quantitative analysis, キャピラリー電気泳動 capillary electrophoresis

緒 言

最近, いわゆる「合法ドラッグ」と呼ばれるもの(以下「合法ドラッグ」とする)が問題になっている。「合法ドラッグ」とは, 麻薬や覚せい剤のように, 快感や多幸感が得られるとして市場に出回っている栄養補助食品の一種である。そしてこれらは麻薬や覚せい剤でないため使用しても法に抵触せずに目的の効果を期待できる, つまり「合法」であるとして販売されている。一方, 「合法ドラッグ」に対する一般的な概念は定まっておらず, 現在のところはマスコミや販売側の呼称がそのまま通用しているのが現状である。薬事行政側はこの点を問題として, 「脱法ドラッグ」という呼び名を最近使用している。

「合法ドラッグ」が我が国の市場に登場しはじめたのは1995年夏頃といわれており, 繁華街の店舗やアダルトショップで販売されている。また最近ではインターネット上でも多くみられるようになってきている。これらは最近出回り始めた商品であるため, その実態は不明な点が多い。さらにまた, 効果を高めるために医薬品を添加している可能性があり, 問題視されている。

このような状況下, 衛生局薬務部は薬事監視業務の一環として, 平成8年から「合法ドラッグ」の実態調査を目的として, 都内で販売されている製品の調査を実施し, 当科で成分の分析を行ってきた。その結果, 本来食品中

に存在してはならない医薬品成分を含有するものがあつた。今回, それらのうちから, ヨヒンピンについて報告する。

ヨヒンピン(YOH)は図1に示したようなインドール誘導体のアルカロイドで, アフリカ西部に自生する常緑高木, アカネ科の *Pausinystalia yohimbe* (= *Corynanthe johimbe*) の樹皮から抽出され, 現地ではヨヒンベ(yohimbe)とよばれており, 古くから催淫薬として用いられてきた。ヨヒンベの主成分は1896年にSpiegelによって単離され, ヨヒンピン(yohimbine)と命名された。¹⁾ 我が国では, 塩酸ヨヒンピンは強精強壮薬として医薬品に用いられている。

YOHの分析は, 薄層クロマトグラフィー(TLC)²⁾, ガスクロマトグラフィー(GC)³⁾, 高速液体クロマトグラフィー(HPLC)⁴⁻⁶⁾による方法が報告されている。一方「合法ドラッグ」は, そのほとんどが成分の表示が無

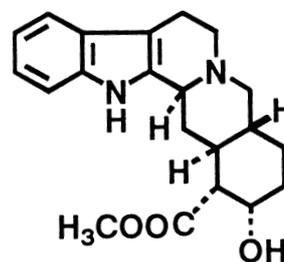


図1. ヨヒンピンの化学構造

* 東京都立衛生研究所理化学部医薬品研究科 169-0073 東京都新宿区百人町3-24-1

* The Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health

く、また表示があっても正確性に欠く場合があり、これらは試験をしてみなければ実際のところ判らないものが多い。従って、確認試験を行うには、測定原理の異なる複数の試験法を行って判断することが不可欠である。今回、確認試験としてHPLC及びキャピラリー電気泳動(CE)で検討を行い、その両者でYOHが検出した製品についてHPLCで定量試験を行った。また、併せて抽出法の検討を行ったので報告する。

実験方法

1. 試薬及び試料

標準品のYOHは東京化成(株)製の試薬特級(純度99%以上)塩酸ヨヒンピン(YOH-HCl)を用いた。ラウリル硫酸ナトリウム(SDS)はナカライテスク(株)製生化学用特製試薬を使用した。その他の試薬は和光純薬工業(株)又はナカライテスク(株)製の特級を用いた。試料は平成9年6月から平成12年2月までに、薬事監視員が都内の店舗で試買購入した「合法ドラッグ」103製品とした。それらの内訳は、錠剤及び錠剤様製品28検体、カプセル様製品17検体、液剤製品48検体、ティーバッグ様の茶剤3検体、粉末製品7検体であった。

2. 定性試験

2-1 標準溶液及び試料溶液の調製

標準溶液はYOH-HClを0.05mol/L塩酸に溶かし20ppmの濃度とした溶液を使用した。試料溶液は、固形剤のうち錠剤及び軟カプセル剤は1個を少量を加えて超音波処理し崩壊させた後、0.05mol/L塩酸25mLを加え、30分間振とう抽出した後、遠心分離し、上澄液をメンブランフィルターでろ過したものを試料溶液とした。硬カプセル剤は1個の内容物を取り出し0.05mol/L塩酸25mLを加えて、粉末製品は0.5gに0.05mol/L塩酸25mLを加えて、ティーバック状茶剤の製品は1袋の内容物を取り出し、出来るだけ粉末にした後、0.05mol/L塩酸25mLを加えて、以下固形剤と同様の抽出操作をした。液剤は、0.05mol/L塩酸で10倍に希釈した液をふり混ぜた後、必要なら遠心分離し、上澄液をメンブランフィルターでろ過したものを試料溶液とした。

2-2 CE法

装置はヒューレット・パカード(HP)のキャピラリー電気泳動システム(HP^{3D})を用いた。測定条件:キャピラリーは内径50 μ m×長さ64.5cm(有効長56cm)のフューズドシリカキャピラリー(HP)を使用した。キャピラリー温度25 $^{\circ}$ C、泳動電圧+30kV、注入は加圧法で40mbarで5秒間とし、検出はフォトダイオードアレイ検出器を用い、検出波長220nm(バンド幅16nm、

Ref.off)で行った。泳動液は50mmol/Lリン酸塩緩衝液(pH 2.5)(HP)を用いた。分析毎のプレコンディショニングは泳動液で4分間とした。

2-3 HPLC法

装置及び測定条件は定量試験の項に記載した方法と同様である。

3. HPLCによる定量試験

3-1 装置:日本分光工業(株)、ポンプ880-PU、検出器870-UV、カラムオープン860-CO、オートサンプラー850-ASを用いた。インテグレーターは(株)島津製作所クロマトパックC-R6Aを用いた。

3-2 測定条件:カラムはTSKgel ODS-120T(4.6mmI.D.×15cm)((株)東ソー)を使用した。カラム温度は40 $^{\circ}$ C、検出波長は272nmで行った。移動相はアセトニトリル・水・リン酸(450:550:0.7)混液にSDSを6.0g添加したものを使用し、流速は1.0mL/minとした。注入量は5 μ Lとした。

3-3 標準溶液の調製及び検量線の作成:YOH-HClを移動相溶液に溶解し10~30ppm溶液を調製し、その5 μ LをHPLC測定条件に従って注入し、得られたピーク面積から、検量線を作成した。

3-4 試料溶液の調製及び定量:試料のうち、液剤製品は混和したのちそのままを、錠剤様の固形製剤は平均重量を測定した後均一な粉末とし使用した。YOH-HClとして約1mg対応量を精密に秤り、移動相溶液40mL加えて10分間超音波処理を行った後30分間振とう抽出した。移動相溶液を加えて正確に50mLとした後遠心分離し、上澄液を0.45 μ mのメンブランフィルターでろ過し、ろ液を試料溶液とした。その5 μ Lを注入し、得られたピーク面積から検量線により定量した。

結果及び考察

1. 定性試験

「合法ドラッグ」の定性試験は、TLC、GC、GC/MS、HPLCのうち複数の試験法を組み合わせで行っている。今回、簡便性・迅速性で注目されている新しい試験法であるCEを新たに検討し、確認試験としてHPLCと併行した。

1-1 CE法:通常、アルカロイドは窒素を分子内に持つ塩基性物質であるので、酸性でイオン化する。したがって泳動液はpH2.5のリン酸塩緩衝液を使用した。カラムは一般的に使用されているフューズドシリカキャピラリーを使用した。泳動電圧はpositiveで30kVとした。得られた泳動時間及びスペクトルを標準溶液と比較することにより、YOHの確認を行った(泳動時間:約8分、

吸収スペクトル極大波長：220nm及び272nm)。更に、試料溶液に標準溶液を加えて添加試験を行い、確認試験とした。

検出限界濃度は、スペクトルが確実に得られることを条件としたとき、2 ppmであった。一方、YOHの薬用量は1回5～10mgである⁷⁾。これから、固形剤の場合1個当たり50 µg以上含有しているものが検出可能であり、確認試験として十分対応できると考える。

本法は共存が予想される他のアルカロイドであるエフェドリン及びピロカルピンの妨害は認められなかった。しかもこれらの確認試験も同時に行うことが可能であった。泳動時間は、ヨヒンビン8.3分の時、ピロカルピン6.2分、エフェドリン6.4分である。

1-2 HPLC法：CEに用いた試料溶液を使用して同時にHPLCで確認試験を行った。条件は定量試験と同様の条件で行った。

「合法ドラッグ」は一般的に高額で、一包装単位量が小さく検体量が少ない。試料を抽出する際、0.05mol/L塩酸抽出は移動相で抽出した場合に比べて抽出率がわずかに低下するが、検体量の制約から、CEの試料溶液をHPLCでも使用することとした。確認は標準溶液との保持時間(14.2分)の比較により行った。

1-3 試験結果：試験した103検体の製品形態は多岐にわたっていた。また、これらはすべてが輸入品で、ほとんどは米国からのものであり、他にドイツ、フランス、オランダなどからの輸入品であった。

CE及びHPLCで共に確認された場合にYOHが検出すると判断した。その結果、103製品中6製品からYOHが検出された。これらのもののうち、4検体は製品中にヨヒンペとヨヒンビンの存在を示す表示があったが、2製品は表示は無かった。なお、何らかのかたちでYOHの表示があるにもかかわらず、検出されなかったものが2製品あった。

2. HPLCによる定量試験

2-1 測定条件の検討：YOHのHPLC分析法は生体内

表1 移動相中のSDS濃度が保持時間及びピーク面積に及ぼす影響

SDS濃度 (g/L)	保持時間(分)		ピーク面積(µV.s)	
	平均	CV(%)*	平均	CV(%)*
2.88	11.57	0.03	116187	1.7
5.76	14.21	0.04	115170	0.6
8.64	15.47	0.04	115360	0.7

* n=6

中^{4), 5)}あるいは医薬品製剤中⁶⁾の定量分析として既に報告されている。これらは逆相系ODSカラムを用いて、イオン抑制法⁵⁾又はヘプタンスルホン酸ナトリウム⁴⁾やオクタンスルホン酸ナトリウム⁶⁾を用いてイオンペアー法で行っている。今回、逆相系ODSカラムを用い、移動相はアセトニトリル・水・リン酸系にイオンペアー試薬として、ラウリル硫酸ナトリウム(SDS)を用いて検討を行ったところ、定量の頑健性にはSDS濃度が関係していた。そこで、アセトニトリル・水・リン酸(450:550:0.7)混液にSDS濃度を種々変化させたときのピーク面積のばらつきをYOH-HClの20ppm溶液を用いて検討した。その結果を表1に示した。SDSが2.88g/Lでは保持時間は11.57分、ピーク面積の再現精度はCV値1.7%(n=6)であったが、5.76g/Lに増量すると再現性は良好な値を示した(CV値0.6%)。8.64g/Lでは再現性は同程度であったが(CV値0.7%)、保持時間が増大した(15.47分)。以上より、SDS添加量は6.0g/Lとした。

次に、カラムの種類による影響を検討した。TSKgel ODS-120T(4.6mmI.D.×15cm)(株東ソー)とL-column ODS(4.6mmI.D.×15cm)(財化学物質評価研究機構)を用いて比較したところ、両者の差は見られなかったため、今回はTSKgel ODS-120Tを用いた。検出はUV検出器を使用し、検出波長はYOHの極大吸収波長である272nmで行った。クロマトグラムを図2に示した。

2-2 抽出溶媒の検討：YOHのHPLC分析法の既報には、抽出溶媒の検討を行った報告は無い。そこで、抽出法の検討を行った。YOH-HClを用いて、表2に示した種々抽出溶媒の20ppm溶液を調製し、上記HPLC条件で分析し、得られたピーク面積の最大値を100としたとき

表2 各種溶媒によるヨヒンビンの抽出効果

溶媒	抽出率(%)*
移動相溶液**	100
アセトニトリル・水・リン酸(450:550:0.7)	98.0
0.1mol/L塩酸・メタノール(1:1)	97.5
0.1mol/L塩酸	92.8
1 mol/L塩酸	89.0
アセトニトリル	60.2
メタノール	58.6
50%メタノール	22.1
50%アセトニトリル	16.8
水	3.5

* 移動相溶液での抽出効果を100%として表記した。

** アセトニトリル・水・リン酸(450:550:0.7)にSDSを6.0g添加した液。

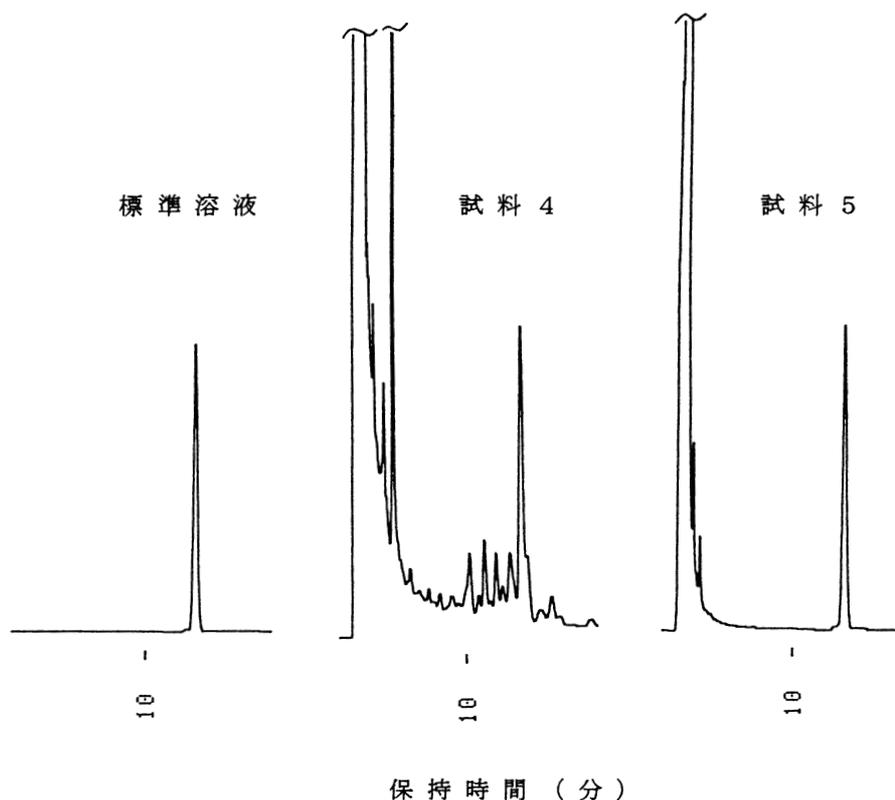


図2. ヨヒンピンのHPLCクロマトグラム
HPLC条件は本文に記載

の各溶媒のピーク面積の割合を比較した。その結果、酸性の水/溶媒系が良好であり、さらにSDSを加えたリン酸酸性の水/アセトニトリル系の移動相溶液が最も良好な結果を示した。そこで次に抽出溶媒のSDS濃度の検討を行った。SDS濃度を2.88g/L、5.76g/L及び8.64g/Lに変化させて比較したところ、5.76g/L以上でピーク面積に差はなく再現性も良好であった。以上の結果より、試料抽出は移動相で行うこととした。アルカロイドのHPLC分析の抽出溶媒にSDS含有液が高い抽出効率を示すことはすでに報告があり^{8)・9)}、YOHも同様の傾向が認められた。

2-3 回収率：試料4及び5を用いて回収率の測定を

行った。均一な粉末にした試料にYOH-HClを添加し、移動相溶液を加え10分間超音波処理した後30分間振とうの抽出操作を行ったところ、回収率は98.2%及び99.8%であった。

2-4 検量線及び再現性：YOH-HClの10、20、30、40 ppmの移動相溶液を用いて検量線を作成したところ、相関係数は0.9999以上の良好な直線性が得られた。

2-5 定量結果：本法を用いて、YOHが検出された6製品の定量試験を行った結果を表3に示した。また標準溶液と試料4及び5のクロマトグラムを図2に示した。今回試験した製品のうち、錠剤1個中5.56mgのYOH-HClを含有する製品が発見された。これは、YOHの薬用量

表3 ヨヒンピンを検出した製品及び試験結果

番号	商品名	剤型	包装単位* ¹	表示の有無	確認試験* ²	含量* ³
1	LIQUID X	液剤	54mL	無し	+	0.16mg/mL
2	Aphrodite Blend	茶剤	23.4g	有り (Yohimbe)	+	1.17mg/g
3	PLANET X	錠剤	5粒(0.83g)	有り (Yohimbe)	+	0.10mg/個
4	Climaxx	楕円粒	20粒(1.16g)	有り (Yohimbe)	+	0.80mg/個
5	riruare spirit	錠剤	10粒(0.84g)	有り (Yohimbe)	+	1.45mg/個
6	one night heven	三角形錠剤	5粒(0.65g)	無し	+	5.56mg/個

*1：()内は1個当たりの重量を示す。

*2：+はCE及びHPLCいずれでも検出したものを表す。

*3：塩酸ヨヒンピンとして表す。

(5~10mg)⁷⁾とほぼ同量が含有されていることになる。「合法ドラッグ」は栄養補助食品として扱われているから、医薬品のように服用量は定められていない。従って、間違った使用から起こる健康被害の発生が懸念される。

ま と め

YOHの定性・定量試験法を確立し、都内に流通する「合法ドラッグ」の試験を実施した。

定性試験法としてCEを検討した結果、試料を塩酸溶液で抽出するだけの簡単な操作で、共存成分の妨害もなく、簡便で迅速な試験法として有用であり、HPLCと併行して行う試験法として有効であることが確認された。

YOHの定量法をHPLCで検討した結果、ODS系カラムを用いて、イオンペア試薬のSDS添加量を6.0g/Lにすることにより、精度良く定量することが可能であった。また、抽出溶媒は移動相溶液が良好であった。

試験した「合法ドラッグ」103製品中6製品に、医薬品にしか使用が認められていないYOHが検出された。YOHが検出されたものは、含有量の如何にかかわらず、無承認無許可医薬品として薬事法違反となる。しかもこれらの中には薬用量を含有するものもあった。「合法ドラッグ」を食品の感覚で一度に多量を飲用することにより、あるいは長期に連用することにより、健康被害を引き起こすことが危惧される。また、最近問題になっている他薬剤との併用によって起こりうる思わぬ事故の発生が懸念される。

YOHが検出した製品に対しては、薬務部薬事指導課により輸入販売の停止・回収の措置がなされ、また消費者へ商品名等の情報提供と購入や使用の中止の呼びかけ

が行われたが、さらに今後も監視を行う必要があると考えている。

謝辞 本報文に用いた「合法ドラッグ」の試買購入に際し、ご尽力くださった衛生局薬務部薬事指導課監視指導係の方々に深謝致します。

(本研究の一部は第35回全国衛生化学技術協議会年会1998年10月で発表した。)

文 献

- 1) 船山信次：アルカロイド，91-93，1998，共立出版株式会社，東京。
- 2) Klyushnichenko, E., Yakimov, A., Tuzova, P., *et al.* : *J. Chromatogr. A*, **704**, 357-362, 1995.
- 3) Betz, J.M., White, K.D., Der-Marderosian, A.H. : *J. AOAC Int.*, **78**, 1189-1194, 1995.
- 4) Chiba, R., Shinriki, M., Ishii, Y., *et al.* : *An. al. Sci.*, **14**, 975-978, 1998.
- 5) Reimer, G., Suarez, A., and Chui, Y.C. : *J. Anal. Toxicol.*, **17**, 178-181, 1993.
- 6) Chiba, R., Ishii, Y. : *J. Chromatogr.*, **588**, 344-347, 1991.
- 7) 薬事研究会編：規制医薬品事典第5版，560，1996，株式会社薬業時報社，東京。
- 8) 相楽和彦，須藤桂一，伊藤祐二，他：医薬品研究，**27**，255-261，1996。
- 9) 安田一郎，塩田寛子，濱野朋子，他：東京衛研年報，**48**，71-75，1997。