

植物系ドラッグ中の向精神作用を有する成分の分析

浜野 朋子*, 塩田 寛子*, 中嶋 順一*, 安田 一郎*

Analysis of Psychotropic Components in Commercial Botanical Drugs

Tomoko HAMANO*, Hiroko SHIODA*, Junichi NAKAJIMA* and Ichiro YASUDA*

An effective screening method with a small sample for the detection of botanical and chemical psychotropic components in commercial botanical drugs was established. Alkaloids were extracted by strong acid and treated with a small volume pre-column. Salvinorin A (Sal.A), its non-alkaloid, was extracted immediately from the residue treated with strong acid. Alkaloids and Sal.A in each of the treated samples were successfully detected by TLC, LC/PDA, LC/MS and/or GC/MS. As a result of the analysis of commercial botanical drugs, it was revealed that the products mixed with the psychotropic components, not only botanical but also chemical, were distributed actually.

Keywords : 植物系ドラッグ commercial botanical drugs, 向精神作用性成分 psychotropic components, 薄層クロマトグラフィー TLC, 液体クロマトグラフィー/フォトダイオードアレイ LC/PDA, 液体クロマトグラフィー/質量分析 LC/MS, ガスクロマトグラフィー/質量分析 GC/MS, スクリーニング法 screening method, 確認 identification

はじめに

東京都の最近の脱法ドラッグ市場は、いわゆる脱法ドラッグ条例¹⁾に基づき化学成分が知事指定薬物²⁾として規制された影響を受け、化学系ドラッグに替わり植物系ドラッグが台頭するようになってきた。植物系ドラッグには、植物の形態が明らかなものもあるが、表示等から素材が植物であると類推されるもの、粉末や抽出物等様々な形状に加工され、元の形態を留めていないものも多数ある。東京都が実施している脱法ドラッグの試買調査においても、このような形状の製品から、幻覚作用や精神賦活作用等の向精神作用を有する植物や化学成分が混入されたものがしばしば見出されている。また、平成18年7月に大阪で起きたドラッグ服用による大学生の転落死事故では、マジックマッシュルームの含有が推測された当該品から、その由来成分ではなく化学成分の5-MeO-MIPTが検出された。こういった状況から、形態の明らかでない植物系ドラッグに含有される成分については、特に注意が必要になってきている。

植物系ドラッグに混入が懸念される植物の作用成分や化学成分の多くはアルカロイドであるが、喫煙系ドラッグの主流となっているサルビアは、非常に強い幻覚作用を持ちながら、作用成分はアルカロイドではない³⁾。一方、植物系ドラッグは包装単位の小さいものが多く、試験には少ない試料で対応せざるを得ない。そこで今回、性質の異なる多種の向精神作用性の成分を少量の試料から効率的に検

出することを目的として、TLCとLC/PDAを併用したスクリーニング法とMS(LC又はGC)を用いた確認法について検討を行った。また、これを実際の製品に適用して流通品の実態調査を行ったので、その結果を併せて報告する。

実験方法

1. 実験材料

1) 植物 マオウ (*Ephedra sinica*)、ウバタマ (*Lophophora williamsii*)、ダツラ (*Datura tatula*) 種子、ハルマラ (*Peganum harmala*) 種子、コカ (*Erythroxylum coca*) 葉、ヨヒンベ (*Pausinystalia yohimbe*) 樹皮、サルビア (*Salvia divinorum*) 葉、以上 7種。

2) 植物系ドラッグ製品 平成17年3月～平成18年2月、都内店舗及びインターネットでの購入品 47種。

2. 標準品及び試薬

1) 植物由来成分 エフェドリン塩酸塩 (Ephe, マオウ由来)、メスカリン (Mes, ウバタマ由来)、アトロピン硫酸塩 (Atro) 及びスコポラミン臭化水素酸塩 (Scop) (ダツラ種子由来)、ハルミン (Har) 及びハルマリン (Harm) (ハルマラ種子由来)、ヨヒンビン (Yohi, ヨヒンベ由来)、コカイン塩酸塩 (Coca, コカ葉由来)、サルビノリンA (Sal.A, サルビア葉由来) (Fig.1)、以上9成分。

Mes及びSal.Aは植物より単離精製した標準品、他は試薬

* 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, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073 Japan

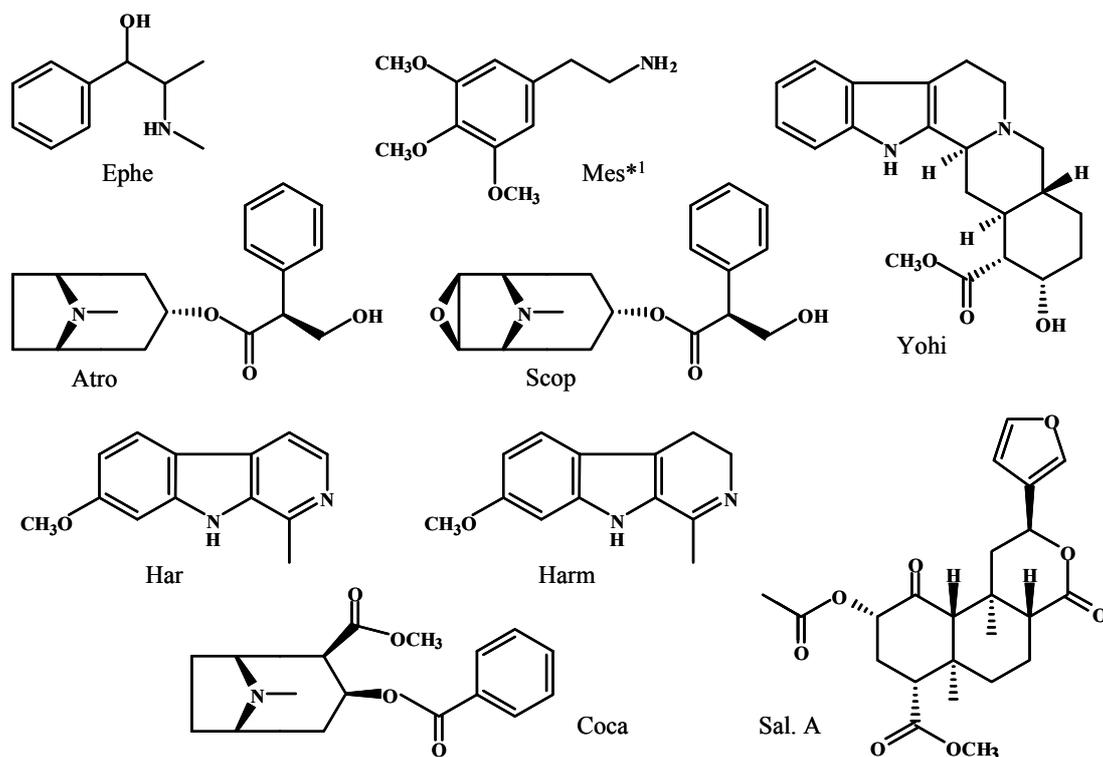


Fig.1. Structures of Botanical Compounds

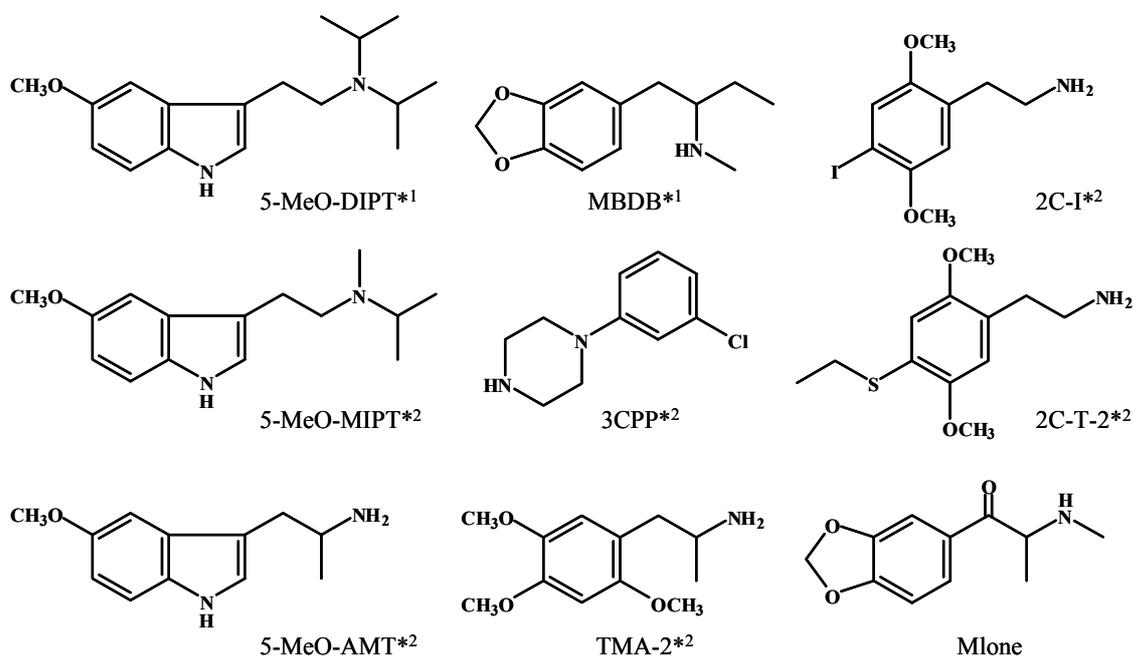


Fig.2. Structures of Chemical Compounds

*1 : narcotics

*2 : Governor-designated Drug

メーカーが販売する標準品を使用した。

2) 化学成分 5-MeO-DIPT, MBDB, 2C-I, 5-MeO-MIPT, 3CPP, 5-MeO-AMT, TMA-2, 2C-T-2, Methylone (Mlone) (Fig.2), 以上9成分。

いずれも当科所有の精製品を標準品として用いた。

なお, Mes, 5-MeO-DIPT, MBDB, 3CPP, TMA-2は麻薬,

5-MeO-MIPT, 5-MeO-AMT, 2C-I, 2C-T-2は知事指定薬物である。

3) その他の試薬 すべて特級品を使用した。

3. 分析装置

LC/PDA : Waters 製 Alliance HPLC System (2690 セパレーター)

ションモジュール, 996PDA 検出器, ミレニアムワークステーション)

LC/MS : Jasco International 製 Quatro Ultima

GC/MS : Thermo Eletron 製 Focus DSQ

4. 試料溶液の調製

1) 植物 粉末とした試料約 500 mg を取り, メタノール 10 mL を加えて 30 分間超音波抽出後遠沈, ろ過し, ろ液を LC 用試料溶液とした。

2) 植物系ドラッグ製品 粉末とした試料約 50 mg を取り, 0.2 mol/L 塩酸 3 mL を加えて 20 分間超音波抽出後遠沈し, 上澄はアルカロイド検索用, 残渣は Sal.A 検索用の試料溶液の調製に用いた。

すなわち, 上澄はアンモニアアルカリ性として, EXtrelut NT-3 (Merck 製) に付加, 15 分間放置後クロロホルム 30 mL で溶出した。減圧下で濃縮乾固し, 残留物をメタノール 2.5 mL に溶かし, その一部をアルカロイド検索用の LC/PDA 及び LC/MS 用試料溶液, 残りを濃縮して TLC 用試料溶液とした。

一方, 遠沈後の残渣には, 直ちに酢酸エチル 5 mL を加えて 30 分間超音波抽出を行い, ろ過後, ろ液を減圧下で濃縮乾固し, 残留物をメタノール 1.0 mL に溶かして, 一部を Sal.A 検索用の LC/PDA 及び GC/MS 用試料溶液, 残りを濃縮して TLC 用試料溶液とした (Fig.3)。

5. アルカロイド検索用分析条件

1) TLC 薄層板 : Merck 製 Silica gel 60F₂₅₄, 展開溶媒 : ①クロロホルム/メタノール/アンモニア水 (75 : 25 : 2), ②1-ブタノール/水/酢酸 (7 : 1 : 2), 検出方法 : ①UV 365 nm 照射, ②ドラーゲンドルフ試薬噴霧, ③ニンヒドリン試薬噴霧後加熱。

2) LC/PDA カラム : 東ソー製 TSKgel ODS-100S, 4.6 I.D.×150 mm, カラム温度 : 40°C, 移動相及びグラジエント

条件 : 5 mM ヘプタフルオロ酪酸を含有する水/アセトニトリル (90 : 10) (0 分) → (74 : 26) (50-55 分), 流速 : 1.0 mL/min, 検出波長 : 210 nm (PDA 200-400 nm), 注入量 : 10 µL。

3) LC/MS カラム, カラム温度及び移動相は LC/PDA と同様。ただし, カラムサイズは 2.0 I.D.×150 mm. 流速 : 0.2 mL/min, イオン化法 : ESI+, イオン源温度 : 120°C, デソルベーション温度 : 400°C, コーン電圧 : 65 V, キャピラリー電圧 : 3.0 kV, 注入量 : 1µL。

6. Sal.A 検索用分析条件

1) TLC 薄層板 : Merck 製 Silica gel 60F₂₅₄, 展開溶媒 : ヘキサン/酢酸エチル (1 : 1), 検出方法 : 10%硫酸噴霧後加熱。

2) LC/PDA カラム : 東ソー製 TSKgel ODS-80T₃, 4.6 I.D.×150 mm, カラム温度 : 40°C, 移動相及びグラジエント条件 : 水/アセトニトリル (70 : 30) (0 分) → (20 : 80) (30-34 分), 流速 : 1.0 mL/min, 検出波長 : 208 nm (PDA 200-400 nm), 注入量 : 10 µL。

3) GC/MS カラム : Agilent 製 HP-5 (0.25mm i.d.×30m, 膜厚 0.25 µm), カラム温度 : 50°C(1min) - (20°C/min) - 300°C (10min), イオン化法 : EI, イオン化電圧 : 70eV, 注入口温度 : 250°C, 注入法 : スプリット, 注入量 : 2µL。

結果及び考察

1. アルカロイドの確認

アルカロイドを少量の試料から効率的に抽出するため, 小容量のEXtrelutを用いた前処理を行い, 得られた試料溶液をLC及びTLCの双方に供した。

Fig.4 に, 標準品の TLC 結果を示した。展開後, ドラーゲンドルフ試薬の噴霧により, ほとんどのアルカロイドを検出することができたが, Ephe 及び Mes はニンヒドリン試薬により感度良く発色し, Har 及び Harm は UV365nm 照射下で強い蛍光を発し, いずれも特異的な検出法として有用であった。TLC 法によるスクリーニングでは, R_f 値の近接する成分を識別するために, 2 種類の展開溶媒と 3 種類の検出方法を組み合わせることが有効と考えられた。

長嶋ら⁴⁾ は, LC/MS 法として移動相にヘプタフルオロ酪酸を用いた方法を報告している。LC でスクリーニングした後, LC/MS 法により確認を行うことを考慮し, LC 条件を長嶋らの方法をもとにして検討した。その結果, Sal.A を除く 17 成分を良好に分離できるグラジエント条件を確立することができた。また, 検出器に PDA を使い, ピーク情報として UV スペクトルを得ることで, 近傍に出現するピークとの選択性を高めることとした (Fig.5)。

成分の確認は LC/MS 法により行った。コーン電圧が 65V のとき, 17 成分全てに良好な TIC が得られ, この条件下におけるフラグメンテーション (Fig.6) と t_R との比較により, 各成分の精度良い確認が可能であった。

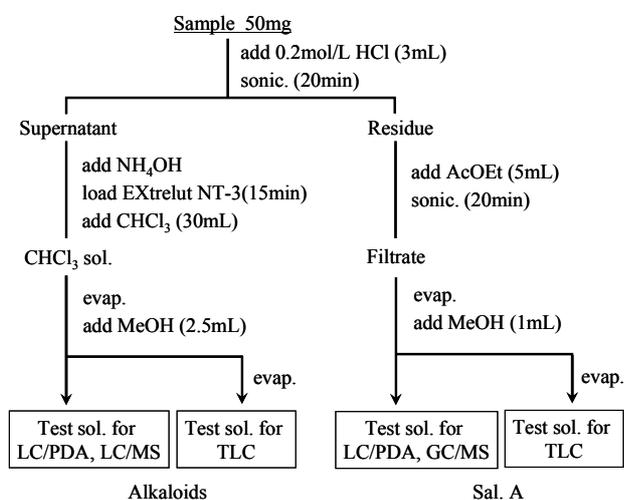


Fig.3. Flow Diagram of Preparation for Test Solution

Alkaloids : Ephe, Mes, Atro, Scop, Har, Harm, Yohi, Coca

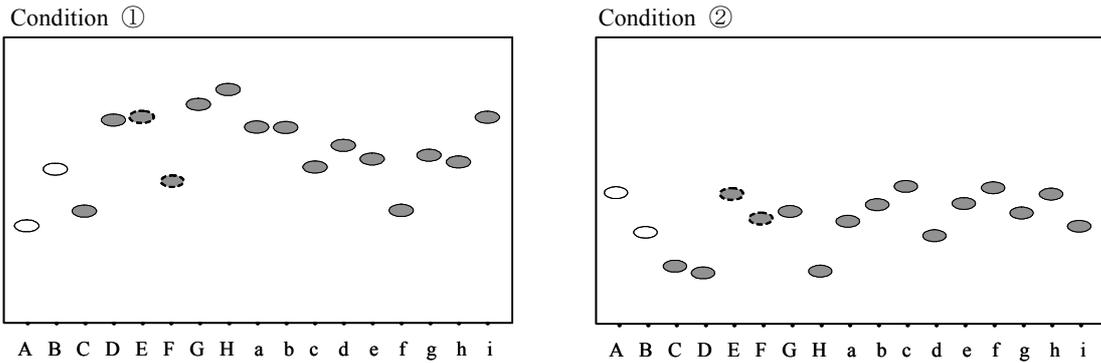


Fig.4. TLC Chromatograms of Standards

●:orange(Dragendorff's reagent) ○:dark violet(Ninhydrin reagent) ◌: pale blue fluorescence(UV365nm)
 A:Ephe, B:Mes, C:Atro, D:Scop, E:Har, F:Harm, G:Yohi, H:Coca
 a: 5-MeO-DIPT, b:MBDB, c:2C-I, d:5-MeO-MIPT, e:3CPP, f:5-MeO-AMT, g:TMA-2, h:2C-T-2, i:Mlone
 TLC conditions were described in the experimental.

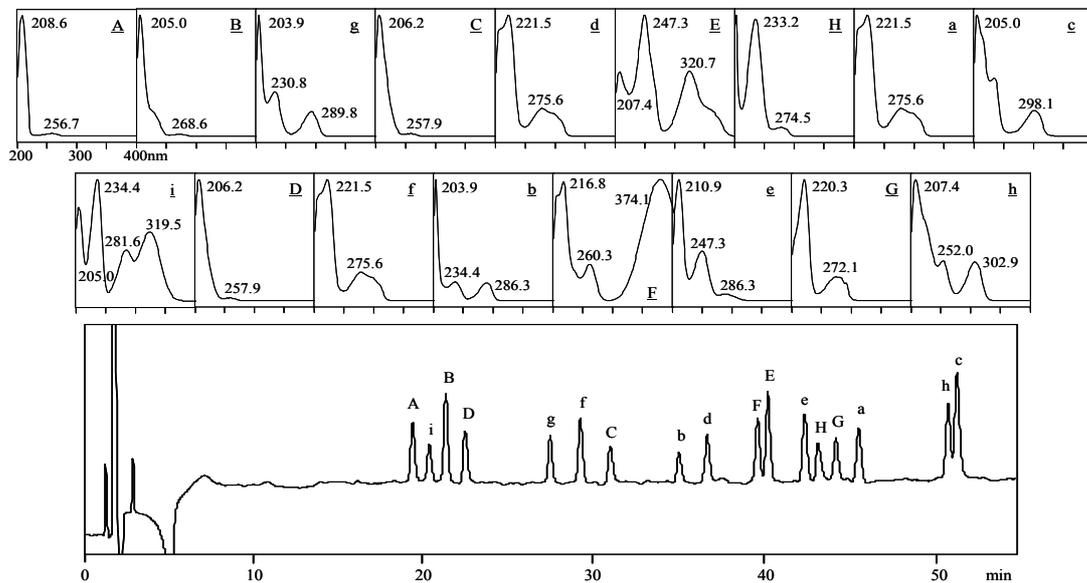


Fig.5. LC Chromatogram and UV Spectra of Standards

retention time (min) : A 19.4, B 21.4, C 31.1, D 22.5, E 40.3, F 39.7, G 44.4, H 43.3,
 a 45.7, b 35.1, c 51.5, d 36.8, e 42.5, f 29.3, g 27.5, h 51.0, i 20.4.

Alphabet signs indicate the same standards in Fig.4.

LC conditions were described in the experimental.

2. Sal. A の確認

Sal.Aの分析にあたり,新たにサンプリングを行わずに,アルカロイド抽出残渣を利用することを試みた.

Johnらの報告⁵⁾をもとに確立したLC/PDA法⁶⁾を用いて分析を行った. Sal.Aはアルカロイド抽出に用いた強酸の影響と思われる経時的な分解が認められたが,抽出後,速やかに処理を行うことで問題なく検出することができ(Fig.7),抽出残渣を利用した試験が可能であることが判った.

また, TLC法では,ヘキサン/酢酸エチル(1:1)で展開した後,10%硫酸を噴霧し加熱することにより, Rf 0.3付

近に暗紫色スポットとして確認することができた.

LC/PDA法並びにTLC法により検出されたSal.Aは,GC/MS法を用いて確認した.設定した条件下で,Sal.Aのピークは t_R 17分付近に出現し,そのフラグメンテーションは以下の通りであった.

MS(EI, 70eV) m/z : 432(M^+ , 2.6%), 273(7.4), 166(6.3), 121(12.9), 108(6.3), 107(9.6), 95(21.3), 94(100), 93(13.6), 91(13.7), 81(7.7), 79(6.6), 55(5.8).

3. LC/PDA法による植物のパターン分析

植物系ドラッグから植物由来の作用成分が検出された

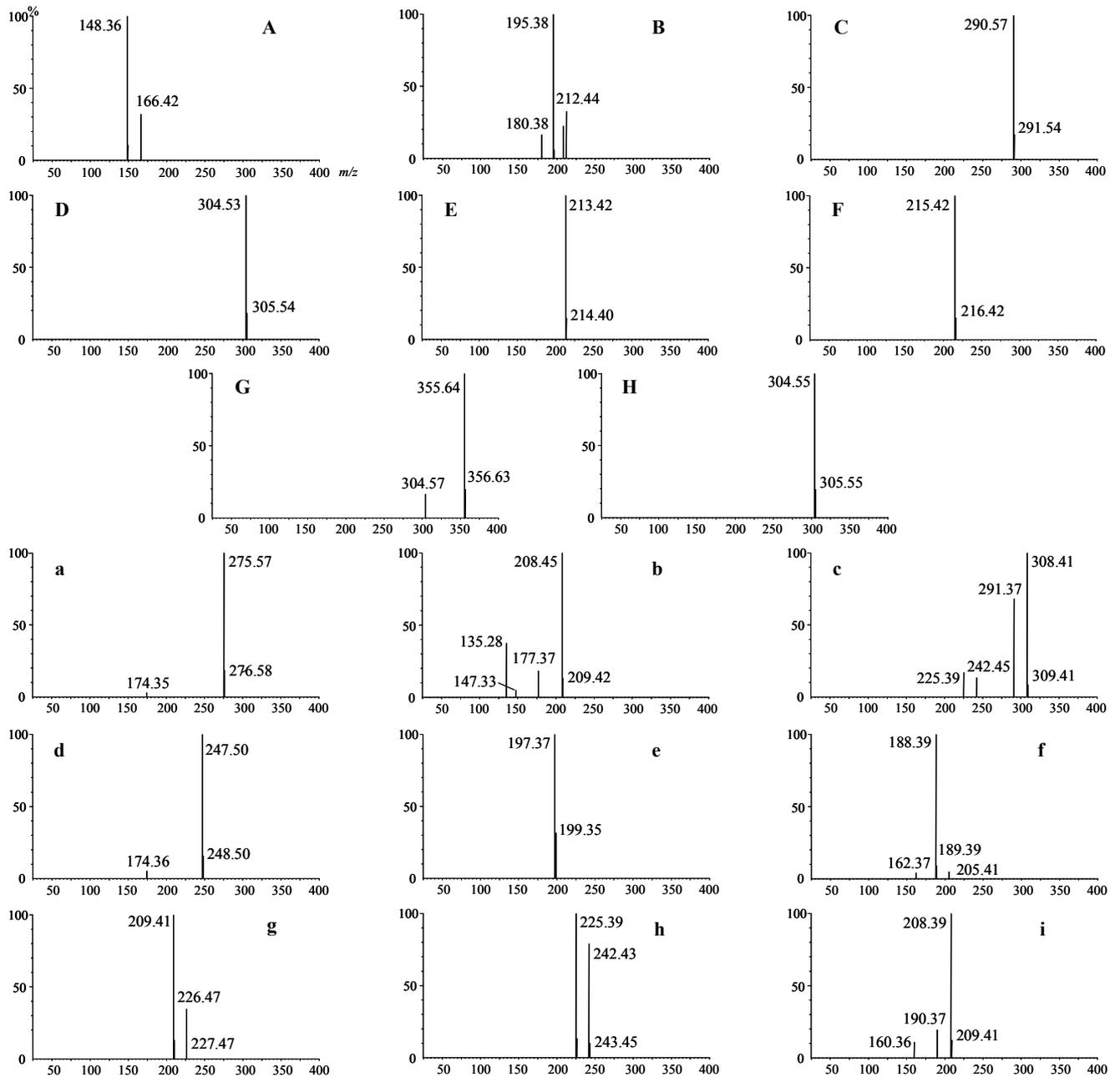


Fig.6. Mass Spectra of Standards by LC/MS

A:Ephe(MW;165.24), B:Mes(211.26), C:Atro(289.37), D:Scop(303.36), E:Har(212.25), F:Harm(214.27), G:Yohi(354.45), H:Coca(303.36), a: 5-MeO-DIPT(274.41), b:MBDB(207.27), c:2C-I(307.13), d:5-MeO-MIPT(246.35), e:3CPP(196.68), f:5-MeO-AMT(204.27), g:TMA-2(225.29), h:2C-T-2(241.35), i:1one(207.23)

LC/MS conditions were described in the experimental.

場合、成分として混入されたものか、あるいは植物として混入されたものかを見極めるため、LC/PDA法によるパターン分析を検討した。

Fig.8に、植物6種のLCクロマトグラムを示した。マオウの場合、Epheを中心とした前後にノルエフェドリンとメチルエフェドリンのピークが出現し、Epheはプソイドエフェドリンとの重複によって強い強度のピークとなって現れる特徴的なパターンが得られた。また、ハルマラの場合は、HarとHarmの2本のピークが極めて近接した位置にほぼ同じ強度で現れた。その他の植物についても、図に示した

ように植物由来の副次ピークが出現したことから、それを確認することにより、検出された成分が植物由来か否かを類推することが可能と考えられた。しかし、ダツラ種子についてはScop含量が痕跡程度のももあり⁷⁾、必ずしもAtrとScopとが同時に検出されるとは限らなかった。

5. 植物系ドラッグの分析結果

植物系ドラッグについて、確立したスクリーニング法並びに確認法を適用して試験を行った結果、47種の製品中30種から向精神作用性の成分が検出され、その6割が植物の

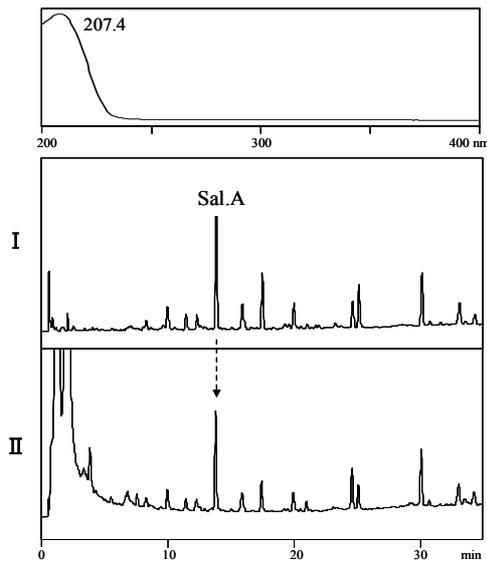


Fig.7. LC Chromatograms of *Salvia divinorum*(leaves) and UV Spectrum of salvinorin A

I :before treatment with HCl, II :after treatment with HCl
LC conditions were described in the experimental.

形態を留めていない粉末状や固形物等の加工品であった。

30種のうち、植物由来成分のみが検出されたのは19種で、検出成分はEphe, Scop, Har, Harm, Yohi及びSal.Aであり、Sal.Aは12種の製品から検出された。また、化学成分のみが検出されたのは4種で、検出成分は5-MeO-DIPT, 5-MeO-MIPT及び5-MeO-AMTであった。残り7種については植物由来成分と化学成分が同時に検出され、そのうちの6種が、Har及びHarmと5-MeO-DIPT, 又は5-MeO-MIPT, 又は5-MeO-AMTとの抱き合わせであった。これらの製品はいずれも、強い幻覚作用を誘発する5-MeO-DIPT等のトリプタミン系ドラッグの代謝が、MAO阻害剤であるHar及びHarmとの併用により阻害され、その作用が強められるよう意図されたもので、南米シャーマンの伝統技法であるいわゆるアヤワスカと考えられた。

まとめ

- 1) 多くの場合、包装単位が小さい植物系ドラッグについて、少量の試料を1回サンプリングするのみで、性質の異なる多種の向精神作用性の成分を検出する方法を検討した。
- 2) アルカロイドは、強酸性で抽出後、小容量の前処理カラムを用いて試料溶液を調製し、TLC及びLCに供した。TLC法及びLC/PDA法を併用したスクリーニングを実施後、さらにLC/MS法で確認することにより、混入された成分を効率よく検出することが可能であった。
- 3) 非アルカロイドであるSal.Aの検出は、強酸処理したアルカロイド抽出残渣を用いた。これを速やかに処理して得た試料溶液を用い、TLC法及びLC/PDA法によるスクリーニングを行った後、GC/MS法で確認することで、問題なく検出することができた。
- 4) 植物系ドラッグ47種を分析した結果、植物由来の向精神作用性の成分だけでなく、同時に化学成分が検出された製品が見出された。

文献

- 1) 東京都条例第 67 号 “東京都薬物の濫用防止に関する条例” 平成 17 年 3 月 31 日公布 (2005).
- 2) 2C-I, 5-MeO-MIPT : 平成 17 年 5 月 25 日公布, 同 6 月 1 日施行, 5-MeO-AMT, 2C-T-2:平成 18 年 1 月 30 日公布, 同 2 月 13 日施行.
- 3) Leander J.Valdes,III, William M.Butler, George M.Hatfield, et al., *J.Org.Chem.*, **49**, 4716-4720 (1984).
- 4) 長嶋真知子, 瀬戸隆子, 高橋美佐子, 他 : 東京健安研セ年報, **56**, 59-64, 2005.
- 5) John W.Gruber, Danniell J.Siebert, Ara H.Der Marderosian, et al.: *Phytochem.Anal.*, **10**, 22-25, 1999.
- 6) 浜野朋子, 塩田寛子, 中嶋順一, 他 : 生薬誌, 投稿中.
- 7) 福田達男, 高橋美佐子, 荒金真佐子, 他 : 東京健安研セ年報, **55**, 61-66, 2004.

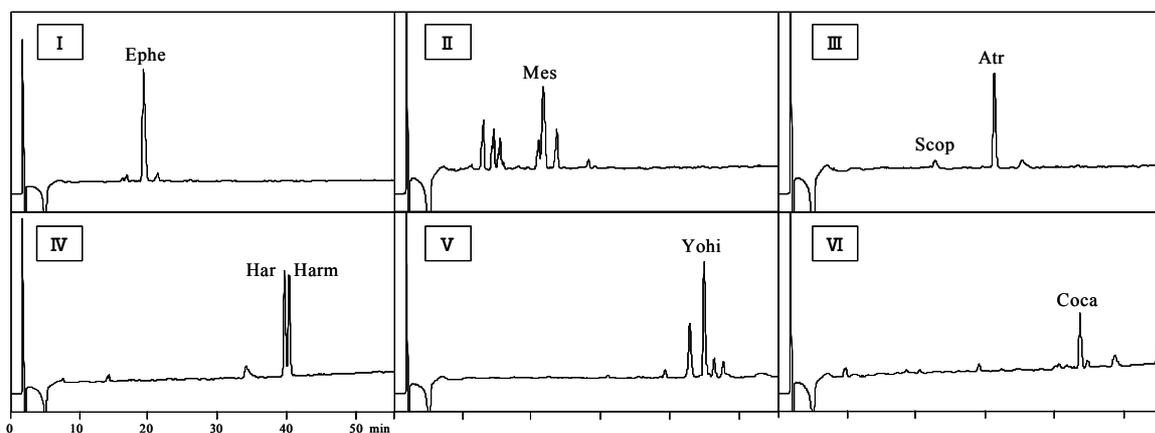


Fig.8. HPLC Chromatograms of Psychotropic Plants

I : *Ephedra sinica*, II : *Lophophora williamsii*, III : *Datura tatula*(seeds), IV : *Peganum harmala*(seeds),
V : *Pausinystalia yohimbe*(bark), VI : *Erythroxylum coca*(leaves)