

出：ダイオードアレイ検出器（PDA，モニタリング波長 UV 210 nm）及び質量検出器。

4-1. 質量分析条件 イオン化：エレクトロスプレーイオン化（EI）法，ポジティブモード，フラグメント電圧：100 V，乾燥ガス流量：N₂ 13.0 l/min，乾燥ガス温度：330°C，イオン導入電圧：3500 V。

5. 亜硝酸エステル類の安定性の検討

5-1. ヘッドスペース注入測定溶液の化合物の安定性 各ヘッドスペース注入測定溶液（1M リン酸緩衝液（pH 7）0.5 ml，蒸留水 0.45 ml，亜硝酸エステルアセトン溶液 0.05 ml）を調製し，調製後，室温下における 0，4，24 時間後の亜硝酸エステルのピーク面積及び分解生成物に対応するアルコールのピーク面積を求めた。

5-2. 試験溶液（アセトン溶液）における安定性 各亜硝酸エステル類の試験溶液（アセトン溶液）について，調製後 0，3，7 日後（4°C 保存）にヘッドスペース GC-MS 用試料を作成して分析を行い，各亜硝酸エステルのピーク面積及び対応するアルコールのピーク面積を求めた。

結果及び考察

1. GC-MS 分析結果 亜硝酸エステル類を除く指定薬物 30 化合物について，GC-MS のカラムの種類，昇温条件等を検討した結果，実験方法の部で示した条件において，最も良好な分離分析が可能であった。Table 1 に上記分析方法で分析した際の指定薬物 30 化合物の GC-MS 保持時間，5-MeO-DMT を 1 としたときの相対保持時間，さらにこれら化合物のマススペクトルのフラグメントイオンをそれぞれ示した。

なお，上記化合物のうち，5-MeO-DPT（指定薬物）と既に麻薬に指定されている *N,N*-ジイソプロピル-5-メトキシトリプタミン（5-MeO-DIPT）は異性体であり，それぞれ *N,N*-ジプロピル基，*N,N*-ジイソプロピル基を有するが，土井ら¹⁰も報告しているように，GC-MS 分析において，保持時間も近く，また極めて類似のフラグメントパターンを示した。そのため，これら薬物の識別には，TLC，HPLC，LC-MS などのその他の分析法も併せて行うことが重要であると考えられる。また，4-AcO-DIPT は，メタノール溶液中若しくは分析中に一部

が分解し，クロマトグラム上には少量ながら 4-OH-DIPT のピークが認められたので，4-OH-DIPT が検出される際は注意が必要であると考えられる。一方，フェネチルアミン系化合物を塩酸塩のまま GC-MS 分析を行ったところ，多くの化合物で割れたピークやブロードなピークが観察された。塩基性水溶液にして酢酸エチル等の有機溶媒で抽出した溶液については良好なピークが得られることから，これら化合物について GC-MS 測定を行う場合は，塩基として分析を行う必要があると思われる。ただし，bk-MDEA や bk-MBDB 等の β -カルボニル基を有するフェネチルアミン系化合物は，強塩基性条件下で一部分解が認められたため，注意が必要であると思われる。

現在までに唯一指定薬物に指定されている植物 *Salvia divinorum*（シソ科）の活性成分サルビノリン A の分析用標品のメタノール溶液について，実験方法に示した条件下で GC-MS 分析を行うと，同じ分子イオンを有するが configuration が異なる化合物と推測されるピーク（保持時間 50.4 分）が目的ピークの 10% 程度検出された。なお，本分析用標品をジクロロメタンに溶解して GC-MS 分析を行うとほぼ目的ピークのみが検出され，また，重クロロホルム中で ¹³C NMR 測定を行っても，configuration の異なる化合物の存在は認められなかった（Data not shown）。このことから，サルビノリン A は，分析中，メタノールや水等の極性溶媒及び加熱により，configuration の異なる化合物に変化している可能性が示唆された。

一方，ヘッドスペース GC-MS 分析について，6 種類の亜硝酸エステルについて分析条件（注入口温度，使用カラム，カラムオープン温度）を検討したところ，実験方法の部に示した条件において，各化合物は良好に分離し，17 分以内に定性分析が可能であった。亜硝酸エステル類は光や熱などにより容易に分解することが報告されているが，^{8,9,12} 本分析条件においても，分解生成物に対応するアルコールがピーク面積にして 2-10% 程度，各化合物のあとに同時に検出された。Table 2 に亜硝酸エステル類及びそれぞれの分解生成物に対応するアルコールの GC-MS 保持時間を，Fig. 2 に各亜硝酸エステルのマススペクトルを示す。

2. LC-MS 分析結果 GC-MS 分析と同様に，

Table 1. Analytical Data of 30 Designated Substances (Tryptamines, Phenethylamines, Piperazines and Salvinorin A) Obtained from GC-MS and LC-MS Analyses

Compounds	Mol wt	GC-MS		HPLC		Fragment ions of GC-MS mass spectra
		Rt. (min)	RRt.	Rt. (min)	RRt.	
4FMP	153	7.82	0.279	8.9	0.86	44(100), 109(17), 43(9), 83(8), 42(5), 45(4), (153 [M ⁺](0.1))
Indan-2-amine	133	9.42	0.336	4.6	0.45	133 [M ⁺](100), 116(57), 91(53), 132(38), 115(33), 118(27), 117(23)
PMMA	179	14.76	0.526	10.6	1.03	58(100), 121(7), 78(4), 56(4), 59(4), 77(3), 91(3), 122(2), 42(2), (179[M ⁺](0.2))
MBZP	190	15.79	0.563	4.5	0.44	91(100), 190 [M ⁺](55), 119(44), 99(31), 56(28), 118(24), 43(23), 42(22), 44(21)
BDB	193	18.07	0.644	14.4	1.39	58(100), 136(25), 135(13), 77(9), 81(8), 41(7), 51(5), 164(4), (193 [M ⁺](2))
HMDMA	207	19.70	0.702	18.1	1.77	58(100), 135(31), 207 [M ⁺](14), 77(9), 176(8), 131(7), 136(6), 51(5)
MMDA-2	209	19.94	0.710	14.0	1.36	166(100), 44(72), 151(28), 165(14), 167(10), 77(8), 135(7), (209 [M ⁺](3))
2C-E	209	20.07	0.715	41.2	3.99	180(100), 165(52), 179(19), 209[M ⁺](19), 91(15), 181(12), 149(8)
2C-C	215	21.15	0.753	24.3	2.35	186(100), 188(33), 171(30), 215 [M ⁺](14), 187(12), 77(12), 155(11)
4MPP	192	21.59	0.769	6.7	0.65	150(100), 192 [M ⁺](38), 120(15), 135(15), 151(10), 56(6), 136(6), 193(5)
bk-MDEA	221	21.96	0.782	8.1	0.79	72(100), 44(18), 70(8), 42(7), 149(7), 65(6), 73(5), 63(5), 121(5), (219 [M ⁺ -2](0.5))
TMA-6	225	22.01	0.784	28.0	2.72	182(100), 44(32), 181(30), 121(13), 136(11), 183(11), 151(8), (225 [M ⁺](0.1))
bk-MBDB	221	22.23	0.792	10.8	1.05	72(100), 57(6), 149(5), 73(5), 65(5), 121(4), 70(4), 63(4), 42(4), (219 [M ⁺ -2](0.1))
MDBP	220	23.85	0.850	2.7	0.26	135(100), 220 [M ⁺](21), 56(18), 85(17), 77(13), 178(12), 136(11), 164(9)
2C-1	307	25.13	0.895	38.0	3.69	278(100), 263(19), 307 [M ⁺](15), 77(10), 279(9), 91(8), 247(7)
DOI	321	25.36	0.903	45.5	4.42	44(100), 278(36), 77(6), 91(4), 263(4), 279(3), 121(3), (321 [M ⁺](1))
2C-T-2	241	25.97	0.925	38.4	3.72	212(100), 211(51), 183(38), 241 [M ⁺](33), 197(19), 153(17), 213(15), 181(13)
MIPT	216	26.01	0.927	18.4	1.80	86(100), 44(28), 130(8), 87(6), 144(6), 77(4), 143(3), 115(3), 43(3), 216 [M ⁺](2)
2C-T-4	255	26.17	0.932	52.8	5.11	183(100), 226(73), 184(37), 255 [M ⁺](34), 225(28), 153(24), 169(21), 227(11)
5-MeO-AMT	204	26.93	0.959	12.1	1.17	161(100), 44(50), 160(45), 146(21), 145(15), 117(13), 162(12), (204 [M ⁺](4))
5-MeO-DMT	218	28.07	1.000	10.3	1.00	58(100), 218 [M ⁺](11), 160(6), 117(4), 59(4), 145(3), 42(3)
DIPT	244	30.02	1.069	33.0	3.20	114(100), 72(19), 130(11), 115(11), 144(6), 43(4), 56(3), (244 [M ⁺](0.3))
DPT	244	31.10	1.108	43.6	4.22	114(100), 115(10), 130(9), 144(7), 72(5), 86(5), 43(4), 143(3), (244 [M ⁺](0.7))
5-MeO-DET	246	34.02	1.212	18.6	1.82	86(100), 87(6), 58(5), 160(4), 246 [M ⁺](3), 117(3), 145(3)
5-MeO-MIPT	246	34.71	1.237	18.9	1.85	86(100), 44(25), 87(6), 160(5), 246 [M ⁺](4), 117(4), 145(4), 174(4)
4-OH-DIPT	260	40.99	1.460	17.5	1.70	114(100), 72(21), 260[M ⁺](11), 146(10), 115(9), 43(4), 160(4)
5-MeO-DALT	270	41.17	1.467	33.8	3.28	110(100), 41(11), 160(8), 111(8), 241(8), 145(5), 117(4), (270 [M ⁺](3))
5-MeO-DPT	274	41.36	1.473	42.3	4.10	114(100), 115(9), 160(7), 86(5), 72(5), 174(4), 43(3), (274[M ⁺](2))
4-AcO-DIPT	302	43.43	1.547	36.7	3.55	114(100), 72(17), 115(9), 43(6), 146(5), 160(4), 56(3), (302 [M ⁺](0.3))
Salvinorin A	432	51.30	1.828	61.5	5.96	94(100), 43(45), 95(20), 273(20), 121(18), 107(15), 166(14), (432[M ⁺](7))

Rt.: Retention time, RRt.: Relative retention time (5-MeO-DMT=1). Each value in parenthesis shows the ratio of abundance of the fragment ion to that of the base peak ion (=100).

亜硝酸エステル類を除く指定薬物 30 化合物について、LC-MS のカラムの種類、移動相の種類、グラジエント条件等を検討した結果、実験方法の部で示した条件において、最も良好な分離分析が可能であった。Table 1 に上記分析方法で分析した際の指定薬物 30 化合物の LC-MS 保持時間、また 5-MeO-DMT を 1 としたときの相対保持時間を、Fig. 3-1 及び 3-2 に、LC-PDA-MS の UV スペクトルをそれ

Table 2. Retention Times of Alkyl Nitrites and Their Related Alcohols Obtained from Headspace GC-MS Analyses

Compounds	Nitrite Rt. (min)	Alcohol Rt. (min)
Isopropyl nitrite	6.54	6.86
<i>tert</i> -Butyl nitrite	7.78	7.27
Isobutyl nitrite	8.14	9.19
Butyl nitrite	8.96	10.03
Isopentyl nitrite	10.26	11.72
Cyclohexyl nitrite	16.63	17.64

ぞれ示した。

実験方法の部で示した条件下で LC-MS 分析を行うと、各化合物においてプロトン化分子イオン $[M+H]^+$ が主に検出されたが、サルビノリン A については、 m/z 373 ($[M-59]^+$) が主に検出された。また、LC のクロマトグラム上に、脱アセチル体であるサルビノリン B のプロトン化分子イオンと推測される m/z 391 のピークが 10% 程度検出された。GC-MS 分析及び重クロロホルム溶液における ^{15}N NMR 測定 (Data not shown) ではサルビノリン B は検出されなかったことから、HPLC の酸性移動相中で加水分解が生じ、サルビノリン B が生成したものと考えられた。

3. 亜硝酸エステル類の安定性 違法ドラッグ市場に流通する亜硝酸エステル類の分析に関しては、鈴木ら¹¹⁾が、直接試料を GC-MS に導入する分析法及び NMR 分析による同定法を報告している。今回、われわれは亜硝酸エステルが他の溶液に混在

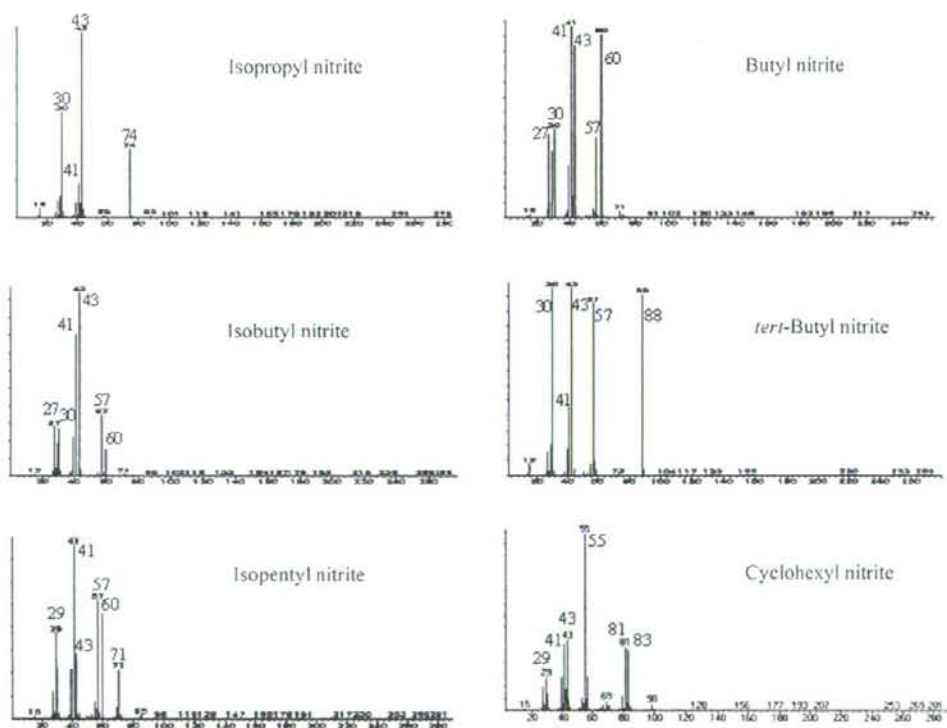


Fig. 2. EI Mass Spectra of 5 Alkyl Nitrites Obtained from the Headspace GC-MS Analyses

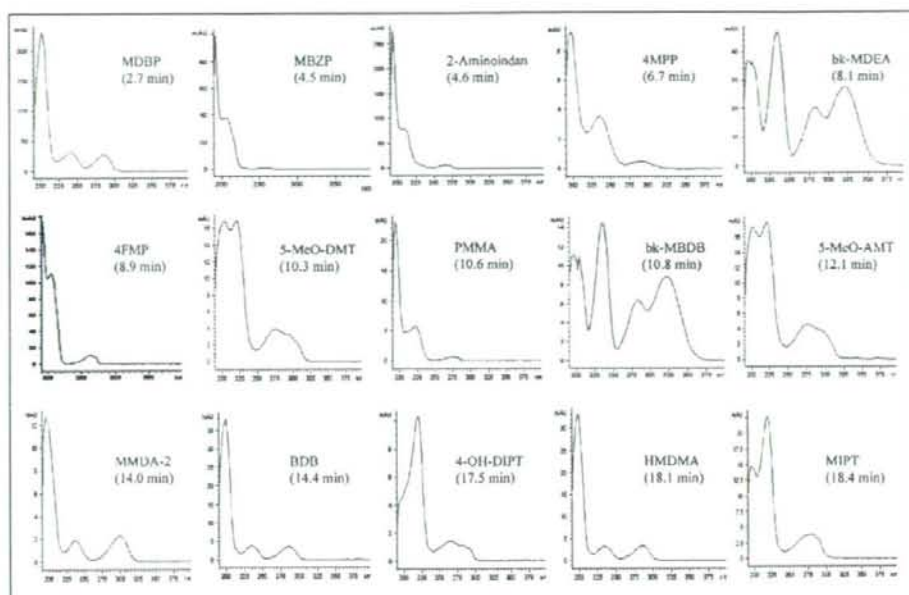


Fig. 3-1. UV Spectra of 30 Compounds (11 Tryptamines, 11 Phenethylamines, 6 Alkyl Nitrites, 2 Piperazines and Salvinorin A) Obtained from the Analyses of LC-MS Coupled with a Photodiode Array Detector

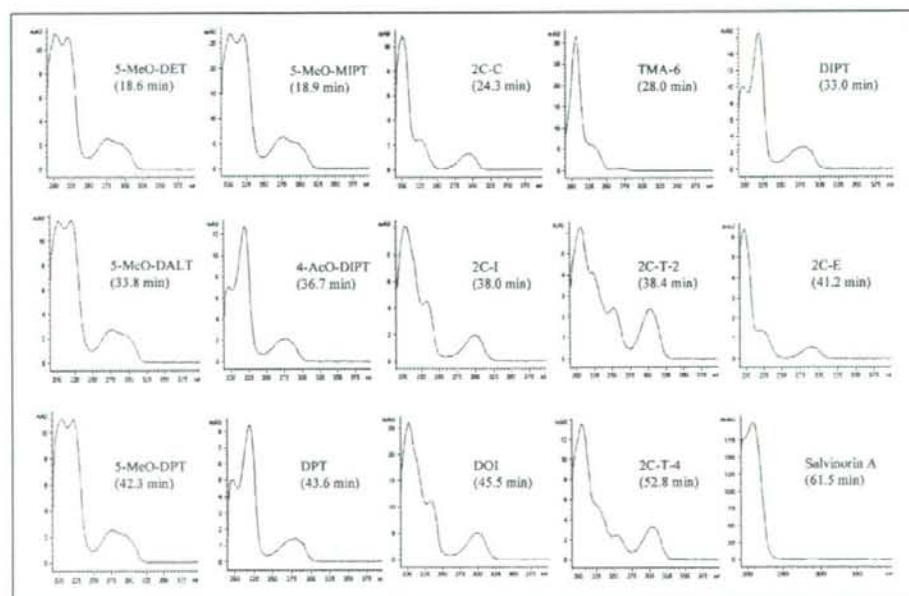


Fig. 3-2. UV Spectra of 30 Compounds, Continued

している可能性も考慮し、ヘッドスペース注入法による GC-MS 測定を行った。

亜硝酸エステル類は光や熱などにより容易に分解する。^{8,9,12)} アセトンのような極性有機溶媒中でも一部分解は進行するが、特に水溶液中では容易に加水分解し、アルコールと亜硝酸を生じる。^{8,9)} また、ヘッドスペース GC-MS 分析中にも熱等によりその分解は進む。^{8,9)} 酸性溶液条件下では加水分解と逆の亜硝酸のエステル化反応も進行し、加水分解とエステル化の平衡状態になるが、⁸⁾ 本ヘッドスペース GC-MS 分析条件は、亜硝酸イソブチルの分解を最小限に、また逆反応のエステル化反応を完全に抑える条件であることが報告されている。^{8,9)}

本条件により、各化合物を分析した結果、ピーク面積にして 2-10% 程度のアルコールが同時に検出された。亜硝酸エステルとアルコールでは沸点が異なるため、¹²⁾ ヘッドスペース GC-MS で現れるピークの大きさはかならずしも両化合物の量比を反映したものではないが、市販品の亜硝酸エステルの純度は表示量で 90-95% 程度であり、少量ながら分解物のアルコールも含有することを考慮すると、試料調製直後の分析では、新たな分解はほとんど抑えられていると考えられる。

一方、試料調製から時間を経ると各化合物の含有量がどう変化するかを確認するために、各亜硝酸エステルのヘッドスペース注入測定溶液における安定性及び希釈溶媒に用いた試験溶液(アセトン溶液)中における安定性を検討した。Figure 4 に、ヘッドスペース注入測定溶液調製後 0 時間の亜硝酸エステルのピーク面積を 100% としたときの 4, 24 時間後のピーク面積の割合及びそれぞれの時間における亜硝酸エステル及び対応するアルコールの面積比の変化を示した。また、Fig. 5 に各化合物の試験溶液(アセトン溶液)調製当日のヘッドスペース GC-MS のピーク面積を 100% としたときの 3, 7 日後のピーク面積の割合を示した。その結果、亜硝酸 *tert*-ブチル及び亜硝酸シクロヘキシルは安定性が悪く、ヘッドスペース注入測定溶液調製後 4 時間ではピーク面積にしてそれぞれ 78% 及び 47%、24 時間では 34% 及び 1% と著しく分解が進んだ。また、試験溶液(アセトン溶液)中においても、調製 3 日後にはそれぞれ 52% 及び 82%、7 日後には 30% 及び 51% まで減少した。一方、他の化合物では、ヘ

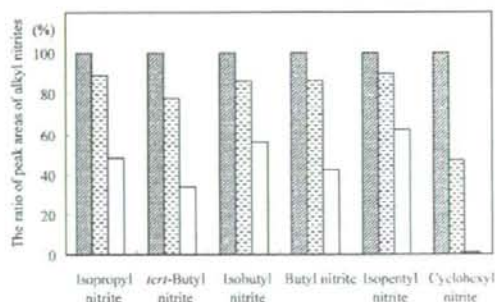


Fig. 4 Degradation of Alkyl Nitrite in Sample Solution for the Headspace GC-MS

The ratio of peak areas of alkyl nitrites 4 hours (■) and 24 hours (□) after sample preparation to 0 hour-alkyl nitrite (▨) was shown. The peak areas of 0 hour-alkyl nitrites are represented as 100.

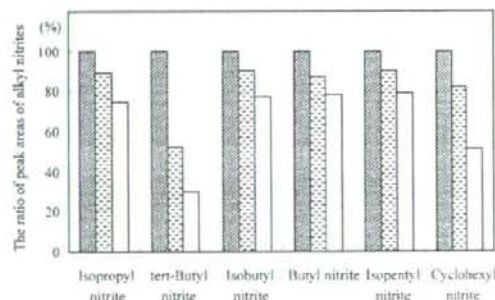


Fig. 5. Degradation of Alkyl Nitrite in Acetone Solution

The ratio of peak areas of alkyl nitrites on the 3rd day (■) and the 7th day (□) after preparation to the 1st day-alkyl nitrite (▨) was shown. The peak areas of the 1st day-alkyl nitrites are represented as 100.

ッドスペース注入測定溶液調製後 4 時間では 85-90%、24 時間後では 42-62%、試験溶液(アセトン溶液)中では、調製 3 日後には 87-90%、7 日後でも 75-80% であった。これらの結果から、本分析法を用いた亜硝酸エステル類の定性分析においては、試験溶液(アセトン溶液)では 1 週間程度の保存が可能であるが、ヘッドスペース注入測定溶液調製後は当日に分析することが望ましく、特に亜硝酸 *tert*-ブチル及び亜硝酸シクロヘキシルは用時調製が望ましいと考えられた。

結 論

亜硝酸エステル類を除く指定薬物 30 化合物について、GC-MS 及び LC-MS による分析条件の検討を行い、GC-MS 及び LC-MS において 45 分以内

(サルビノリン A を除く、サルビノリン A はそれぞれ 51.3 分及び 61.5 分) に分離分析が可能な条件を提示し、各化合物の GC-MS の EI マススペクトル、LC-PDA-MS の UV スペクトル及び ESI マススペクトルを示した。また、亜硝酸エステル類 6 化合物について、ヘッドスペース注入法を用いた GC-MS による分析条件の検討を行い、17 分以内に分離分析が可能な条件を提示し、各化合物の EI マススペクトルを示した。ただし、亜硝酸エステル類の場合、分解生成物に対応するアルコールが同時に検出されることがあり、アルコール分解物についても分析を行う必要があると考えられた。以上、本報告で示した分析法は、指定薬物を分析する上で、有用な参考資料になると考えられる。

なお、指定薬物のうち、2C-I, 2C-T-2, 2C-T-4 の 3 化合物は、平成 20 年 1 月 18 日より麻薬及び向精神薬取締法の規制対象となったため、指定薬物から削除された。

謝辞 本研究を行うにあたり、サルビノリン A をご供与いただきました徳島文理大学香川薬学部の代田修先生に感謝申し上げます。本研究は、厚生労働科学研究費補助金並びに厚生労働省医薬品審査等業務庁費で行われたものであり、関係各位に深謝致します。

REFERENCES

- 1) Kuroki Y., *Jpn. J. Toxicol.*, **17**, 241-243 (2004).
- 2) Yamamoto J., *Jpn. J. Toxicol.*, **17**, 245-250 (2004).
- 3) Tabe M., Itoh E., Kawano Y., *Jpn. J. Toxicol.*, **17**, 251-258 (2004).
- 4) Kikura-Hanajiri R., Hayashi M., Saisho K., Goda Y., *J. Chromatogr. B*, **825**(1), 29-37 (2005).
- 5) (<http://www.mhlw.go.jp/kinkyu/diet/musyo/unin.html>), Ministry of Health, Labour and Welfare, 25 December, 2007.
- 6) Tanaka E., Kamata T., Katagi M., Tsuchihashi H., Honda K., *Forensic Sci. Int.*, **163**(1-2), 152-154 (2006).
- 7) Uchiyama N., Kikura-Hanajiri R., Kawahara N., Goda Y., *Chem. Pharm. Bull. (in preparation)*.
- 8) Seto Y., Kataoka M., Tsuge K., Takaesu H., *Anal. Chem.*, **72**, 5187-5192 (2000).
- 9) Seto Y., "Handbook of Practical Analysis of Drugs and Poisons in Human Specimens - Chromatographic Methods-", eds. by Suzuki O., Yashiki M., Jiho, Tokyo, 2002.
- 10) Doi K., Miyazaki M., Fujii H., Kojima T., *Yakugaku Zasshi*, **126**, 815-823 (2006).
- 11) Suzuki J., Takahashi M., Seta, T., Nagashima M., Okumoto C., Yasuda I. *Ann. Rep. Tokyo Metr. Inst. P. H.*, **57**, 115-120 (2006).
- 12) "Patty's Industrial Hygiene and Toxicology 4th edition," eds. by Clayton G. D., Clayton F. E., John Wiley & Sons Inc, Hoboken, 1999.

指定薬物の分析 Part II : 呈色試験及び TLC

内山奈穂子, 河村麻衣子, 鎌倉浩之, 花尻(木倉)瑠理,* 合田幸広

Analytical Data of Designated Substances (Shitei-Yakubutsu) Controlled by the Pharmaceutical Affairs Law in Japan, Part II: Color Test and TLC

Nahoko UCHIYAMA, Maiko KAWAMURA, Hiroyuki KAMAKURA,
Ruri KIKURA-HANAJIRI,* and Yukihiko GODA
National Institute of Health Sciences (NIHS), 1-18-1 Kamiyoga,
Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan

(Received January 11, 2008; Accepted March 11, 2008)

Many psychotropic substances are readily available in Japan via the Internet. To avoid the spread of drug abuse, some drugs have been controlled as designated substances (Shitei-Yakubutsu) in Japan since 2007 by the Pharmaceutical Affairs Law. Twenty-nine designated substances (classified as tryptamine, phenethylamine and piperazine types) were analyzed using color tests and TLC. The color tests were examined with the Marquis, Ehrlich, Simon's, Liebermann-Buehard's, and Mandelin reagents. The color of β -carbonyl-methylenedioxyphenethylamines produced by the Marquis reagent was yellow, and 4-halo-2,5-dimethoxy phenethylamines reacted with the Marquis reagent to give deep yellow-green and/or a deep green color. Although all designated substances of the tryptamine type reacted with the Ehrlich reagent to give a brown color, only 1-(2,4,6-trimethoxyphenyl) propan-2-amine (TMA-6) among the phenethylamines showed a red color on treatment with the reagent. However, 3,4,5-trimethoxy and 2,4,5-trimethoxy isomers of TMA-6 were not colored with the reagent. Thus, TMA-6 could be distinguished from isomers using the Ehrlich reagent. We also analyzed the designated substances with thin-layer chromatography developed with two different solvent conditions. All substances were detected by UV_{254 nm} and an iodoplatinate reagent. These results suggest that color tests and TLC, followed by GC-MS and LC-MS analyses, can be used for preliminary identification of designated substances.

Key words—psychotropic substance; color test; TLC; designated substance; shitei-yakubutsu; drug abuse

緒 言

深刻化する違法ドラッグ問題に対応するべく、平成18年の薬事法改正により、幻覚・中枢興奮等の精神毒性かつ保健衛生上の危害のある薬物及び植物を指定薬物として規制することとなり、32物質(31化合物1植物)が指定され、平成19年4月1日より施行された。さらに平成20年1月11日には、5化合物が新たに指定薬物として追加された。一部の指定薬物については、これまでいわゆる違法ドラッグとしてGC-MS, LC-MS, TLC, IR分析結果が報告されているが、^{1,2)}すべての指定薬物を網羅した分析報告はない。そこでわれわれは、GC-MS及びLC-MSを用いた指定薬物の分析方法を検

討し、その結果を前報にPart Iとして報告した。³⁾

一般的に、違法薬物を正確に分析・同定するにはGC-MSやLC-MSなどの分析機器が必要となる。しかし、様々な現場でこれら機器が設置されているとは限らず、また一度に多量の検体を処理するためには予試験法があることが望ましい。米国では乱用薬物の予試験法として呈色試験が用いられているが、⁴⁾日本において指定薬物の呈色試験による分析結果は報告されていない。そこで本研究では、迅速かつ簡易な予試験法として呈色試験及びTLCを用い、亜硝酸エステル類及びSalvinorin Aを除く、29種類の指定薬物について分析を行ったので報告する。

実験方法

1. 試料 指定薬物の名称、構造式、及び入手

国立医薬品食品衛生研究所

*e-mail: kikura@nihs.go.jp

方法については前報 (Part I) に記載した通りであるが,³⁾ 本研究では、亜硝酸エステル類及び Salvinorin A を除く 29 種類の指定薬物を使用した。また、麻薬である 2C-B [2-(4-Bromo-2,5-dimethoxyphenyl)ethanamine], DOB [1-(4-Bromo-2,5-dimethoxyphenyl)propan-2-amine], 2C-T-7 [2-(2,5-Dimethoxyphenyl-4-propylsulfanyl)ethanamine], DMA [1-(2,5-Dimethoxyphenyl)propan-2-amine], DOM [1-(2,5-Dimethoxy-4-methylphenyl)propan-2-amine], DOET [1-(2,5-Dimethoxy-4-ethylphenyl)propan-2-amine], TMA [1-(3,4,5-Trimethoxyphenyl)propan-2-amine], TMA-2 [1-(2,4,5-Trimethoxyphenyl)propan-2-amine], methylone [2-methylamino-1-(3,4-methylenedioxyphenyl)propan-1-one], DOC [1-(4-Chloro-2,5-dimethoxyphenyl)propan-2-amine] は、国立医薬品食品衛生研究所において分析用標品として調製し、NMR 及び質量分析により構造を確認するとともに、HPLC 及び TLC により純度を確認したものを使用した。なお、これら化合物の構造式は

Fig. 1 に示した。

2. 呈色反応 マルキス試薬、シモン試薬は市販品 (関東化学) を用いた。エールリッヒ試薬は、*p*-dimethylaminobenzaldehyde 0.5 g をエタノール:濃硫酸又は濃塩酸 (3:2) 混液 50 ml に溶解し調製した。^{5,6)} マンデリン試薬は、バナジン酸アンモニウム 0.05 g を濃硫酸 10 ml に溶解したものを用いた。リーベルマン試薬は、亜硝酸ナトリウム 1 g を濃硫酸 10 ml に溶解し調製した。⁵⁾ 呈色方法は、試料を白色液板上に取り各試薬を数滴滴下し観察を行った。

3. TLC 分析条件 薄層板は Merck 製の HPTLC plates Silica gel 60F₂₅₄ (20×10 cm, 層厚 0.2 mm) を用いた。試料はすべてメタノールに溶解して用いた。展開溶媒は、(A)ヘキサン/アセトン/トリエチルアミン (10:10:1), (B)メタノール/25%アンモニア水 (200:3) を用いた。検出は紫外線照射 (波長 254 nm), 及びヨウ化白金酸カリウム溶液噴霧による呈色を行った。ヨウ化白金酸カリウム溶液は、10%塩化白金酸 1 ml に 4%ヨウ化

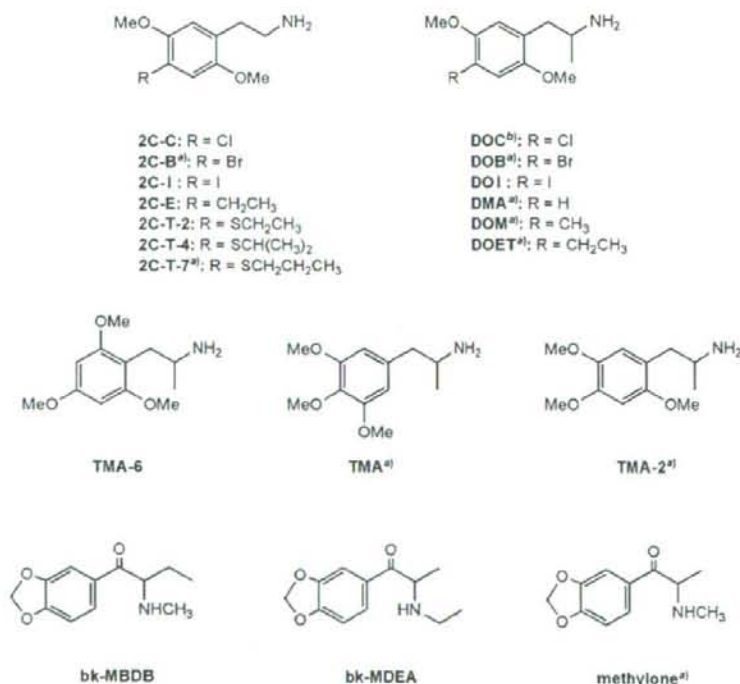


Fig. 1. Structures of Chemical Drugs

a) Narcotic substances. b) Non controlled substances. No marked-compounds are designated substances.

カリウム 25 ml を加え、さらに水 24 ml を加えて調製した。⁵⁾

結果及び考察

1. 呈色反応 代表的な 5 種の呈色試薬 (マルキス試薬, エールリッヒ試薬, シモン試薬, リーベルマン試薬, マンデルリン試薬) を用いて試験を行い, その呈色結果を Tables 1 and 2 に示した. なお今回分析を行った指定薬物は, トリプタミン系, ピペラジン系及びフェネチルアミン系化合物に分類される.

まずマルキス試薬により試験を行ったところ, トリプタミン系化合物は緑みの茶色-茶色-焦茶色に呈色した. 一方, フェネチルアミン系化合物では, 2,5-ジメトキシ体のうち, 4位がハロゲンで置換された 2C-I, 2C-C, DOI は黄緑色-濃緑色に呈色したが, 4位がエチル基又はチオアルキル基を有する 2C-E, 2C-T-2, 2C-T-4 は淡茶色-淡橙色に呈色した (Fig. 1, Table 1 and 2). そこで, これら指定薬物と同様に 2,5-ジメトキシ体である 2C-B, DOB, 2C-T-7, DMA, DOM, DOET (すべて麻薬) 及び DOC についても呈色試験を行ったところ, すべて

Table 1. Colors produced by five reagents with designated substances (Shitei-Yakubutsu)

Type	Chemical drugs	Marquis reagent	Ehrlich reagent	Simon's reagent	Liebermann-Burchard's reagent	Mandelin reagent
Tryptamine	5-MeO-MIPT	Dark brown	Grayish green	—	Dark brown	Greenish brown
	5-MeO-DMT	Dark brown	Grayish green	—	Dark brown	Deep greenish brown
	5-MeO-AMT	Dark brown	Grayish green	—	Brown	Deep greenish brown
	5-MeO-DALT	Brown	Grayish green	—	Dark brown	Greenish brown
	5-MeO-DPT	Brown	Grayish green	—	Dark brown	Deep greenish brown
	5-MeO-DET	Brown	Pale pink	—	Brown	Deep greenish brown
	4-OH-DIPT	Brown	Deep purple	Grayish blue	Dark brown	Deep greenish brown
	4-AcO-DIPT	Brown	Deep red purple	Pale grayish blue	Dark brown	Greenish brown
	DPT	Greenish brown	Red purple	—	Brown	Greenish brown
	DIPT	Pale brown	Red purple	—	Brown	Greenish brown
	MIPT	Greenish brown	Red purple	—	Brown	Greenish brown
Piperazine	4MPP	—	—	Red purple	Pale yellow	Pale green
	MBZP	—	—	Yellowish red	Yellow	Yellowish brown
	MDBP	Deep Red purple	—	Blue	Dark brown	Deep brown
Phenethylamine	2C-1	Deep green	—	—	Brown	Pale brown
	2C-C	Deep yellow green	—	—	Pale yellow green	Pale yellow green
	2C-E	Pale brown	—	—	Yellow green	Yellow green
	2C-T-2	Pale orange	—	—	Purple	Purple
	2C-T-4	Pale orange	—	—	Purple	Purple
	DOI	Deep green	—	—	Pale brown	Yellow green
	PMMA	—	—	Deep blue	Deep red purple	Brown
	4FMP	—	—	—	Orange	Pale blue
	TMA-6	Brilliant orange	Brilliant red	Pale red purple	Pale brown	Deep red
	HMDMA	Deep purple blue	—	Deep blue	Deep brown	Deep brown
	BDB	Deep purple blue	—	—	Dark brown	Dark brown
	MMDA-2	Greenish brown	—	—	Yellow green	Brown
	bk-MBDB	Brilliant yellow	—	Blue	Greenish brown	Brown
	bk-MDEA	Brilliant yellow	—	Blue	Greenish brown	Brown
	2-aminoindan	Dark brown	—	—	Yellowish brown	Dark blue

Table 2. Colors produced by the Marquis reagents with selected phenethylamines

Type	Chemical drugs	Marquis reagent
Phenethylamine	2C-C	Deep yellow green
	2C-B ^{a)}	Deep blue green
	2C-I	Deep green
	2C-E	Pale brown
	2C-T-2	Pale orange
	2C-T-4	Pale orange
	2C-T-7 ^{a)}	Pale orange
	DOC ^{b)}	Deep yellow green
	DOB ^{a)}	Deep blue green
	DOI	Deep green
	DMA ^{a)}	Greenish brown
	DOM ^{a)}	Pale yellow
	DOET ^{a)}	Pale brown
	HMDMA	Deep purple blue
	BDB	Deep purple blue
	MMDA-2	Greenish brown
	bk-MBDB	Brilliant yellow
bk-MDEA	Brilliant yellow	
Methylone ^{a)}	Brilliant yellow	

a) Narcotic substances. b) Non controlled substances. No marked-compounds are designated substances.

陽性であったが、4位がハロゲンで置換された2C-B, DOB, DOCのみ濃青緑色-濃黄緑色に呈色した (Fig. 1, Table 2)。したがって、4位がハロゲン (Cl, Br, I) である2,5-ジメトキシ体はマルキス試薬により濃黄緑色-濃青緑色-濃緑色に呈色することが示された。さらに、メチレンジオキシ体のうち、 β -カルボニル基を有する bk-MBDB, bk-MDEA は黄色に呈色し、同じく β -カルボニル基を有する methylone (麻薬) も黄色に呈色した (Fig. 1, Table 2)。一方、 β -カルボニル基を持たないメチレンジオキシ体である HMDMA, BDB, MMDA-2 は濃青紫色-緑みの茶色に呈色し (Table 2)、 β -カルボニル基を持つがメチレンジオキシ基を持たない麻薬である cathinone, methcathinone は陰性であった (data not shown)。したがって、 β -カルボニル-メチレンジオキシ体はマルキス試薬により黄色に呈色することが明らかとなった。

次にエールリッヒ試薬により試験を行ったところ、トリプタミン系化合物は灰緑色-赤紫色-紫色-淡桃色に呈色したが、ピペラジン系化合物及びフェネチルアミン系化合物は、TMA-6を除いて陰性であった (Table 1)。一般的にエールリッヒ試薬はイ

ンドール環、芳香族第一級アミンや活性メチレンなどを呈色することが知られているが、⁷⁾ 脂肪族第一級アミンかつ2,4,6-トリメトキシ体であるTMA-6は赤色に呈色した。そこで、3,4,5-トリメトキシ体であるTMA (麻薬) 及び2,4,5-トリメトキシ体であるTMA-2 (麻薬) についても検討を行ったところ、両化合物は陰性であることが判明した (data not shown)。次に、エールリッヒ試薬で用いる硫酸⁶⁾を塩酸⁵⁾に変えて呈色試験を行ったところ、TMA-6は時間が経ってもほとんど呈色しなかった (data not shown)。以上の結果から、麻薬であるTMA及びTMA-2と指定薬物であるTMA-6は、硫酸を使ったエールリッヒ試薬による呈色試験により判別可能であることが示された。

次にシモン試薬を用いたところ、ピペラジン系化合物である4MPP, MBZP, MDBPは赤紫色-黄みの赤色-青色に呈色した。また、フェネチルアミン系化合物のうち、脂肪族第二級アミンであるPMMA, HMDMA, bk-MBDB, bk-MDEAは青色-濃青色に呈色した。また、脂肪族第一級アミンであるTMA-6がわずかに陽性を示した (Table 1)。一方、トリプタミン系化合物のほとんどは陰性であったが、4-OH-DIPT及び4-AcO-DIPTのみが灰青色に呈色した。

さらに、マンデリン試薬及びリーベルマン試薬を用いて試験を行った。その結果、トリプタミン系化合物はそれぞれ緑みの茶色-濃い緑みの茶色及び茶色-濃茶色に呈色したが、フェネチルアミン系化合物は様々な色に呈色することが判明した (Table 1)。一方、ピペラジン系化合物に関しては、マンデリン試薬では4MPPは淡緑色、MBZPは黄みの茶色に呈色したが、リーベルマン試薬では両化合物ともに淡黄色-黄色に呈色した。また、MDBPは両試薬で濃茶色-暗茶色に呈色した。

以上の結果から、系統的予試験法として呈色試験を用いた場合のフローチャートを Fig. 2 に示した。まず、第1選択試薬としてマルキス試薬を用いることで、呈色反応の有無及び色の種類によりある程度の薬物が分類され、2番目にエールリッヒ試薬を用いることにより主にトリプタミン系化合物が分類される。3番目としてシモン試薬により主に第二級アミンが分類され、最後にリーベルマン試薬及びマンデリン試薬による呈色結果を参考に判別を行

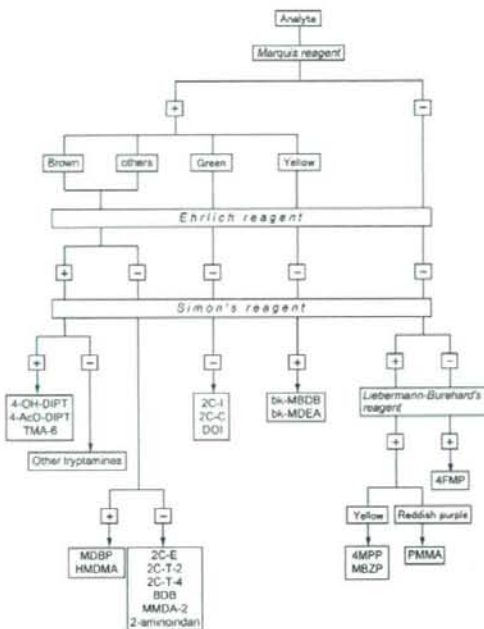


Fig. 2. Proposed Flow Chart for Screening of Designated Substances (Shitei-Yakubutsu) Using Color Test

う、このフローチャートはあくまでも薬物を特定するための目安であるが、呈色試験は迅速かつ簡易な分析法として適していると考えられる。

2. TLC 2種類の展開溶媒を用いた TLC を行った結果を Table 3 に示した。今回使用したいずれの化合物も UV254 nm 吸収により検出された。なお、指定薬物は通常標準品として入手し難いものが多いが、5-MeO-DMT, 4MPP, PMMA, BDB は市販されているので、これらを対象標準とすることができる。

展開溶媒 A 及び B における各化合物の Rf 値を比較したところ、いくつか特徴的な挙動が観察された。トリプタミン系化合物は、両展開溶媒で比較的良好に分離した。また展開溶媒 A, B において、各化合物の Rf 値はほぼ同程度の値を示した。しかし、5-MeO-DMT, 5-MeO-AMT は、展開溶媒 A における Rf 値 (0.16, 0.14) が展開溶媒 B における Rf 値 (0.43, 0.33) と比べて低い値を示し、また DIPT は、展開溶媒 A における Rf 値 (0.81) が展開溶媒 B における Rf 値 (0.56) と比べて高い値を示した。また、ピペラジン系化合物のうち、第二級アミンで

ある 4MPP, MDBP は、展開溶媒 A における Rf 値がそれぞれ 0.04, 0.05 とほとんど上がらなかったが、第三級アミンである MBZP の Rf 値は 0.27 であった。一方、展開溶媒 B における Rf 値はそれぞれ 0.36, 0.33, 0.48 であった。

次に、フェネチルアミン系化合物について検討した。2,5-ジメトキシフェネチルアミン類 (2C-I, 2C-C, 2C-E, 2C-T-2, 2C-T-4, DOI) では、展開溶媒 A を用いると、2C-I, 2C-C, 2C-T-2, 2C-T-4 がほとんど分離しなかった。他方、残った 2C-E 及び DOI は Rf 値が 0.42, 0.40 とやや分離した。展開溶媒 B では、DOI のみ良好な分離がみられ (Rf 値 = 0.43)、他の化合物の分離は不十分 (Rf 値 = 0.31-0.34) であった。

フェネチルアミン系化合物では、展開溶媒 A を用いると、N-メチル体である PMMA 及び HMDMA の Rf 値 (0.11, 0.09) が展開溶媒 B を用いた場合の Rf 値 (0.35, 0.28) と比べて低い値を示した。一方、4-FMP を除く一級アミン類 (TMA-6, BDB, MMDA-2, 2-aminoindan) の Rf 値は展開溶媒 A, B において、ほぼ同程度の値を示した。また、β-カルボニル体である bk-MBDB 及び bk-MDEA も、展開溶媒 A における Rf 値 (0.39, 0.43) が、展開溶媒 B における Rf 値 (0.66, 0.69) と比べて低い値を示した。

次に、スポットの呈色について検討した。ヨウ化白金酸カリウム試液を用いた場合、展開溶媒 A では、HMDMA が白抜きとなった。一方、他の化合物は黄色-橙色-赤色-紫色に呈色したが、化合物の各系統による呈色の違いはみられなかった。また展開溶媒 B では、5MeO-AMT が白抜きとなり、4-OH-DIPT が黄緑色に呈色したが、他の化合物は赤紫色-紫色-青紫色-淡青色に呈色し、こちらも化合物の各系統による呈色の違いはみられなかった (Table 3)。

次に、ドラーゼンドルフ試液を用いた呈色について検討した。その結果、すべて含窒素化合物であるにも関わらず、一部呈色しない化合物があることが判明した (data not shown)。したがって、すべての化合物が検出可能なヨウ化白金酸カリウム試液が、指定薬物の TLC における呈色試薬として有効であると考えられた。

以上、これら呈色試験及び TLC を用いることに

Table 3. TLC analyses of designated substances (Shitei-Yakugutsu)

Type	Chemical drugs	Solvent A		Solvent B	
		(n-hexane/acetone/triethylamine = 10/10/1)		(MeOH/25% ammonia solution = 200/3)	
		Rf values ^{a)}	Color ^{b)}	Rf values ^{a)}	Color ^{b)}
Tryptamine	5-MeO-MIPT	0.41	Whitish yellow ^{c)}	0.46	Red purple
	5-MeO-DMT	0.16	Red	0.43	Purple blue
	5-MeO-AMT	0.14	Red	0.33	White ^{c)}
	5-MeO-DALT	0.70	Whitish red ^{c)}	0.76	Red purple
	5-MeO-DPT	0.73	Whitish yellow ^{c)}	0.69	Red purple
	5-MeO-DET	0.43	Whitish yellow ^{c)}	0.48	Red purple
	4-OH-DIPT	0.67	Yellow	0.56	Yellow green
	4-AcO-DIPT	0.61	Yellow	0.59	Pale purple
	DPT	0.77	Whitish yellow ^{c)}	0.68	Red purple
	DIPT	0.81	Whitish yellow ^{c)}	0.56	Red purple
	MIPT	0.37	Red	0.49	Red purple
Piperazine	4MPP	0.04	Red	0.36	Red purple
	MBZP	0.27	Purple	0.48	Purple
	MDBP	0.05	Red	0.33	Purple blue
Phenethylamine	2C-1	0.34	Whitish orange ^{c)}	0.32	Red purple
	2C-C	0.33	Whitish orange ^{c)}	0.32	Purple
	2C-E	0.42	Whitish orange ^{c)}	0.32	Red purple
	2C-T-2	0.32	Orange	0.31	Red purple
	2C-T-4	0.36	Orange	0.34	Red purple
	DOI	0.40	Whitish orange ^{c)}	0.43	Red purple
	PMMA	0.11	Whitish yellow ^{c)}	0.35	Pale red purple
	4FMP	0.36	Whitish orange ^{c)}	0.47	Pale red purple
	TMA-6	0.27	Orange	0.30	Pale blue
	HMDMA	0.09	White ^{c)}	0.28	Purple
	BDB	0.51	Red	0.58	Pale purple
	MMDA-2	0.32	Orange	0.39	Pale blue
	bk-MBDB	0.39	Pale whitish yellow ^{c)}	0.66	Red purple
	bk-MDEA	0.43	Pale whitish yellow ^{c)}	0.69	Red purple
	2-aminoindan	0.45	Orange	0.45	Purple blue

a) Detected by UV_{254nm}. b) Detected by an iodoplatinate reagent. c) Colored spot on gray background.

よって、薬物のある程度絞り込むことが可能であり、指定薬物を同定するための予試験法として有用であることが示唆された。なお、指定薬物のうち、2C-I, 2C-T-2, 2C-T-4 の 3 化合物は、平成 20 年 1 月 18 日より、麻薬及び向精神薬取締法の規制対象となるため、指定薬物から削除された。

謝辞 本研究は、厚生労働科学研究費補助金並びに、厚生労働省医薬品審査等業務庁費で行われたもので関係各位に深謝する。

REFERENCES

- 1) Doi K., Miyazawa M., Fujii H., Kojima T., *Yakugaku Zasshi*, **126**, 815–823 (2006).
- 2) Takahashi M., Hirofumi M., Nagashima M., Seto T., Miyatake N., Suzuki J., Kamimura H., Yasuda I., *Ann. Rep. Tokyo Metr. Inst. P.H.*, **54**, 51–55 (2003).
- 3) Kikura-Hanajiri R., Kawamura M., Uchiyama N., Ogata J., Kamakura H., Saisho K., Goda Y., *Yakugaku Zasshi* (in press).
- 4) U.S. National Institute of Justice, "Color Test Reagents/Kits for Preliminary Identification of Drugs of Abuse," (<http://www.ncjrs.gov/pdffiles1/nij/183258.pdf>, 2000.), 10 Dec., 2007.
- 5) The Pharmaceutical Society of Japan, "Yakudokubutsu Shikhenho to Chukai 2006 –

- Bunseki Dokusei Taishoho-,” Tokyo Kagaku Dojin, Tokyo, 2006.
- 6) The Pharmaceutical Society of Japan, “Yakudokubutsu Kagaku Shikhenho to Chukai,” 4th ed., Nanzando, Tokyo, 1992.
- 7) Moffat A. C., Osselton M. D., Widdop B., “Clarke’s Analysis of Drugs and Poisons,” 3rd ed., Vol. 1, Pharmaceutical Press, London, 2004.

植物系違法ドラッグ製品のLC-MS分析による流通実態調査

(2008年6月2日受付)

(2008年7月10日受理)

河村麻衣子、花尻(木倉)瑠理、合田幸広

国立医薬品食品衛生研究所

Survey of current trends in the abuse of psychotropic plants using LC-MS

(Received June 2, 2008)

(Accepted July 10, 2008)

Maiko Kawamura, Ruri Kikura-Hanajiri, Yukihiko Goda

National Institute of Health Sciences

Abstract

In recent years, various products of non-controlled psychotropic plants have become popular in place of chemical psychotropic substances, which are now subject to stricter controls, and they are causing concern in Japan. To survey current trends in the abuse of psychotropic plants, 127 kinds of plant products (which were distributed from April 2004 to May 2007 in Japan) were analyzed using LC-ESI-MS. As a result of the analyses, 6 typical psychotropic plant components, *N,N*-dimethyltryptamine (DMT) (1.2% contents in the sample), mescaline (0.1-1.7%), salvinorin A (0.1-4.5%), lysergamide (LSA) (0.005-0.4%), harmine (0.04-3.1%), and harmaline (0.008-4.5%) were determined in the 51 products. Although one-third of the products were mixtures of several plant materials or they did not list their ingredients, the raw materials of some products could be estimated by the determination of the typical plant's components. On the other hand, the compounds in some products were not consistent with the ingredients listed on the products. The products which contained raw materials exclusively used as pharmaceuticals were also found to be distributed. Moreover, the contents of the active compounds in some products were sufficient to produce hallucinogenic effects in humans and there is concern about the damage to the health of their users. The proposed analytical method could be useful in the investigation of these plant products in the market.

Keywords: 植物系違法ドラッグ, LC-MS, 幻覚成分
psychotropic plant, LC-MS, hallucinogenic constituent

I 緒言

植物系違法ドラッグの多くは、伝統的な宗教儀式の際に、幻覚、興奮などの効果をもたらす植物として用いられてきた。しかし、かつては限定された地域、集団内で使用されていたこれらの植物も、インターネット等の発達により、日本国内でも容易に情報や植物そのものを入手できるようになった。植物系違法ドラッグ製品は、薬事法上の規制を逃れるために、ハーブ、健康食品、お香および植物標本等に偽装して販売されており、「ナチュラル」「スピリチュアル」などの宣伝文句も、摂取の危険性や違法性への意識を軽減し、手軽に購入、使用する要因となっている。また、植物由来を標榜して販売しているにもかかわらず、効果を增强するために、麻薬と類似構造を持つ合成化合物が添加されている製品も多く報告されている¹⁾²⁾。

このように偽装して販売している違法ドラッグに対応するため、平成19年4月から、興奮等の作用を有する蓋然性が高く、保健衛生上の危害が発生する恐れがある薬物や植物を厚生労働大臣が指定薬物として指定し、医療等の用途以外の製造、輸入、販売等を禁止することになった³⁾。しかし、市場に流通している植物系違法ドラッグ製品は、同一名で取り扱われていても、多くの異なった植物が流通していることが多く、また、特定の活性成分を含有する植物が広範な植物群である場合もあり、実態把握が困難である。そのため、薬事法の規制を逃れて販売される植物系違法ドラッグに対して同法による規制を行うには、その根拠や指定範囲等を個々の植物製品について検討すると共に、まずは市場流通製品の実態を調査し、把握する必要がある。

本研究では植物系違法ドラッグ市場の実態調査を目的として、過去数年にわたり、日本国内で流通している違法ド

連絡先: 〒158-8501 東京都世田谷区上毛貫1-18-1 国立医薬品食品衛生研究所 花尻(木倉)瑠理

Corresponding author: Ruri Kikura-Hanajiri, National Institute of Health Sciences
Kamiyoga 1-18-1, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan

ラッグ製品を広く入手し、LC-MSによる成分分析を行った。さらに、植物系違法ドラッグの指標成分として、麻薬成分である*N,N*-dimethyltryptamine (DMT) および mescaline、平成19年4月より指定薬物となった salvinorin A の他、代表的な植物含有幻覚成分である lysergamide (LSA)、harmine および harmaline について製品中の含有量を調査した。

II 実験方法

1. 試料

2004-2007年にインターネット等で収集した違法ドラッグ製品から、製品形態や植物名が記載されているなど植物由来と思われる127製品に着目し測定試料とした。外観から判別した製品形態は、乾燥植物68、樹脂状22、粉末16、紙巻タバコ状12、種子6、錠剤3であった。Table 1は測定製品に記載された植物名を示したもので、2種類以上の植物名が記載されていたものを Mix、「ハーブ」「スモーク」など記載情報から植物名称が判別できない24製品を Unknown に分類した。

Table 1. Number of products classified by indicated ingredients

Indicated ingredient		Indicated ingredient	
Salvia	25	Wild lettuce	1
Lotus	9	Lettuce opium	1
San Pedro	5	Catnip	1
Damiana	4	Harmala	1
Woodrose	4	Kava kava	1
Kratom	4	Mother wort	1
Amanita muscaria	3	Scullycap	1
Passion flower	3	Veiel nut	1
Dream herb	2	Voacanga	1
Wild dagga	2	Iboga	1
Ayawaska A,B	2	Yohimbe	1
Kolanut	2	Peyote	1
Mint	2	Mix herb	20
Rivea corymbosa	2	Unknown	24
Sinicuichi	2		

2. 試薬

本研究において、Fig. 1に示した興精神作用等を有する植物に存在する代表的な活性成分6化合物を、定量分析対象化合物とした。定量分析用の標準化合物は以下に示す方法で入手した。麻薬成分である *N,N*-dimethyltryptamine (DMT) および mescaline は過去に報告した方法^{6,7)}で合成したものをを使用した。Salvinorin A (平成19年4月より指定薬物として規制) は徳島文理大学香川薬学部の代田修博士より、lysergamide (LSA) は、星薬科大学の細江智夫博士よりご供与いただいた。Harmine および harmaline は、Aldrich 社 (MO, USA) より購入した。

天然由来の成分確認用化合物として、mitagynine を千葉大学の高山廣光博士よりご供与いただき、scopolamine、caffeine、atropine および yohimbine は和光純薬より購入した。Bufotenine (1 mg/mL アセトニトリル溶液) は Cerelliant 社製 (TX,

USA) を使用した。また、合成化合物の確認用として、5-MeO-DIPT (*N,N*-diisopropyl-5-methoxytryptamine、平成17年4月より麻薬として規制)、5-MeO-MIPT (*N*-isopropyl-5-methoxy-*N*-methyltryptamine、平成19年4月より指定薬物として規制)、2C-I (2-(4-iodo-2,5-dimethoxyphenyl)ethanamine、平成20年1月より麻薬として規制) は、国立医薬品食品衛生研究所において指定薬物分析標品として調製し、NMR および質量分析により構造を確認すると共に、HPLC および TLC で純度を確認したものを使用した^{6,7)}。それぞれの化合物はメタノール溶液を作成し標準溶液として用いた。その他の試薬は HPLC 用または試薬特級に準じたものを使用した。また、抽出溶液の膜ろ過フィルターとして UltraFree-MC (孔径 0.45 μ m) Millipore 社製 (MA, USA) を使用した。

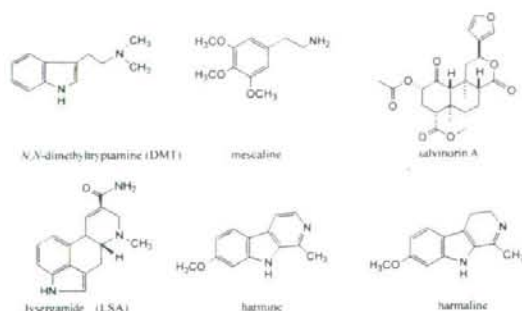


Fig. 1. Chemical structures of six active constituents in typical psychotropic plants

3. 装置および LC-MS 測定条件

高速液体クロマトグラフ質量分析計 (LC-MS): LC/MSD 1100 (Agilent, CA, USA)

カラム: Atlantis dC18 (2.1 \times 150 mm, 5 μ m) (Waters, MA, USA); 移動相: A 10 mM ギ酸アンモニウム緩衝液 (pH 3.5)、B アセトニトリル; A:B 90:10 (0 min)-liner gradient- 20:80 (60 min, 10 min hold); 流速: 0.3 mL/min; カラム温度: 40 $^{\circ}$ C; 注入量: 5 μ L (成分定量時 1 μ L); 検出: ダイオードアレイ検出器 (測定波長 254 nm)、質量検出器

イオン化法: エレクトロスプレーイオン化法 (ESI)、ポジティブおよびネガティブモード; フラグメント電圧: 100 V; 乾燥窒素ガス温度: 330 $^{\circ}$ C; 窒素流量: 13.0 mL/min; キャピラリー電圧: 3500 V; スキャン範囲: *m/z* 50-500

4. 試料抽出方法

粉末、樹脂状の製品は 10 mg、その他の乾燥植物等は乳鉢で粉砕し 20 mg を量りとり、メタノール 2 mL を加えて 10 分間超音波抽出を行った。2000 rpm で 5 分間遠心後、上清を膜ろ過して LC-MS 測定用試料とした。抽出操作後は速やかに測定を行った。

5. 成分定量法

本研究においては、製品中の様々な非特定成分も同時に

検出するために、内標準物質を添加せず、スキャン分析による絶対検量線法を用いた。定量を行った活性成分DMT, mescaline, salvinorin A, LSA, harmineおよびharmalineについて、標準溶液を0.05から10 μ g/mLの範囲にメタノールで希釈して検量線を作成した。LC-MSは注入量を1 μ Lに変更し、質量検出はポジティブモードで行った。測定試料は抽出操作を同様に行い、ろ液を各成分の定量範囲になるようメタノールで10倍または20倍に適宜希釈した。

III 結果および考察

1. 試料および測定方法の検討

試料の抽出方法およびLC-MS測定条件は、過去に報告した違法ドラッグ分析に用いた手法を用いて¹⁾、1g以下の少量で販売されていることの多い違法ドラッグ製品でも、少量で簡単な抽出操作を用いて多くの成分が検出できるよう検討を行った。

測定試料中の各化合物の定性はLC-MSによる、化合物の擬似分子イオン[M+H]⁺の確認、および各化合物標準溶液の保持時間並びにスペクトルとの比較により行った。また、代表的な植物含有幻覚成分であるDMT, mescaline, salvinorin A, LSA, harmineおよびharmalineの6化合物について、標準溶液の擬似分子イオン[M+H]⁺のピーク面積より絶対検量線を作成した。検出した各化合物の保持時間および[M+H]⁺を以下に示す。DMT (7.6 min, m/z 189), mescaline (6.0 min, m/z 212), LSA (6.5 min, m/z 268), harmine (14.2 min, m/z 215) およびharmaline (13.4 min, m/z 215)。Salvinorin A (33.1 min) については測定条件下において、[M+H]⁺であるm/z 433イオンよりも[M+H-60]⁺ m/z 373イオンを強く検出したため、m/z 373のピーク面積を用いて絶対検量線を作成した。検量線範囲はDMT, harmine, harmalineで0.05-5.0 μ g/mL, mescaline 0.1-10.0 μ g/mL, LSA 0.05-2.5 μ g/mL, salvinorin A 0.5-10.0 μ g/mLで良好な直線性($r^2 > 0.996$)が得られた。

検量線に基づき、製品中の化合物について含有量を算出した。Salvinorin Aをのぞく5化合物を検出した21製品をTable 2に、salvinorin Aを検出した30製品をTable 3に示した。なお、本研究においては違法ドラッグ製品の包括的な実態調査を目的としており、含有量に関しては参考値として記載した。

2. Mescaline含有製品

測定試料中9製品からmescalineを検出した(Table 2)。9製品のうち「サンペドロ」「ペヨーテ」の記載が6製品にあり、残り3製品にもサボテンのイラストが記載されていた。粉末状の製品No.19からは1.7%と乾燥サボテン状のNo.45-47の0.2-0.5%より高濃度のmescalineが検出された。他の粉末状製品であるNo.87-90.93からはmescalineが0.1-0.6%検出されたが、それと共に合成化合物である、5-MeO-DIPT (16.2 min, m/z 275)、5-MeO-MIPT (12.3 min, m/z 247)、2C-I (17.0 min, m/z 308)や、天然物由来と思われるharmine, harmaline, LSA, bufotenine (3.1 min, m/z 205), atropine (10.2 min, m/z 290)が

Table 2. Psychotropic compounds detected in the products

Product No.	Indicated ingredient	Form	Compounds (contents %, w/w)
19	San Pedro	Powder	Mescaline (1.7)
45	San Pedro	Dried plant	Mescaline (0.2)
46	San Pedro	Dried plant	Mescaline (0.2)
47	San Pedro	Dried plant	Mescaline (0.5)
87	Mix	Powder	Mescaline (0.6), 5-MeO-DIPT
88	Mix	Powder	Mescaline (0.3), 5-MeO-MIPT
89	Mix	Powder	Mescaline (0.3), Bufotenine, 5-MeO-AMT, Harmine*, Harmaline*, LSA*
90	San Pedro	Powder	Mescaline (0.2), Harmine (0.09), Harmaline (0.2), LSA (0.009), Atropine, 5-MeO-DIPT
93	Peyote	Powder	Mescaline (0.1), Harmine (0.04), Harmaline (0.07), 2C-I
36	Harmala	Seeds	Harmine (1.5), Harmaline (0.9)
43	Ayawaska A	Bark	Harmine (0.08), Harmaline (1.5)
44	Ayawaska B	Bark	DMT (1.2)
85	Unknown	Powder	Harmine (0.5), Harmaline (0.6), 5-MeO-AMT
100	Unknown	Resin	Harmine (3.1), Harmaline (4.5), LSA (0.08)
127	Yohimbe	Resin	Harmine (0.1), Harmaline (0.008), Yohimbine**
20	Woodrose	Seeds	LSA (0.2)
22	Woodrose	Seeds	LSA (0.4)
39	Woodrose	Seeds	LSA (0.2)
52	Rivea corymbosa	Seeds	LSA (0.005)
86	Woodrose	Powder	LSA (0.06)
126	Rivea corymbosa	Seeds	LSA (0.01)

* < 0.005%, ** < 0.01%

検出された。製品47のメタノール抽出物のLC-MSクロマトグラムをFig. 2に、製品90の、メタノール抽出物のLC-MSクロマトグラムをFig. 3に示した。製品90からは植物由来と推測されるmescaline 0.2%, harmine 0.09%, harmaline 0.2%, LSA 0.009%およびatropine, 合成化合物5-MeO-DIPTが添加されていたが、LC-MSのイオンクロマトグラムにより、各成分を検出することができた。

フェネチルアミン系幻覚薬のmescaline (3,4,5-trimethoxyphenethylamine)を主活性成分として含有する代表的な植物として、南米産のSan Pedro (*Trichocereus pachanoi*)、メキシコのPeyote (*Lophophoria williamsii*)等のサボテンが報告されている⁸⁾。Mescalineそのものは、日本において麻薬として規制されているが、含有植物に関する規制はない。Mescalineは3.75 mg/kg body weight程度で中毒効果があり、乾燥したSan Pedroには0.3-2.3%, Peyoteには1.5%程度含まれているという報告がある⁸⁾。

測定結果より、mescaline単体で効果を期待するには、乾燥サボテン (No.45-47)で40-100g、粉末 (No.19)で12g程度という多量の摂取が必要となる。しかしNo.87-90.93のように他の化合物を添加した製品は、少量の摂取で幻覚作用をもたらすことが予想された。

Table 3. Contents of salvinorin A detected in the products

Product No.	Indicated ingredient	Form	Amount of Salvinorin A (content %, w/w)	Package information
2	Unknown	Dried leaf	1.4	
28	Salvia	Dried leaf	1.3	× 5 concentration
29	Salvia	Dried leaf	0.6	× 10 concentration
30	Salvia	Dried leaf	2.0	× 15 concentration
31	Salvia	Dried leaf	1.4	× 20 concentration
49	Salvia	Dried leaf	0.5	
50	Unknown	Cigarette	0.3	
51	Unknown	Cigarette	0.2	
61	Salvia	Dried leaf	1.8	× 10 concentration
62	Salvia	Dried leaf	1.0	× 10 concentration
63	Salvia	Dried leaf	1.3	× 10 concentration
64	Salvia	Dried leaf	2.7	× 20 concentration
65	Salvia	Dried leaf	2.2	× 20 concentration
66	Salvia	Dried leaf	1.4	× 20 concentration
67	Salvia	Dried leaf	1.5	× 20 concentration
68	Salvia	Dried leaf	1.8	× 20 concentration
69	Salvia	Dried leaf	1.8	× 20 concentration
70	Salvia	Dried leaf	2.7	× 40 concentration
71	Salvia	Dried leaf	4.5	× 40 concentration
72	Salvia	Dried leaf	0.8	× 10 concentration
73	Salvia	Dried leaf	1.6	× 20 concentration
74	Salvia	Dried leaf	4.1	40mg salvinorin A
84	Unknown	Dried leaf	0.4	
94	Salvia	Dried leaf	1.1	× 5 concentration
95	Salvia	Dried leaf	1.3	× 10 concentration
96	Salvia	Dried leaf	3.4	× 30 concentration
97	Salvia	Dried leaf	2.1	× 40 concentration
102	Unknown	Cigarette	0.1	
119	Salvia	Dried leaf	0.4	× 2 concentration
120	Salvia	Dried leaf	3.4	× 7 concentration



Fig. 2. Total and specific (m/z 212) ion chromatograms of methanol extract from product No.47 by LC-MS

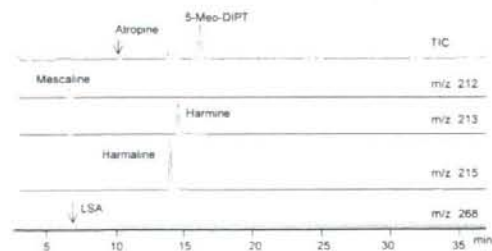


Fig. 3. Total and specific (m/z 212, 213, 215 and 268) ion chromatograms of methanol extract from product No.90 by LC-MS

3. DMT, harmine, harmaline含有製品

DMTはトリプタミン系幻覚剤の1種であり、セロトニンレセプターのアゴニストとして作用する⁹⁾。Phalaris属や *Psychotria viridis* (含有量0.1-0.6%) など数多くの植物中に存在し、中南米では古くからアヤワスカの醸造に使用されてきた。アヤワスカとは南米アマゾン川流域で宗教儀式に使用されている植物の通称であり、飲料の名でもある。アヤワスカはDMT含有植物と、モノアミンオキシダーゼ(MAO)阻害作用を持つ植物を同時摂取することで、通常速やかに行われるDMTの代謝を阻害し幻覚効果を高めているとされる⁹⁾。MAO阻害物質には主にβ-カルボリン系化合物である harmine, harmaline 等がある。Harmine, harmaline はハマビシ科に属する *Peganum harmala* の種子 (合計含有量2.0-4.0%) や、Caapi として知られる *Banisteriopsis caapi* (同0.05-1.9%) に含有することが報告されている⁹⁾。DMTそのものは日本において麻薬として規制されているが、含有植物は mescaline 同様、麻薬原料植物としての取り締まり対象にはなっていない。ハルマラは専ら医薬品として使用される成分本質(原材料)であるが、規制を逃れるために植物標本の名称で販売されていた可能性が考えられる。

測定試料中、DMTを1製品から、harmineおよびharmalineを7製品から検出した(Table 2)。No.43,44の「アヤワスカ」製品は2種の植物の乾燥樹皮をセットにしたもので、製品No.44からはDMT 1.2%、No.43からharmine 0.08%およびharmaline 1.5%が検出された。No.36の種子からはharmine 1.5%、harmaline 0.9%が検出され、No.43と比較すると2化合物の含有比が異なっていた。製品44のメタノール抽出物のLC-MSクロマトグラムをFig. 4に、製品36のLC-MSクロマトグラムをFig. 5に示した。

粉末、樹脂状だった他5製品は、製品にharmaline含有植物の記載がなく、他の成分が添加されていた。また、No.127は「ヨヒンベ」と記載されているにもかかわらず、ヨヒンベ

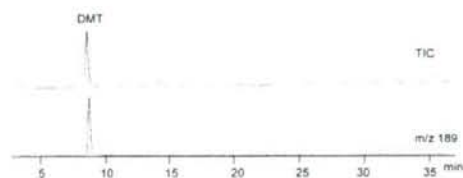


Fig. 4. Total and specific (m/z 189) ion chromatograms of methanol extract from product No.44 by LC-MS

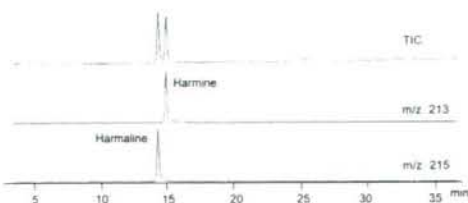


Fig. 5. Total and specific (m/z 213 and 215) ion chromatograms of methanol extract from product No.36 by LC-MS

(*Pausinystalia yohimbe*)の主活性成分yohimbine(14.0 min./ m/z 355)の含有量は0.01%以下であり、harmineが0.1%、harmalineが0.008%が検出された。

4. LSA含有製品

LSD (lysergic acid diethylamide)はよく知られた合成幻覚剤であるが、ヒルガオ科のHawaiian baby woodrose (*Argyria nervosa*)やMorning glory (*Ipomea violacea*)等の種子は、LSDと類似の構造を有するLSA (別名lysergic acid amide, ergine)を含有している。LSAは2-5 mgの摂取で精神作用があり、Hawaiian baby woodrose種子には乾燥重量で0.14%、Morning glory種子には0.02%程度存在するという報告がある⁸⁾。また、Ololiuqui (*Rivea corymbosa*)種子にも少量であるがLSAが含まれている¹⁰⁾。

LSAのみが確認された製品には、「ウッドローズ」および「リベアコリンボサ」の表記があり、種子または粉末状の形態だった (Table 2)。「ウッドローズ」製品のNo.20, 22, 39中のLSA含有量は0.06-0.4%、種子を砕いた粉末状のNo.86で0.06%、No.52, 126の「リベアコリンボサ」製品の含有量はさらに低く0.005-0.01%であった。粉末状製品においては、別の植物粉末や賦形剤等が混入しているか、もしくは、LSAもLSDと同様に熱、光により容易に分解するため、種子製品よりも含有量が低下した可能性が考えられる。Fig. 6に製品22のメタノール抽出物のLC-MSクロマトグラムを示した。

LSAの精神作用が現れるとされる2-5 mgを摂取するには、「ウッドローズ」製品で約1 g (6-9粒)、「リベアコリンボサ」製品で10 g (約350粒)程度が必要となる。「ウッドローズ」製品は5-10粒を一袋として販売されており、製品摂取によりLSAの効果が得られる可能性があるが、「リベアコリンボサ」製品は20粒入り程度を一袋として販売されていた。

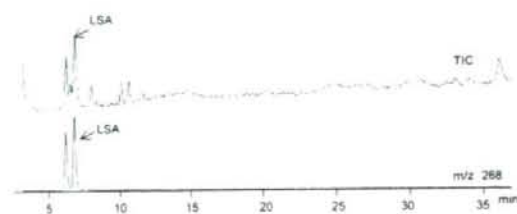


Fig. 6. Total and specific (m/z 268) ion chromatograms of methanol extract from product No.22 by LC-MS

5. Salvinorin A含有製品

メキシコ原産の*Salvia divinorum*に含まれるsalvinorin Aは、他の幻覚成分の多くがセロトニンレセプターに働くのとは異なり、 κ -オピオイド受容体のアゴニスト作用を有し¹¹⁾、喫煙で摂取する場合200-500 μ gの服用で幻覚作用が現れると報告されている¹²⁾。

製品の種類は「サルビア」記載のあるもので25種と多く (Table 1)、広く市場に流通していたと推測される。製品は、紙巻タバコの内容物も含めて、全て乾燥した葉を細かくした形状であり、2-40倍等の濃縮倍率の記載や、香料が添加さ

れるなどの製品形態が確認された。Table 3に示したように30製品からsalvinorin Aを検出した。Salvinorin A含有量を記載された濃縮倍率と比較すると、記載なし製品で0.4%前後、10倍濃縮で0.8-1.8%、20倍濃縮で1.4-2.7%、最大の40倍濃縮で2.0-4.5%となり、濃縮倍率と比例して含有量が多くなる傾向を確認した。濃縮を標榜する「サルビア」製品は、乾燥葉が通常の製品よりも黒く、salvinorin A含有を増やす目的で抽出エキスを付加していることが推測される。

「サルビア」製品のメタノール抽出物のLC-MSクロマトグラム (Fig. 7)は、標準化合物に用いたsalvinorin Aと同様に、抽出液中のsalvinorin Aも m/z 373が[M+H]⁺である m/z 433イオンよりも10倍以上の強度を示した。また、10倍濃縮製品No.29からはsalvinorin A以外に、植物系違法ドラッグとして知られるKratom (*Mitragyna speciosa*)含有成分のmitragynine¹³⁾ (25.0 min./ m/z 399)が検出された。摂取時のsalvinorin Aの幻覚作用を上記の報告を元に考えると、4%のsalvinorin Aが含まれている製品の場合、10 mgという微量の摂取で作用があらわれることになる。濃縮を標榜する製品は少量で販売されていたが、十分な幻覚効果が得られると推測でき、健康被害が危惧される。

一方、外見が類似した紙巻タバコ状の6製品中、No.50, 51, 102の3製品よりsalvinorin Aが検出された。他の2製品からは検出されず、Table 4に示した製品112からは植物由来幻覚成分であるscopolamine (7.1 min./ m/z 304)が検出された。これら紙巻タバコ状製品には、植物名称が記載されておらず、タバコの内容物は植物片の混合物であった。このように外観から含有成分を判別するのは困難な製品であっても、LC-MS分析により含有植物の推定が可能であった。なお、salvinorin A及び*Salvia divinorum*は平成19年4月より指定薬物として規制された。

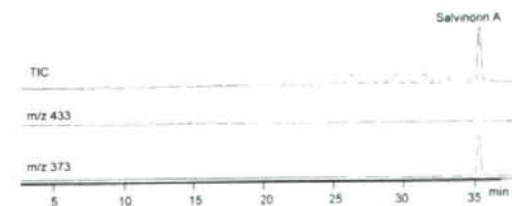


Fig. 7. Total and specific (m/z 433 and 373) ion chromatograms of methanol extract from product No.49 by LC-MS

6. その他検出成分

Table 4にLC-MS分析により、標準化合物と保持時間、およびスペクトルの一致から、製品中に確認された天然由来と思われる成分を示した。名称から推測される成分が検出された製品としては、No.37および55の「コーラナッツ」からcaffeine (6.8 min./ m/z 195)、No.42および124の「クラートン」よりmitragynineが検出された。また植物名称等の記載のない製品からはNo.108よりatropineおよびbufotenine (3.1 min./ m/z 205)、No.92よりatropine、No.112よりscopolamine、No.98, 107および110よりcaffeineなどが検出された。atropine, scopolamineはナ

ス科のチョウセンアサガオ属やペラドンナ属植物等に広く存在する。これらは「専ら医薬品」に区分され、誤食による中毒事例が多い植物であるが、まったく成分や名称表示のない製品が販売されており、健康危害が懸念される。

Table 4. Other compounds detected in the products

Product No.	Indicated ingredient	Form	Compounds (Retention time, [M+H] ⁺)
37	Kolanut	Powder	Caffeine (6.8 min, m/z 195)
42	Kratom	Dried leaf	Mitragynine (25.0 min, m/z 399)
55	Kolanut	Powder	Caffeine
92	Unknown	Resin	Atropine (10.2 min, m/z 290)
98	Mix	Tablet	Caffeine
107	Mix	Tablet	Caffeine
108	Unknown	Powder	Atropine, Bufotenine (3.1 min, m/z 205)
110	Mix	Tablet	Caffeine
112	Unknown	Cigarette	Scopolamine (7.1 min, m/z 304)
124	Kratom	Powder	Mitragynine

IV 結論

市場に流通していた植物系違法ドラッグ127製品をLC-MSを用いて測定した結果、mescaline (0.1-1.7%) 9製品、DMT (1.2%) 1製品、harmine (0.04-3.1%) 及びharmaline (0.008-4.5%) 7製品、LSA (0.005-0.4%) 6製品、salvinorin A (0.1-4.5%) 30製品を検出した。今回測定した製品中44製品は、複数の植物を混ぜ合わせた製品や植物名が記載されていなかった製品であったが、指標となる活性成分を検出することで、使用されている植物を推定できるものもあった。また、製品に記載されている植物名と内容物が異なる可能性が高い製品も確認された。本研究ではハーブ、健康食品、お香および植物標本等として販売されている植物系違法ドラッグ製品をLC-MSを用いて分析した。その結果、専ら医薬品として区分される植物原料を使用した製品や、健康被害が危惧される成分濃度が検出された製品等が確認できるなど、製品実態を把握する上で有用な結果が得られた。今後これらの植物製品についてどのように規制していくのか、行政レベルでの検討が必要と考える。

V 謝辞

本研究を行うにあたり、salvinorin Aをご供与いただきました徳島文理大香川薬学部の代田修博士、LSAをご供与いただきました星薬科大学の細江智夫博士、mitragynineをご供与いただきました千葉大学の高山廣光博士に感謝申し上げます。本研究は、厚生労働科学研究費補助金並びに厚生労働省医薬品審査等業務庁費で行われたものであり、関係各位に深謝いたします。

VI 文献

- 1) Kikura-Hanajiri R., Hayashi M., Saisho K., Goda Y.: Simultaneous determination of nineteen hallucinogenic

tryptamines/ β -calbolines and phenethylamines using gas chromatography-mass spectrometry and liquid chromatography-electrospray ionization-mass spectrometry., *J. Chromatogr. B*, **825**, 29-37 (2005).

- 2) Tomoko H., Hiroko S., Junichi N., Ichiro Y.: Analysis of Psychotropic component in commercial botanical drugs., Tokyo Kenko Anzen Kenkyu Senta Kenkyu Nenpo (Annual Report of Tokyo Metropolitan Institute of Public Health), **57**, 121-126 (2006).
- 3) 厚生労働省令第十四号 (2007) “薬事法第二条第十四項に規定する指定薬物及び同法第七十六条の四に規定する医療等の用途を定める省令”平成19年2月28日。
- 4) Ono M., Shimamine M., Takahashi K.: Studies on Hallucinogens. II. Synthesis of *N,N*-Dimethyltryptamine (DMT) and its related compounds., *Eisei Shikenjo Hokoku (Bulletin of National Institute of Hygienic Sciences)*, **91**, 36-8 (1973).
- 5) Ono M., Shimamine M., Takahashi K.: Studies on Hallucinogens. I. Synthesis of Mescaline Sulfate., *Eisei Shikenjo Hokoku (Bulletin of National Institute of Hygienic Sciences)*, **91**, 33-35 (1973).
- 6) Kikura-Hanajiri R., Kawamura M., Uchiyama N., Ogata J., Kamakura H., Saisho K., Goda Y.: Analytical data of designated substances (Shitei-Yakubutsu) controlled by the Pharmaceutical Affairs Law in Japan, part I: GC-MS and LC-MS., *Yakugaku Zasshi*, **128**, 971-9 (2008).
- 7) Uchiyama N., Kawamura M., Kamakura H., Kikura-Hanajiri R., Goda Y.: Analytical data of designated substances (Shitei-Yakubutsu) controlled by the Pharmaceutical Affairs Law in Japan, part II: Color test and TLC., *Yakugaku Zasshi*, **128**, 981-7 (2008).
- 8) John H. Halpern: Hallucinogens and dissociative agents naturally growing in the United States., *Pharmacology & Therapeutics*, **102**, 131-138 (2004).
- 9) Callaway JC., McKenna DJ., Grob CS., Brito GS., Raymon LP., Poland RE., Andrade EN., Andrade EO, Mash DC.: Pharmacokinetics of *Hoasca* alkaloids in healthy humans., *J. Ethnopharmacol.*, **65**, 243-56 (1999).
- 10) Hofmann A., Tschertner H.: Isolation of lysergic acid alkaloids from the Mexican drug ololiuqui (*Rivea corymbosa* (L.) Hall.f.), *Experientia*, **16**, 414 (1960).
- 11) Roth BL., Baner K., Westkaemper R., Siebert D., Rice KC., Steinberg S., Ernsberger P., Rothman RB.: Salvinorin A: a potent naturally occurring nonnitrogenous kappa opioid selective agonist., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 11934-9 (2002).
- 12) Siebert DJ.: *Salvia divinorum* and salvinorin A: new pharmacologic findings., *J. Ethnopharmacol.*, **43**, 53-6 (1994).
- 13) Takayama H.: Chemistry and pharmacology of analgesic indole alkaloids from the rubiaceae plant, *Mitragyna speciosa*., *Chem. Pharm. Bull.*, **52**, 916-28 (2004).



Simultaneous determination of 11 designated hallucinogenic phenethylamines by ultra-fast liquid chromatography with fluorescence detection

Jun Zhe Min^a, Yoshiha Shimizu^a, Toshimasa Toyo'oka^{a,*}, Shinsuke Inagaki^a,
Ruri Kikura-Hanajiri^b, Yukihiko Goda^b

^a Division of Analytical and Bio-Analytical Chemistry, School of Pharmaceutical Sciences, and Global COE Program, University of Shizuoka, 52-1 Yada, Suruga-ku, Shizuoka 422-8526, Japan

^b Division of Pharmacognosy, Phytochemistry and Narcotics, National Institute of Health Sciences, 1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan

ARTICLE INFO

Article history:

Received 30 April 2008

Accepted 25 August 2008

Available online 3 September 2008

Keywords:

Designated hallucinogenic

phenethylamines

Fluorescence labeling

4-(*N,N*-Dimethylaminosulfonyl)-7-fluoro-

2,1,3-benzoxadiazole

Ultra-fast liquid chromatography

ABSTRACT

To avoid the spreading of illegal drugs, a designated drug regulation system was introduced along with revision of the Pharmaceutical Affairs Law in Japan in 2006, and 32 substances including phenethylamine-type drugs were listed in April 2007. In this study, a new simultaneous determination method, based on ultra-fast liquid chromatography coupled with fluorescence detection (UFLC-FL), was developed for the 11 designated phenethylamine drugs. The phenethylamines were labeled with 4-(*N,N*-dimethylaminosulfonyl)-7-fluoro-2,1,3-benzoxadiazole (DBD-F) at 60 °C for 2 h in 0.1 M borax (pH 9.3). The resulting 11 fluorophores were completely separated by reversed-phase chromatography using an ACQUITY UPLC BEH C₁₈ column (2.1 mm × 100 mm 1.7 μm) and fluorometrically detected at 550 nm (excitation at 450 nm). The calibration curves obtained from the peak areas versus the injection amounts of the phenethylamines showed a good linearity. The limits of detection (signal-to-noise ratio of 3: S/N = 3) on the chromatogram were in the range from 10 fmol (PMMA) to 2.5 pmol (MMDA-2). Good accuracy (%) and precision (CV) by intra-day assay and inter-day assay were also obtained using the present procedure. The method was applied to the qualitative and quantitative analyses of phenethylamine in real products obtained from the Japanese market. As the results, BDB (0.24 mg/mg), MMDA-2 (0.98 mg/mL) and 2C-I (0.016 mg/mg) were identified from the different products (powder, liquid and mushroom like). Because the procedure is simple, selective and sensitive, the present method seems to be useful for the qualitative and quantitative analyses of the designated phenethylamines in various samples including biological specimens.

© 2008 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Not only are many hallucinogenic phenethylamines naturally occurring, but the phenethylamines and their analogues can be easily synthesized [1–6]. 3,4-Methylenedioxyamphetamine (MDA) and 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) are generally known as the “love drug” and “ecstasy”, respectively. Although several phenethylamines are strictly controlled by the Narcotics and Psychotropic Control Law in Japan, various new psychotropic compounds possessing the phenethylamine structure have appeared on city streets, especially on the Internet. Their illegal use, especially by young persons, is one of the current serious social problems in the world. To avoid their wide spread, some of these drugs were

listed as psychotropic substances controlled as “designated substances” by the Pharmaceutical Affairs Law in Japan in April 2007 [7–9]. Consequently, the qualitative and quantitative analyses are an important subject for the rapid screening of these drugs.

Many separation methods, such as HPLC-UV [10–12], GC [13] CE [14] and TLC [10] are reported for the qualitative analysis of the phenethylamine analogues. Furthermore, GC-MS [15–18] and LC-MS [19–28] are used for the preliminary study and mass screening to discriminate them from other hallucinogens. Although the individual determination of several phenethylamines have been performed [29,30], the simultaneous determination method of various phenethylamine analogues in a short run time, which is simple, sensitive, selective and quantitative, has not yet been developed. It is well known that fluorescence labeling is one of the most sensitive methods for various compounds. The phenethylamines possessing primary and secondary amino functional groups are derivatized with some fluorescence tagging reagents, e.g., 4-(*N,N*-dimethylaminosulfonyl)-7-fluoro-

* Corresponding author. Tel.: +81 54 264 5656; fax: +81 54 264 5593.
E-mail addresses: toyooka@u.shizuoka.ac.jp,
toyooka@ys2.u.shizuoka.ac.jp (T. Toyo'oka).