



ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

Forensic Science International

journal homepage: www.elsevier.com/locate/forensi

Use of stable isotope ratios for profiling of industrial ephedrine samples: Application of hydrogen isotope ratios in combination with carbon and nitrogen

Naoki Kurashima^{a,1}, Yukiko Makino^b, Yasuteru Urano^b, Kaori Sanuki^a,
Yukari Ikehara^{a,1}, Tetsuo Nagano^{b,*}

^a Central Customs Laboratory, Ministry of Finance, 6-3-5 Kashiwanoha, Kashiwa-shi, Chiba 277-0882, Japan

^b Graduate School of Pharmaceutical Sciences, The University of Tokyo, 7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-0033, Japan

ARTICLE INFO

Article history:

Received 27 August 2008

Received in revised form 30 March 2009

Accepted 1 April 2009

Available online 9 May 2009

Keywords:

Ephedrine

Methamphetamine

Hydrogen isotope ratio

IR-MS

Origin

ABSTRACT

The utility of hydrogen stable isotope ratio measurement by IR-MS for establishing the origin of ephedrine and pseudoephedrine (ephedrines), precursors of methamphetamine, was evaluated. There are two kinds of commercial semisynthetic ephedrines, one produced from molasses and the other from pyruvic acid. While the semisynthetic ephedrines derived from pyruvic acid cannot be discriminated from biosynthetic ephedrines and synthetic ephedrines based on $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values, they could be identified from the $\delta^2\text{H}$ values. The low deuterium content of biosynthetic ephedrines ($\delta^2\text{H}$: -193 to -151‰) allows a clear distinction from synthetic ephedrines ($\delta^2\text{H}$: -73 to -30‰), semisynthetic ephedrines derived from pyruvic acid ($\delta^2\text{H}$: $+75$ to $+148\text{‰}$) and semisynthetic ephedrines derived from molasses ($\delta^2\text{H}$: -74 to $+243\text{‰}$). The wide range of $\delta^2\text{H}$ values of semisynthetic ephedrines is therefore very useful for the detailed classification of ephedrines, in combination with the measurement of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values as described in our previous work. This study was carried out on a limited number of samples reflecting the various routes of ephedrines manufacture. But it has become apparent that this stable-isotope analysis is an appropriate means by which to screen for manufacturing process of ephedrines. This approach should be useful for worldwide precursor control of methamphetamine.

© 2009 Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

The abuse of amphetamine-type stimulants (ATS) is an increasing problem all over the world. In Asia, including Japan, the abuse of methamphetamine itself is still the most serious problem. ATS is easily synthesized in clandestine laboratories from precursor chemicals, so precursor control is essential for preventing illicit manufacture of ATS. A UNODC report has confirmed that drug profiling is a useful tool for monitoring the source and distribution of illicit drugs and precursors [1]. Trade in precursors of methamphetamine, such as ephedrine and pseudoephedrine (ephedrines), is strictly controlled and monitored in various countries, but nevertheless, a huge amount of illicit methamphetamine is still manufactured. This is because some precursors are diverted from the licit trade. In order to prevent the production of illicit methamphetamine, it is important not only to control and monitor the trade in ephedrines, but also to evaluate the origin of the ephedrines used as precursors of seized methamphetamine.

We have investigated a multifaceted approach for profiling of methamphetamine with the aim of identifying the sources and synthesis routes of illicitly manufactured methamphetamine and its precursors, in particular ephedrines. Impurity analysis and enantiomer profiling of methamphetamine have been used to enable the identification of the synthetic route and precursor for many seized methamphetamines [2–5]. Route-specific impurities can be detected by HPLC and GC/MS. But there is no report of detailed classification of the manufacturing process of ephedrines based on analysis with HPLC and GC/MS. Since stable isotope ratio mass spectrometry (IR-MS) has generally proved powerful for assessing the origin of compounds, we examined in this work whether it could be used to identify the origin of ephedrines used as a precursor for illicit methamphetamine production. For this purpose, we applied IR-MS to a set of licit samples reflecting the various routes of ephedrine manufacture. Commercial ephedrines are produced by three methods (synthesis, semisynthesis and biosynthesis). We previously reported that analyses of carbon and nitrogen isotope ratios were very useful in determining the synthetic source of ephedrine, even if it is difficult to discriminate methamphetamine crystals on the basis of their impurity profiles [6]. The quality of seized methamphetamine has recently risen markedly, and it is necessary to do further in-depth drug profiling.

* Corresponding author. Tel.: +81 3 5841 4850; fax: +81 3 5841 4855.

E-mail address: tlong@mol.f.u-tokyo.ac.jp (T. Nagano).

¹ Present address: Tokyo Customs, 2-56 Aomi, Koto-ku, Tokyo 135-8615, Japan.

Recently, some pharmaceutical companies have changed the manufacturing process of semisynthetic ephedrine for medical use; commercial semisynthetic ephedrine is now produced from molasses and from pyruvic acid [7,8]. The $\delta^{13}\text{C}$ value of semisynthetic ephedrine derived from pyruvic acid was similar to that of synthetic or biosynthetic ephedrine. Therefore, clear-cut classification cannot be achieved only from $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values. We anticipated that hydrogen isotope ratio analysis would likely be a powerful tool for identification of the origin of ephedrine. In general, hydrogen isotope patterns can be determined by ^2H NMR or isotope ratio mass spectrometry (IR-MS) [9–14]. We selected IR-MS, because it requires only about 10 min per measurement, while ^2H NMR takes about 8 h per measurement. A short measurement time is advantageous for forensic work. Here, we demonstrate the utility of hydrogen stable isotope ratio, in combination with $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values, determined by IR-MS for the discrimination of the origin of ephedrine used as a precursor of seized methamphetamine.

2. Materials and methods

2.1. Ephedrine and methamphetamine samples

The samples were as follows: sixteen *l*-ephedrine/HCl, 10 *d*-pseudoephedrine/HCl and one *d*-pseudoephedrine/(H_2SO_4)_{1/2} (shown in Table 1). There are two kinds of commercial semisynthetic ephedrine, one produced from molasses and the other from pyruvic acid. Seven methamphetamine/HCl samples were synthesized from the ephedrine by the Nagai or Emde method, as shown in Fig. 1. Two *l*-ephedrine/HCl samples seized in Myanmar, and 25 samples of illicit methamphetamine/HCl seized in Japan were also used.

2.2. Instruments

2.2.1. IR-MS system for carbon and nitrogen isotope ratio analysis

A stable isotope ratio mass spectrometer Delta^{Plus} (ThermoFinnigan, USA) equipped with an elemental analyzer, Flash EA1112 (ThermoFinnigan, USA), was used for the measurements of carbon and nitrogen isotope ratios of samples. Individual samples (300 μg) wrapped in tin foil were flash-combusted in an elemental analyzer to afford CO_2 , NO_x and H_2O in an O_2 atmosphere in a quartz reactor packed with Cr_2O_3 on alumina and $\text{CO}_3\text{O}_4/\text{Ag}$. The gases were passed through a copper reactor to reduce NO_x to N_2 . H_2O was trapped with $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$. Then CO_2 and N_2 were separated on a GC column, and subjected to IR-MS to obtain the $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ and $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ratios. The stable isotope ratios are expressed relative to the

conventional standards, i.e., Pee Dee Belemnite for carbon and atmospheric N_2 for nitrogen. The δ values were defined according to the following equation:

$$\delta^{13}\text{C or }^{15}\text{N} (\text{‰}) = \left[\frac{R_{\text{sample}}}{R_{\text{standard}}} - 1 \right] \times 1000.$$

where $R = ^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ or $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$. Each sample was measured five times. We checked the analytical stability daily by acquiring data from a known laboratory isotopic standard. Sample values were corrected based on the value of the laboratory isotopic standard. The repeatabilities routinely obtained were 0.1‰ or less for $\delta^{13}\text{C}$ and 0.2‰ or less for $\delta^{15}\text{N}$.

2.2.2. IR-MS system for hydrogen isotope ratio analysis

A stable isotope ratio mass spectrometer Delta V (Thermo Electron, USA) equipped with a high temperature conversion elemental analyzer TC/EA (Thermo Electron, USA) was used for the measurements of hydrogen isotope ratios of samples. Individual samples (245 μg for ephedrine and 230 μg for methamphetamine) wrapped in silver foil were pyrolyzed in an elemental analyzer to afford H_2 and CO in a ceramic reactor packed with glassy carbon. The gases were separated on a GC column, and subjected to IR-MS to obtain the $^2\text{H}/^1\text{H}$ ratios. The stable isotope ratios are expressed relative to the conventional standard, i.e., VSMOW (Vienna-Standard Mean Ocean Water). The δ values were defined according to the following equation:

$$\delta^2\text{H} (\text{‰}) = \left[\frac{R_{\text{sample}}}{R_{\text{standard}}} - 1 \right] \times 1000.$$

where $R = ^2\text{H}/^1\text{H}$. Each sample was measured five times except for samples No. 22–25. The number of measurement was once for the samples No. 22–25 in Table 4. The repeatabilities routinely obtained were 5‰ or less.

We confirmed that linearity was maintained in the range from 6 V to 10 V for hydrogen and carbon, and 1 V to 5 V for nitrogen by changing the sample amount. A correction factor (H_3^+ -factor) was determined by measuring the apparent D/H ratios for H_2 gas pulses of different intensity.

2.3. Substitution of exchangeable hydrogen

Ephedrine/HCl has three exchangeable hydrogen atoms, i.e., in the hydroxyl group (OH), amino group (NH) and HCl, while methamphetamine/HCl has two in NH and HCl. These hydrogen atoms in ephedrine/HCl may be exchanged during the synthesis of methamphetamine from ephedrine, and those of methamphetamine/HCl may be exchanged with ambient water vapor. These labile hydrogen atoms may therefore influence the $\delta^2\text{H}$ values, so that $\delta^2\text{H}$ values of ephedrine/HCl and methamphetamine/HCl must be interpreted with caution [15,16]. We searched for appropriate conditions for the exchange to minimize the effect of exchangeable hydrogen atoms. The $\delta^2\text{H}$ values for standard ephedrine/HCl and standard methamphetamine/HCl treated with water ($\delta^2\text{H}$: -233‰) were -82 and -66‰ , respectively. The $\delta^2\text{H}$ values for ephedrine/HCl and methamphetamine/HCl freeze-dried just after dissolution or 24 h after dissolution in Milli Q water were -35 and

Table 1
Ephedrine and pseudoephedrine samples used for measurements of $\delta^2\text{H}$, $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$.

Sample	Origin	Manufacturing method
1 <i>l</i> -Ephedrine/HCl	Extracted from ephdra plant	Biosynthetic (I)
2 <i>l</i> -Ephedrine/HCl	Extracted from ephdra plant	Biosynthetic (I)
3 <i>l</i> -Ephedrine/HCl	Extracted from ephdra plant	Biosynthetic (I)
4 <i>l</i> -Ephedrine/HCl	Imported from China	Biosynthetic (I)
5 <i>l</i> -Ephedrine/HCl	Extracted from ephdra plant	Biosynthetic (I)
6 <i>l</i> -Ephedrine/HCl	Imported from China	Biosynthetic (I)
7 <i>l</i> -Ephedrine/HCl	Extracted from ephdra plant	Biosynthetic (I)
8 <i>d</i> -Pseudoephedrine/HCl	Extracted from ephdra plant	Biosynthetic (I)
9 <i>d</i> -Pseudoephedrine/HCl	Imported from China	Biosynthetic (I)
10 <i>d</i> -Pseudoephedrine/HCl	Imported from China	Biosynthetic (I)
11 <i>l</i> -Ephedrine/HCl	Purchased from Fujiyakuin (Japan)	Synthetic (II)
12 <i>l</i> -Ephedrine/HCl	Purchased from Maruishi Pharmaceutical (Japan)	Synthetic (II)
13 <i>l</i> -Ephedrine/HCl	Purchased from Dainippon Pharmaceutical (Japan)	Synthetic (II)
14 <i>d</i> -Pseudoephedrine/HCl	Imported from Taiwan	Synthetic (II)
15 <i>d</i> -Pseudoephedrine/(H_2SO_4) _{1/2}	Imported from China	Synthetic (II)
16 <i>l</i> -Ephedrine/HCl	Imported from India	Semisynthetic (III)
17 <i>l</i> -Ephedrine/HCl	Imported from India	Semisynthetic (III)
18 <i>l</i> -Ephedrine/HCl	Imported from India	Semisynthetic (III)
19 <i>l</i> -Ephedrine/HCl	Imported from India	Semisynthetic (III)
20 <i>d</i> -Pseudoephedrine/HCl	Imported from India	Semisynthetic (III)
21 <i>d</i> -Pseudoephedrine/HCl	Imported from India	Semisynthetic (III)
22 <i>d</i> -Pseudoephedrine/HCl	Imported from India	Semisynthetic (III)
23 <i>l</i> -Ephedrine/HCl	Imported from Germany	Semisynthetic (IV)
24 <i>l</i> -Ephedrine/HCl	Imported from Germany	Semisynthetic (IV)
25 <i>d</i> -Pseudoephedrine/HCl	Imported from Germany	Semisynthetic (IV)
26 <i>d</i> -Pseudoephedrine/HCl	Imported from Germany	Semisynthetic (IV)
27 <i>d</i> -Pseudoephedrine/HCl	Imported from Germany	Semisynthetic (IV)

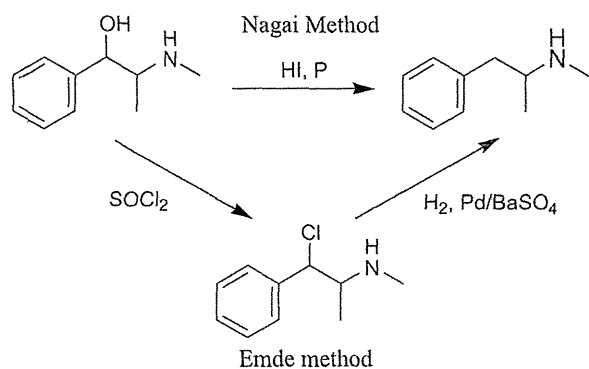


Fig. 1. Synthetic pathways to methamphetamine from ephedrine used in this study.

–37‰, and –38 and –41‰ respectively. These results mean that $\delta^2\text{H}$ values do not depend on the time taken for preparation of sample solutions. Further, we investigated the relationship of the $\delta^2\text{H}$ values and the concentration of the sample solution. When the amount of the water was over 5 ml per 5 mg of sample, the $\delta^2\text{H}$ values became constant. Therefore, we selected 5 mg sample weight in 5 ml of Milli Q water ($\delta^2\text{H}$: –62‰), with immediate freeze-drying.

3. Results

3.1. $\delta^2\text{H}$ values of legal ephedrines

We investigated the relationship between the origin of legal ephedrines (shown in Table 1) and the $\delta^2\text{H}$ values obtained by IR-MS. The $\delta^2\text{H}$ values for 27 samples are shown in Fig. 2. The $\delta^2\text{H}$ values for biosynthetic ephedrines were –193 to –151‰, those for synthetic ones were –73 to –30‰, those for semisynthetic ones

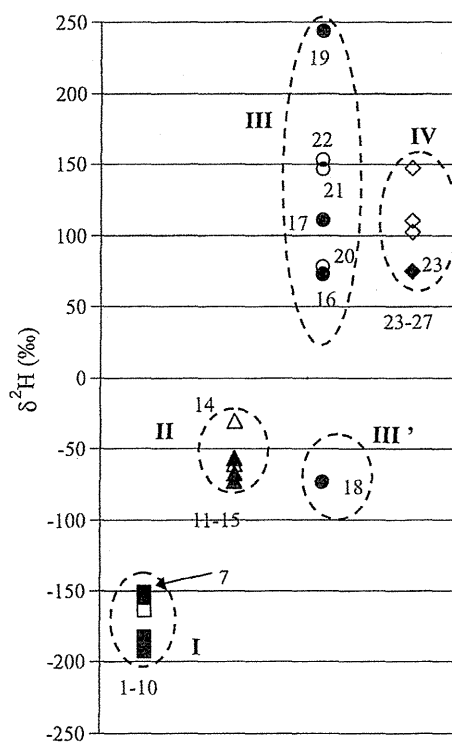


Fig. 2. $\delta^2\text{H}$ values for *l*-ephedrine and *d*-pseudoephedrine samples: biosynthetic (■), synthetic (▲), semisynthetic from molasses (●) and semisynthetic from pyruvic acid (◆). Open symbols indicate *d*-pseudoephedrine samples. The biosynthetic group is indicated as 'I', the synthetic group as 'II', the semisynthetic group from molasses as 'III', and the semisynthetic group from pyruvic acid as 'IV'.

from molasses were –74 to 243‰, and those for semisynthetic ones from pyruvic acid were 75 to 148‰.

3.2. $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values of ephedrines

We investigated the origin of 27 legal samples (shown in Table 1) on basis of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values obtained by IR-MS. The results are shown in Fig. 3. The $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values for biosynthetic ephedrines were –31.1 to –26.0‰ and –2.2 to 10.6‰ respectively, those for synthetic ephedrines were –29.2 to –28.0‰ and –11.0 to –6.4‰ respectively, those values for semisynthetic ephedrines from molasses were –23.7 to –22.0‰ and 2.4 to 7.3‰ respectively, and those for semisynthetic ephedrines from pyruvic acid were –27.5 to –25.3‰ and –4.1 to –2.8‰ respectively.

3.3. Relationships of $\delta^2\text{H}$ values of precursor ephedrines and synthesized methamphetamine

Table 2 summarizes the $\delta^2\text{H}$ values for precursor ephedrines and for methamphetamine synthesized from them. Exchangeable hydrogen atoms were substituted as described in Section 2.3. The decrease of $\delta^2\text{H}$ values in going from ephedrine/pseudoephedrine to the corresponding methamphetamine was in the range from 31 to 50‰. The decrease of the $\delta^2\text{H}$ values means that $\delta^2\text{H}$ for the benzylic hydrogen of methamphetamine is much lower than the value for the hydrogen of the benzylic hydroxyl group of ephedrine [9,14].

3.4. Effect of exchangeable hydrogen atoms of ephedrines/HCl and methamphetamine/HCl on $\delta^2\text{H}$ values

The $\delta^2\text{H}$ values of samples untreated and treated with Milli Q water (as described in Section 2.3) are shown in Table 3. The variations were from +4 to +29‰. The $\delta^2\text{H}$ values for ephedrine and methamphetamine may be affected by the drying process, the kind of solvent, ambient humidity and so on. In this study, exchangeable hydrogen atoms were substituted in order to eliminate the influence of these atoms on the measured $\delta^2\text{H}$ values. However, the change in the results due to substitution of exchangeable hydrogens would not have a great influence on the inference as to the origin of the samples.

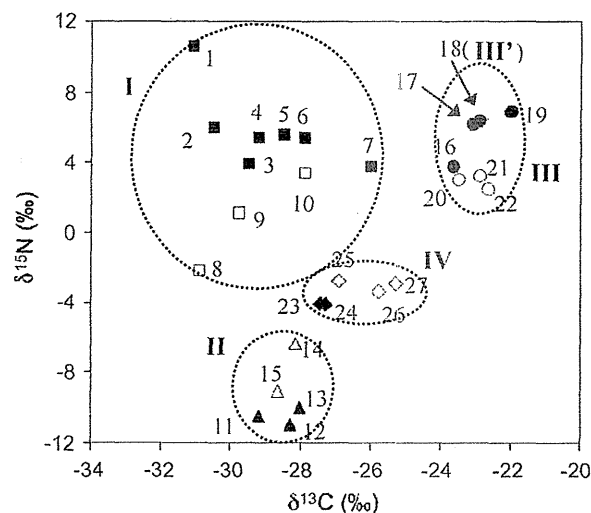


Fig. 3. $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values for *l*-ephedrine and *d*-pseudoephedrine samples: biosynthetic (■), synthetic (▲), semisynthetic from molasses (●), and semisynthetic from pyruvic acid (◆). Open symbols indicate *d*-pseudoephedrine samples. I–IV are the same as in Fig. 2.

Table 2
The $\delta^2\text{H}$ values of ephedrines used as precursors and the resulting methamphetamine (‰).

Compound	Synthetic pathway	$\delta^2\text{H}$	Difference
<i>d</i> -Methamphetamine/HCl (S-1)	Nagai	27	-50
<i>d</i> -Pseudoephedrine/HCl (semisynthetic from molasses)		77	
<i>d</i> -Methamphetamine/HCl (S-2)	Nagai	107	-41
<i>d</i> -Pseudoephedrine/(semisynthetic from pyruvic acid)		148	
<i>d</i> -Methamphetamine/HCl (S-3)	Nagai	33	-38
<i>l</i> -Ephedrine/HCl (semisynthetic from molasses)		71	
<i>d</i> -Methamphetamine/HCl (S-4)	Nagai	38	-37
<i>l</i> -Ephedrine/HCl (semisynthetic from pyruvic acid)		75	
<i>d</i> -Methamphetamine/HCl (S-5)	Nagai	-175	-36
<i>l</i> -Ephedrine/HCl (biosynthesis) ^a		-139	
<i>d</i> -Methamphetamine/HCl (S-6)	Emde	-180	-41
<i>l</i> -Ephedrine/HCl (biosynthesis) ^a		-139	
<i>d</i> -Methamphetamine/HCl (S-7)	Nagai	-215	-31
<i>l</i> -Ephedrine/HCl (biosynthesis)		-184	

^a *l*-Ephedrine/HCl is same.

3.5. Stable isotope ratio of seized samples

We applied the IR-MS technique to identify the origin of two ephedrine/HCl samples seized in Myanmar. The $\delta^2\text{H}$, $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values were -54, -23.1 and 7.1, and -53, -23.7 and 7.3 respectively. Table 4 summarizes the $\delta^2\text{H}$, $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values of methamphetamine samples seized in Japan.

4. Discussion

The $\delta^2\text{H}$ values of biosynthetic ephedrines (I) showed a remarkable difference from those of synthetic (II) and semisynthetic ephedrines (III and IV) in Fig. 2. In a plot of $\delta^{13}\text{C}$ versus $\delta^{15}\text{N}$, semisynthetic ephedrines from pyruvic acid (IV, No. 23–27) were distinct from cluster III of semisynthetic ephedrines from molasses, as shown in Fig. 3. But, the semisynthetic ephedrines

Table 3
The $\delta^2\text{H}$ values of samples untreated and treated with Milli Q water (‰).

Sample	$\delta^2\text{H}$ of samples untreated with Milli Q water	$\delta^2\text{H}$ of samples treated with Milli Q water	Change in $\delta^2\text{H}$
<i>l</i> -Ephedrine/HCl	-203	-184	19
<i>l</i> -Ephedrine/HCl	-151	-139	12
<i>l</i> -Ephedrine/HCl	65	71	14
<i>l</i> -Ephedrine/HCl	63	75	12
<i>d</i> -Pseudoephedrine/HCl	65	77	12
<i>d</i> -Pseudoephedrine/HCl	120	148	28
<i>d</i> -Methamphetamine/HCl	-237	-220	17
<i>d</i> -Methamphetamine/HCl	-228	-224	4
<i>d</i> -Methamphetamine/HCl	-212	-198	14
<i>d</i> -Methamphetamine/HCl	-204	-197	7
<i>d</i> -Methamphetamine/HCl	-200	-178	22
<i>d</i> -Methamphetamine/HCl	-195	-184	11
<i>d</i> -Methamphetamine/HCl	-180	-168	12
<i>d</i> -Methamphetamine/HCl	-124	-99	25
<i>d</i> -Methamphetamine/HCl	-107	-92	15
<i>d</i> -Methamphetamine/HCl	-89	-73	16
<i>d</i> -Methamphetamine/HCl	-64	-45	19
<i>d</i> -Methamphetamine/HCl	-18	-6	12
<i>d</i> -Methamphetamine/HCl	-1	28	29
<i>d</i> -Methamphetamine/HCl	47	62	15

Table 4
Stable isotope ratios of seized methamphetamine samples (‰).

Sample	$\delta^2\text{H}$	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$
1	-237	-28.7	6.1
2	-230	-28.7	6.1
3	-228	-29.4	7.3
4	-227	-28.7	6.4
5	-224	-28.5	6.2
6	-212	-29.9	6.6
7	-208	-27.6	4.2
8	-206	-27.2	4.8
9	-204	-27.6	4.4
10	-202	-26.9	2.9
11	-200	-27.1	3.0
12	-196	-29.4	5.4
13	-195	-29.5	5.8
14	-192	-26.9	1.5
15	-180	-27.0	3.3
16	-122	-31.9	0.3
17	-107	-30.3	0.6
18	-64	-32.8	2.0
19	-18	-32.5	3.1
20	-1	-23.1	5.1
21	47	-23.3	9.4
22	19	-26.3	-2.6
23	41	-26.2	-3.2
24	45	-26.1	-3.0
25	46	-26.2	-2.2

(IV, No. 23–27) were located close to biosynthetic ephedrines (I) and synthetic ephedrines (II) in the plot of $\delta^{13}\text{C}$ versus $\delta^{15}\text{N}$. Thus, classification is not clear-cut based on $\delta^{13}\text{C}$ versus $\delta^{15}\text{N}$. Ternary isotope plots of $\delta^2\text{H}$, $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ in three-dimensions provided a graphical illustration of the discrimination of commercial ephedrines (Fig. 4). Four ephedrines (I–IV) used in this study were respectively dispersed into well-defined clusters in combination of $\delta^2\text{H}$, $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$. No. 8 sample is clearly confirmed to be biosynthetic ephedrine in Fig. 4. Similarly, No. 23 and 24 samples are confirmed to be semisynthetic ephedrine from pyruvic acid. The semisynthetic ephedrines from molasses were grouped into one in Fig. 4, but in detail they could be profiled into two groups (III and III') by using the value of $\delta^2\text{H}$ (Fig. 2). This means that $\delta^2\text{H}$ value is very useful for in-depth drug profiling. It is presumed that the lower deuterium content of No.18 sample ($\delta^2\text{H}$: -74 ‰) may be due to the use of benzaldehyde from natural source or hydrolysis of benzal chloride at the manufacturing process [14,17]. We applied the IR-MS technique to identify the origin of two ephedrine/HCl samples seized in Myanmar. Since they were located close to No. 18 ephedrine in Fig. 4, it is presumed that the origin of the seized

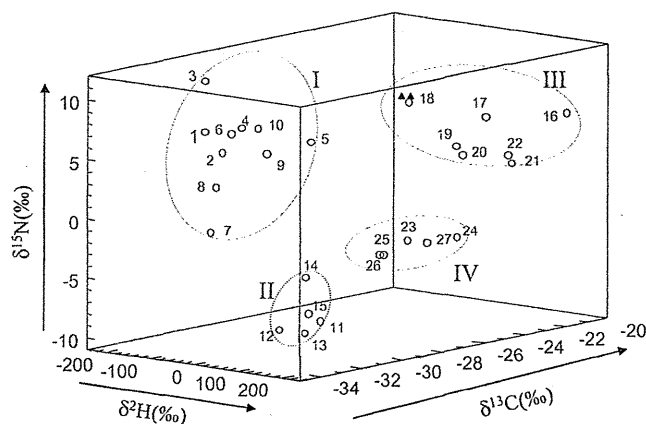


Fig. 4. Ternary isotope plots of $\delta^2\text{H}$, $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ in three-dimensions of ephedrines: numbers from 1 to 27 are the same as in Fig. 2. Seized samples are plotted as a triangle (▲). I–IV are the same as in Fig. 2.

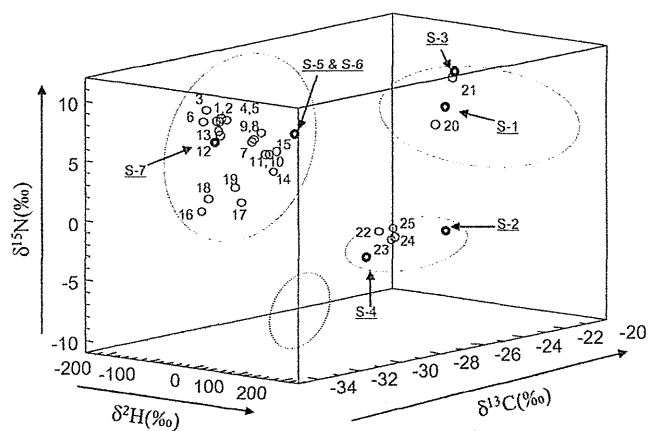


Fig. 5. Ternary isotope plots of $\delta^2\text{H}$, $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ in three-dimensions of methamphetamine: numbers from 1 to 25 are assigned to the seized samples in Table 4. Marks from S-1 to S-7 are 7 methamphetamines synthesized from known ephedrines in Table 2.

ephedrine may be similar to semisynthetic ephedrine III'. With same scale and three-dimensions as shown in Fig. 4, Fig. 5 shows the ternary isotope plots of $\delta^2\text{H}$, $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ for synthesized (seven samples in Table 2) and seized methamphetamines (25 samples in Table 4). Since each synthesized methamphetamine was located to the cluster of each origin of ephedrines used as precursors, it can be presumed that the decrease of $\delta^2\text{H}$ values of precursor ephedrines were not so greatly changed in the synthesized methamphetamine to disturb the discrimination (Fig. 5). It is presumed that the IR-MS analysis of seized methamphetamine will give an appropriate screening for the manufacturing process of ephedrines used as precursor. For example, it can be clearly inferred that samples No. 1–19 in Table 4 were synthesized from biosynthetic ephedrine on the basis of the location in Fig. 5. Similarly, it can be presumed that methamphetamine samples No. 20 and 21 were synthesized from semisynthetic ephedrine (molasses group) and No. 22–25 from semisynthetic ephedrines (pyruvic acid group). Therefore, the $\delta^2\text{H}$ value is useful in determining the manufacturing process of ephedrine used to prepare methamphetamine, in combination with the values of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$.

5. Conclusion

Measurement of $\delta^2\text{H}$, $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values by IR-MS appears to be effective for discrimination of the manufacturing process of ephedrines. The inclusion of $\delta^2\text{H}$ analysis enables us to discriminate ephedrines having similar $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values. In general, hydrogen isotope patterns are obtainable with ^2H NMR or isotope ratio mass spectrometry (IR-MS), and are useful to trace a substance's origin [9–14]. The hydrogen isotope patterns in this study were consistent with the site-specific deuterium contents observed with ^2H -NMR in our previous work [9]. IR-MS requires only about 10 min per measurement, and the IR-MS technique is expected to be very useful for profiling of methamphetamine and

monitoring the source of ephedrines used for clandestine manufacture of methamphetamine. This study was carried out on a limited number of ephedrines samples, reflecting the various routes of ephedrine manufacture, and our results confirm the feasibility of using hydrogen stable isotope ratio in combination with the values of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ for profiling ephedrine and methamphetamine. A larger-scale study seems warranted. This approach should be a useful tool in worldwide precursor control of methamphetamine.

Acknowledgments

We are grateful to Dr. B. Remberg and Mr. Wong Hoy Yuen (United Nations Office on Drugs and Crime, UNODC) for the supply of ephedrine samples. The present work was supported by a Health Sciences Research Grant from the Ministry of Health, Labor and Welfare, Japan.

References

- [1] B. Remberg, A.H. Stead, Drug characterization/impurity profiling, with special focus on methamphetamine: recent work of the United Nations International Drug Control Programme, *Bull. Narcotics*, LI (1999) 97–117.
- [2] L. Dujourdy, V. Dufey, F. Besacier, N. Miano, R. Marquis, E. Lock, L. Aalberg, S. Dieckmann, F. Zrcek, J.S. Bozenko Jr., Drug intelligence based on organic impurities in illicit methamphetamine samples, *Forensic Sci. Int.* 177 (2008) 153–161.
- [3] Y. Qi, I.D. Evans, A. McCluskey, Australian Federal Police seizures of illicit crystalline methamphetamine ('ice') 1998–2002: impurity analysis, *Forensic Sci. Int.* 164 (2006) 202–210.
- [4] B.J. Ko, S. Suh, Y.J. Suh, M.K. In, S.H. Kim, The impurity characteristics of methamphetamine synthesized by Emde and Nagai method, *Forensic Sci. Int.* 170 (2007) 142–147.
- [5] J.S. Lee, W.K. Yang, E.Y. Han, S.Y. Lee, M.A. Lim, H.S. Chung, J.H. Park, Monitoring precursor chemicals of methamphetamine through enantiomer profiling, *Forensic Sci. Int.* 173 (2007) 68–72.
- [6] N. Kurashima, Y. Makino, S. Sekita, Y. Urano, T. Nagano, Determination of origin of ephedrine used as precursor for illicit methamphetamine by carbon and nitrogen stable isotope ratio analysis, *Anal. Chem.* 76 (2004) 4233–4236.
- [7] Patent WO9909195, WO0202791.
- [8] Y. Makino, Y. Urano, T. Nagano, Investigation of the origin of ephedrine and methamphetamine by stable isotope ratio mass spectrometry: a Japanese experience, *Bull. Narcotics* 57 (2005) 63–78.
- [9] T. Matsumoto, Y. Urano, Y. Makino, R. Kikura-Hanajiri, N. Kawahara, Y. Goda, T. Nagano, Evaluation of characteristic deuterium distribution of ephedrines and methamphetamines by NMR spectroscopy for drug profiling, *Anal. Chem.* 80 (2008) 1176–1181.
- [10] S. Armellini, E. Brenna, G. Fronza, C. Fuganti, M. Pinciroli, S. Serra, Establishing the synthetic origin of amphetamines by ^2H NMR spectroscopy, *Analyst* 129 (2004) 130–133.
- [11] J.F. Carter, E.L. Titterton, M. Murray, R. Sleeman, Isotopic characterization of 3,4-methylenedioxymethylamphetamine (ecstasy), *Analyst* 127 (2002) 830–833.
- [12] P.A. Hays, G. Remaud, E. Jasmin, Y.L. Martin, Geographic origin determination of heroin and cocaine using site-specific isotopic ratio deuterium NMR, *J. Forensic Sci.* 45 (2000) 551–552.
- [13] S. Armellini, E. Brenna, S. Frigoli, G. Fronza, C. Fuganti, D. Mussida, Determination of the synthetic origin of methamphetamine samples by ^2H NMR spectroscopy, *Anal. Chem.* 78 (2006) 3113–3117.
- [14] H.W. Schmidt, R.A. Werner, W. Eisenrich, Systematics of ^2H -patterns in natural compounds and its importance for the elucidation of biosynthetic pathways, *Phytochem. Rev.* 2 (2003) 61–85.
- [15] B.N. Smith, B.S. Jacobson, $^2\text{H}/^1\text{H}$ and $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios for classes of compounds isolated from potato tuber, *Plant Cell Physiol.* 17 (1976) 1089–1092.
- [16] S. Epstein, C.J. Yapp, J.H. Hall, The determination of the D/H ratio of non-exchangeable hydrogen in cellulose extracted from aquatic and land plants, *Earth Plant. Sci. Lett.* 30 (1976) 241–251.
- [17] M. Butzenlechner, A. Rossmann, H.-L. Schmidt, Assignment of bitter almond oil to natural and synthetic sources by stable isotope ratio analysis, *J. Agric. Food Chem.* 37 (1989) 410–412.

実用技術最前線

薬用植物の保存の歴史と現状を紹介する。日本における薬用植物の資源確保に関する研究は、多くの薬用植物園が行っているが、その中心になってきたのは国立医薬品食品衛生研究所薬用植物栽培試験場であった。現在は、新組織の独立法人医薬基盤研究所 薬用植物資源研究センター筑波、北海道、和歌山、種子島研究部で行っている。特に国策であったアヘンの種子(ケシ)の系統保存は継続的に行っている。漢方薬原料植物の保存と栽培指導、国外の薬草の系統維持、乱用薬物とされる植物の保存をし、専門家(警察・保健所等)への鑑定指導、新しい遺伝子レベルの技術の導入や新薬の開発のための薬用植物の導入と保存も行っている。

薬用の保存と栽培に関する動きを、1. 薬用植物関連の種子の保存と供給に関して、医薬基盤研究所 薬用植物資源研究センターの紹介、2. 薬用植物の栽培指針と種苗登録された薬用植物、3. WHOと薬用植物として紹介する。



お茶の水女子大学 生活環境教育研究センター
富山大学和漢医薬学総合研究所 客員教授
(元国立衛生試験所筑波薬用植物栽培試験場場長)
佐竹 元吉【さたけ もとよし】

昭和15年生まれ、出身地・神奈川県横浜市。
学歴：昭和39年東京薬科大学卒業
学位：平成7年東亜大学博士号(学術)
職歴：昭和39年国立衛生試験所入所、昭和55年国立衛生試験所 筑波薬用植物栽培試験場 育種生理研究室長、昭和60年 同 筑波薬用植物栽培試験場 場長、平成3年 同 生薬部長、平成7年 国立医薬品食品衛生研究所(改名)生薬部長、平成13年 国立医薬品食品衛生研究所 退職、平成13年 財団法人日本薬剤師研修センター 囑託、平成13年 Peru, Sur University, Guest Professor (ペルー南大学客員教授)、平成14年 お茶の水女子大学 生活環境研究センター教授、平成15年 食品安全委員会 自然毒・カビ毒調査会議長、平成16年 生薬・薬用植物の国際調和会議議長(七カ国とWHO 東南アジア)、平成18年 お茶の水女子大学生生活環境研究センター退職、平成18年お茶の水女子大学生生活環境研究センター客員教授(平成20年4月 生活環境教育研究センターへ改名)、平成20年 富山大学和漢医薬学総合研究所客員教授 現在に至る。

薬用植物とその保存

■はじめに

薬用植物は人類の歴史とともに利用されてきた植物ですが、社会生活多様化と文明の交流で少しずつ増えてきました。薬用植物の数は簡単には数え上げられませんが、およそ身のまわりの植物の1割と考えられます。世界の維管束植物は約30万種とすると約3万種類ぐらいあるのではないのでしょうか。これらの植物は各国の伝統医療として使われますがその一部は化学医薬品原料としても利用されています。一方、薬用植物の他の生物と同様に生育環境の変化で、その数が減少してきています。

日本における薬用植物の資源確保に関する研究は、多くの薬用植物園で行っていましたが、その中心になってきたのは国立医薬品食品衛生研究所薬用植物栽培試験場(現在は独立法人医薬基盤研究所 薬用植物資源研究センター)でした。

薬用の保存と栽培に関する動きを1. 薬用植物関連の種子の保存と供給に関して、医薬基盤研究所 薬用植物資源研究センターの紹介、2. 薬用植物の栽培指針と種苗登録された薬用植物、3. WHOと薬用植物として紹介する。

■薬用植物関連の種子の保存と供給

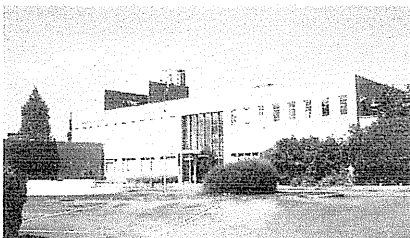
江戸時代、各藩はそれぞれ御薬園を持ち薬の供給に努めていた。明治以後、残されたものは小石川御薬園である。内務省（厚生労働省の前身）の管理となり後、東京大学付属植物園として国民に親しまれている。厚生労働省は医薬品供給のために埼玉県春日部市に薬用植物栽培試験場を作り、その後、和歌山（ケシ栽培）、伊豆（熱帯植物収集保存）、種子島（当時の最南端の植物園）、北海道（北方系統の栽培）の4所を作り、現在は伊豆以外が継続的に研究活動を行っている。春日部市の薬草園は1980年筑波に移転し、新しい活動拠点となった。

医薬基盤研究所 薬用植物資源研究センター（筑波、種子島、北海道、和歌山研究部）

1980年に移転した筑波薬用植物栽培試験場では、薬用植物の栽培指導、薬用資源の確保と保存、新種苗の育成、バイオテクノロジー技術の導入、薬用植物に関する知識の普及、国際的な研究交流を目標に活動を開始した。当時国内に分散されていた薬用植物を集めて、標本園と温室で保存された。国内外の種子の収集と保存を行った。当時、最先端の種子保存個を誇っていた農林水産省の規模にはかなわないが小型の貯蔵庫が完備された。栽培に関しては栽培指針を作り標準的な栽培法を公にした。新しい技術の導入として、植物に遺伝子導入の基盤研究に成功した。ペラドンナにアグロバクテリウムを感染させ、毛状根を作らせ、これを再分化させて植物体を作り、その植物がメンデルの法則道理想質が分離することを証明した。また、中国との交流な困難何時代に、多くの中国の研究者を受け入れ中国の技術向上に貢献するとともに、多くの中国の薬用植物の研究成果も導入された。資源保存の中心は和歌山でやっていたケシ栽培技術を筑波で継承して、現在でも継続的に保存されている。北海道では北方系の薬用植物の実用栽培に貢献した。

現在の研究の一部を紹介す。

下の写真は3研究部である。



1. 筑波研究部



2. 北海道研究部



3. 種子島研究部

種子島研究部の植物を紹介する。



3. ガジュツ（種子島）



4. キナノキ（種子島）



5. チョウジ（種子島）

薬用植物資源研究センター筑波研究部の研究内容

1. 栽培関係：ケシの系統保存、薬用植物栽培指針作成に関する検討、カノコソウ生産に関する研究

(1) ケシの系統保存はPapaver somniferum L. Papaver setigerum DC. の系統約50系統の保存を行っている。

また、それ以外にもハカマオニゲシ、オニゲシ、ヒナゲシなどケシ属植物やアサ、コカノキを栽培し、それらをもとに、「麻薬関連植物講習会」を主に県薬務課、警察など関連機関を対象に毎年5月に行っている。



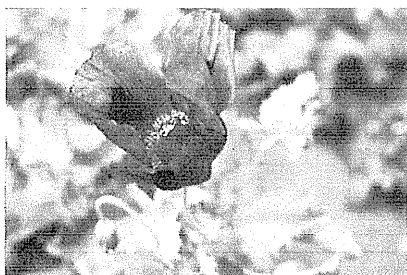
7. イラン-1



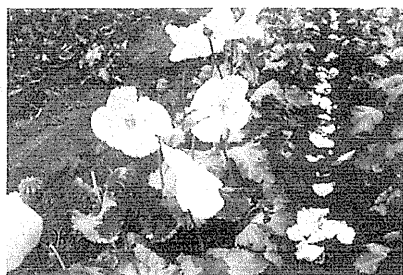
8. インド-6



9. インド-8



10. トルコ



11. 南広3号



12. セチゲルム (ピンク)

国内のアヘン生産栽培系統の一貫種の系統保存および栽培農家への種子の供給を行っている。

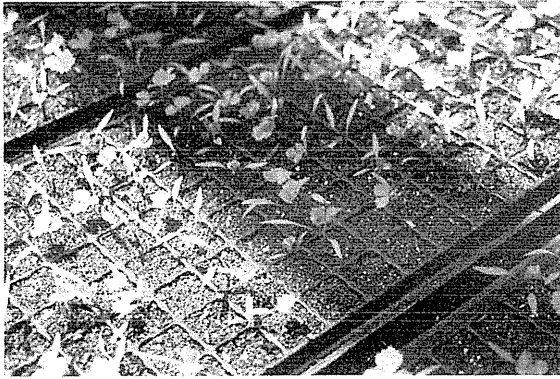


13. ケシの一貫種

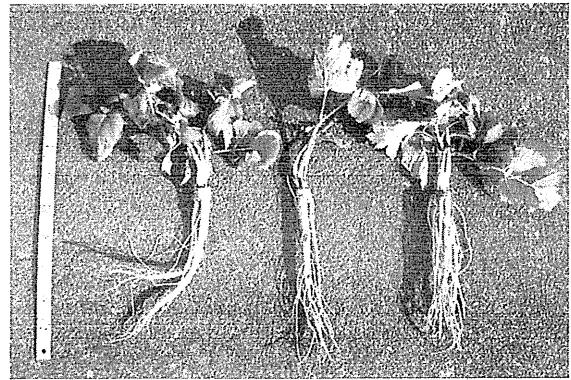
(2) 薬用植物栽培指針作成に関する研究

シシウド (*Angelica pubescens* Maxim.) は唐独活といい、中国では四川省、貴州省、湖北省に産地がある。漢方210処方のうち5処方に処方されているが、現在、国内で生産で栽培は行われていなく、国内における栽培法確立を行う必要がある。

自生地の異なる種子を導入し、生育特性の比較やセルトレイを利用した栽培法確立のため、施肥量試験などを行っている。



14. セル苗 育苗

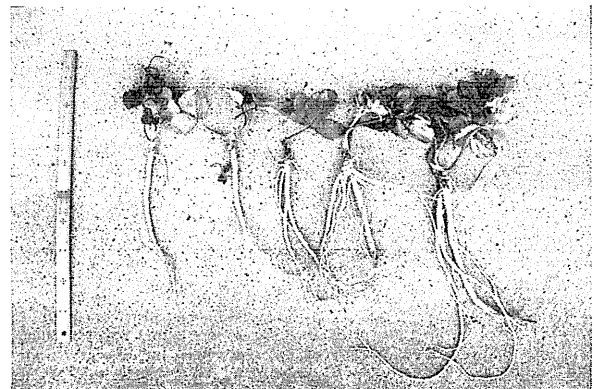


15. 収穫物

ハマボウフウ (*Glehnia littoralis* Schmidt ex Miq.) は発汗、解熱、鎮痛薬として配合される。ハマボウフウの国内における栽培法確立のための試験を行っている。現在はセル苗の栽培法確立のために栽植密度、施肥量の検討および直播栽培法の検討などを行っている。



16. セル苗 栽培



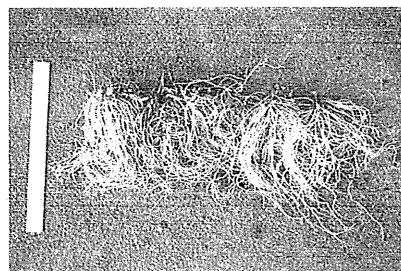
17. 収穫物

(3) カノコソウ生産に関する研究

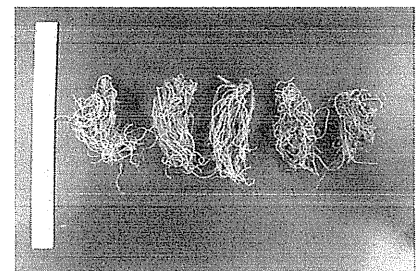
カノコソウ (*Valeriana fauriei* Briq) の乾燥した根茎は吉草根と呼ばれ、鎮静、鎮痙および駆風薬として婦人薬の処方に配合される。国内のカノコソウ生産量は、最盛期には、年間6,000kgを超えていたが、平成17年度には1,061kgに減少し、慢性的な供給不足に陥っている。本研究ではカノコソウの国内における安定した持続的供給を目指して、栽培技術および調製加法の確立を目的とした試験を行っている。



18. カノコソウの栽培



19. 収穫物



20. 風乾物

2. 種子関係：薬用植物の種子交換および種子交換目録の作成、薬用植物の種子保存および発芽試験

(1) 薬用植物の種子交換および種子交換目録 INDEX SEMINUMの作成

地球環境の変化により植物種の減少は加速度的に進行している。伝統医学に用いる薬用植物の中には未開発・未利用のものも多く、今後の研究成果が期待されている。

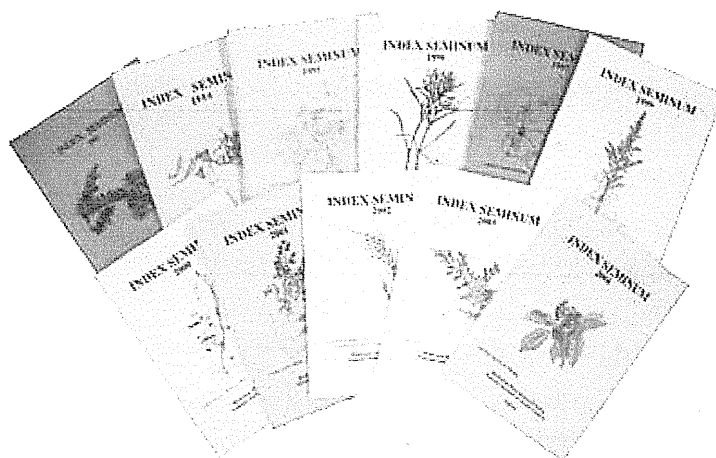
遺伝資源の収集・確保は急務であり、医薬品開発のための基盤整備として国内・外の薬用植物遺伝資源を収集し、その保存に取り組んでいる。

北海道、筑波、和歌山、種子島の各研究部で採種した植物種子の種子交換目録 INDEX SEMINUM の編集を行い、海外の研究機関との種子交換を行っている。

世界63カ国、415機関（H16）の植物園や研究機関と種子交換を行っている。

INDEX SEMINUM 2008の概要

	野生	栽培	温室	合計
北海道研究部	86	153	0	239
筑波研究部	低温保存 (144)	159	3	162
和歌山研究部	41	111	0	152
種子島研究部	195	98	18	311
計	322	521	21	864

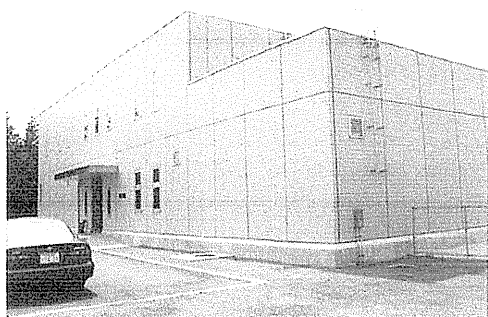


21. 種子交換目録 INDEX SEMINUM

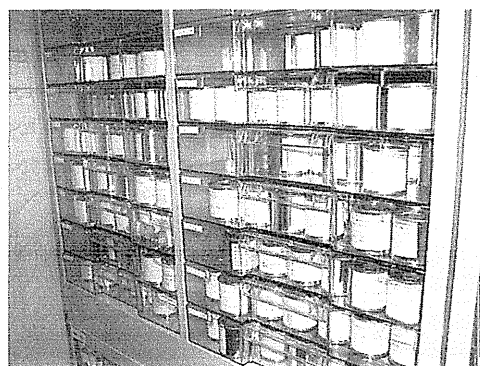
(2) 薬用植物の種子保存および発芽試験

開発や自然環境の変化により、野生の植物遺伝子資源が急激に減少しており、貴重な資源を保存するため、種子の低温保存を行っている。野生種及び栽培種の種子を缶詰にして、10℃、-1℃、-20℃で長期保存している。種子の生存状況を確認するため、保存種子の発芽試験を定期的に行い、発芽率が低下したものについては再生産により継続的に遺伝子資源の保存を図る。

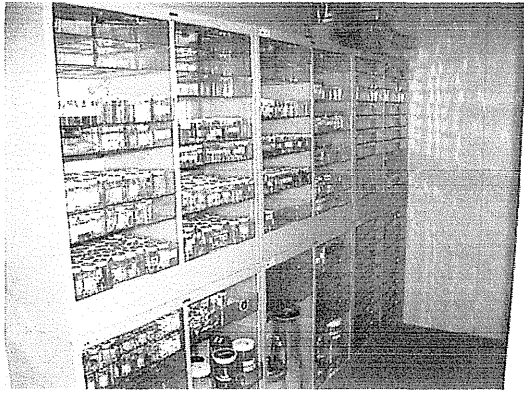
薬用植物は種子の休眠性、発芽条件、保存条件が明確でないものが多く、最適な種子の保存条件、発芽条件についての検討を行っている。



22. 植物資源保存棟



23. 内部の様子



24. 植物資源保存棟



25. 保存缶

3. 化学的評価関係：薬用植物の品質評価に関する研究

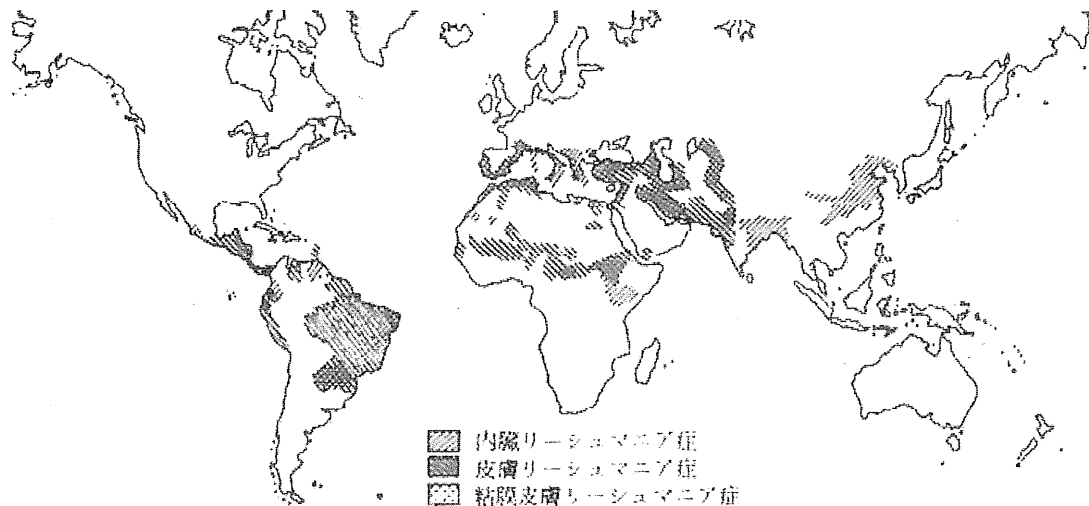
(1) 薬用植物の品質評価に関する研究

日本薬局方の各種試験方法を確立して、流通生薬の品質保持と管理に貢献するために、日本薬局方用理化学試験用標準生薬の設定おこなっている。天然物由来の生薬は成分の差が大きく、標準的な成分パターンを示す生薬を標準品として設定し、生薬を成分確認用の試薬として扱うことにより、生薬の品質を確認する手段とする検討を薬用植物センターにおいて行なっている。シャゼンシとゴシツが規格化されてきている。

(2) 外国産未利用薬用植物資源の開発に関する研究

薬用植物から熱帯感染症治療薬の探索として、リーシュマニア症を対象に研究している。リーシュマニア症は南米など熱帯地方に広く分布する感染症であり全世界に1,200万人の患者がいるが、第1選択薬は副作用が強く高価であり注射剤であるため多くの途上国の患者が使用できない問題がある。

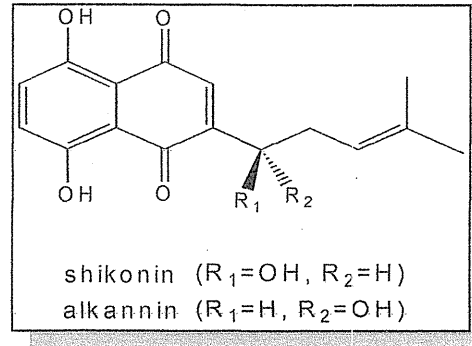
これらの問題を解決するために本感染症の分布域の植物から有効な植物を見つけ、副作用の少ない安価な特効薬を見いだす研究を行っている。世界各地の植物をスクリーニングしたところ、ムラサキの成分シコニンに強い活性が見られた。ムラサキヲ含む製剤の紫雲膏をペルーで患者さんにサンマルコス大学医学部熱帯病研究所で使ってみたところ明らかな治療効果が見られた。今後、臨床試験を計画したいと言っている。



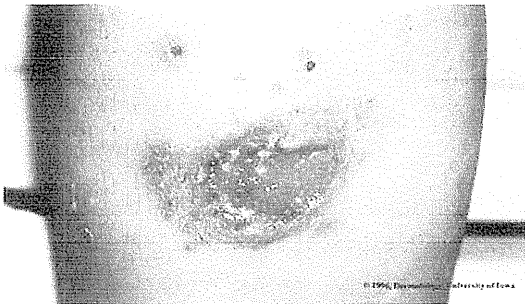
26. リーシュマニア症患者の分布



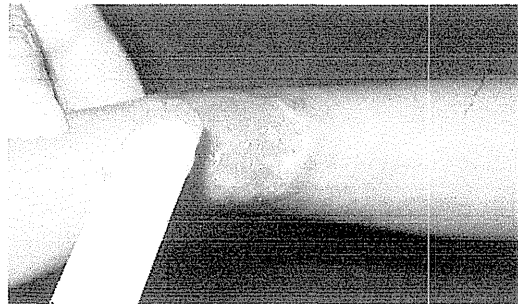
27. ベルーで利用した紫雲膏



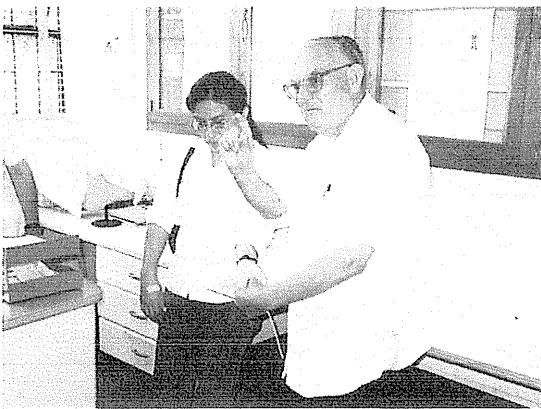
28. ムラサキの成分シコニン



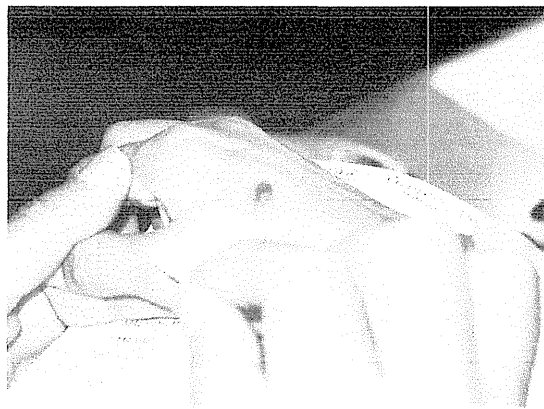
29. 皮膚型患者の感染部位



30. 紫雲膏の塗布



31. アンデスで感染した患者



32. 軟膏塗布後、潰瘍が縮小した

創薬等ヒューマンサイエンス研究事業（国際共同研究）（H13～H18）

■薬用植物の栽培指針と種苗登録

(1)「薬用植物栽培指針と品質評価指針」(厚生労働省監修して作成 Part 1～Part10)

生薬の生産はかつて野生植物の採集に頼っていたが、次第に栽培化されるようになってきている。我が国では江戸時代に薬用の栽培が盛んになり、その栽培技術の大部分は失われてしまったが、一部のものは伝承されている。

最近、薬用植物の栽培の篤農家及び栽培・品質評価の研究者との努力で、多くの薬用植物に関して、新しい技術で栽培化に成功し、更にその生産物の品質評価方法も確立されてきている。

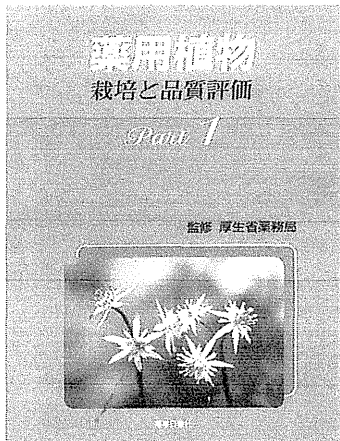
1986年より厚生労働省は薬用植物栽培と品質評価指針の作成を打ち出し、予算化し研究班を組織した。農林水産省は薬用植物の営農への貢献のために、地域振興補助金制度を作り、薬用植物の栽培振興を図った。両省の活動は常に連絡できるように、厚生省の会合には農林水産省畑作振興課の職員がオブザーバー参加を認められた。

作成計画と試験栽培のデータ集積に時間がかかり最初の出版は6年後の1992年であった。しかし、その後毎年指針が出版され、10冊、53種類が記載された。現在も継続的な試験が行われている。収載品目を年次別に、次に記した。

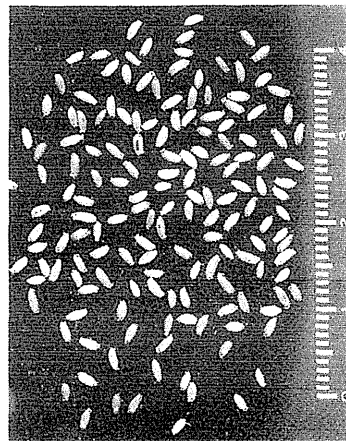
- 1992年 (Part 1) オウレン、ジオウ、ダイオウ、トウキ、ミシマサイコ
- 1993年 (Part 2) センキュウ、ベニバナ、ハトムギ、キキョウ、ガジュツ
- 1994年 (Part 3) エビスグサ、カギカズラ、ケイガイ、シソ、シヤクヤク
- 1995年 (Part 4) ウコン、カノコソウ、サフラン、ホソバオケラ、ムラサキ
- 1996年 (Part 5) インドジャボク、オオバナオケラ、オタネニンジン、ゲンノショウコ、ボタン
- 1997年 (Part 6) カミツレ、キバナオウギ、ゲンチアナ、コガネバナ、ドクダミ
- 1998年 (Part 7) オオカラスウリ、キハダ、クコ、クマコケモモ、ヒロハセネガ
- 1999年 (Part 8) クチナシ、センブリ、トウスケボウフウ、ブクリョウ、ハナトリカブト
- 2000年 (Part 9) カワラヨモギ、サンショウ、センナ、ヒキオコシ、モッコウ、マオウ
- 2001年 (Part 10) アミガサユリ、ウスバサイシン、ウツボグサ、オオバコ、カンゾウ、テンダイウヤク、ヒナタイノコズチ

内容：1. 植物名、2. 利用部位、3. 植物の性状、4. 生薬の特徴および産地、5. 栽培種の特徴、6. 栽培法、7. 生薬の品質評価、8. 特性分類表、9. 栽培暦、10. 資料 の順に記載されている。さらに薬用植物の各栽培時期および生薬の調製法に関する写真なども掲載し、薬用植物栽培に初めて取り組む人々にもわかりやすい内容となるよう心掛け手作成されている。ここの内容を出来るだけ写真で紹介した。オウレンとトウキの写真 (No.33~49) を示す。

Part 1 オウレン



33. Part 1 の表紙



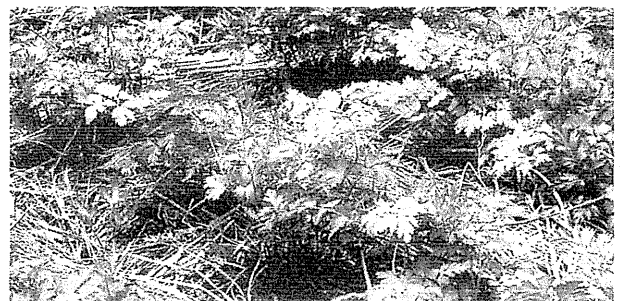
34. 丹波オウレンの種子



35. 丹波オウレンの一年生



36. 丹波オウレンの遮光を利用した栽培風景



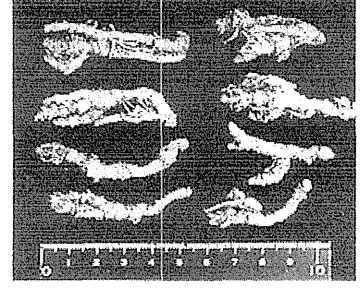
37. 丹波オウレンの三年生



38. 丹波オウレンの花



39. 丹波オウレンの花

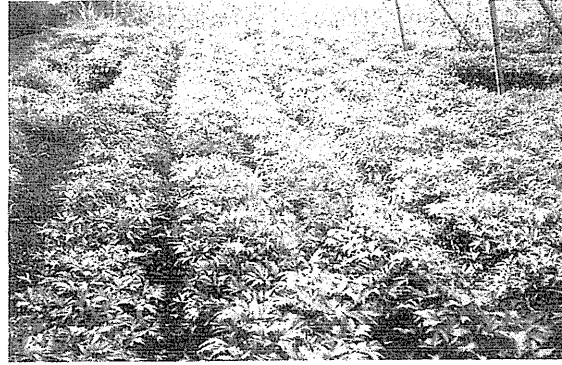


40. 生薬

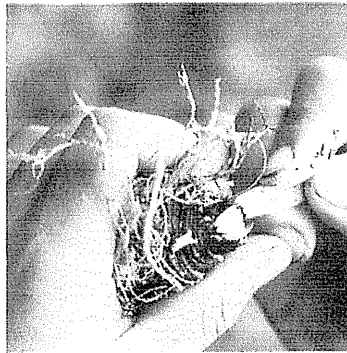
Part 1 トウキ



41. オオブカトウキの種子



42. オオブカトウキの生育盛期



43. オオブカトウキの芽くり



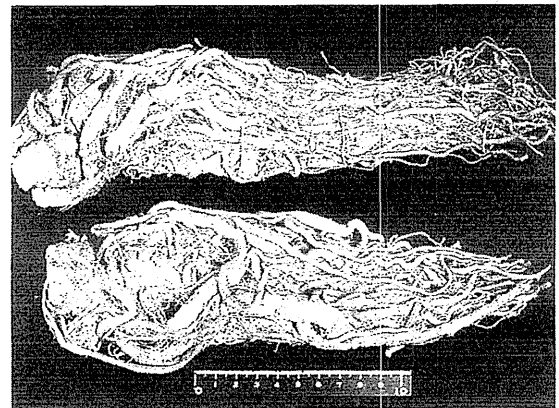
44. オオブカトウキの花 (種子採収用)



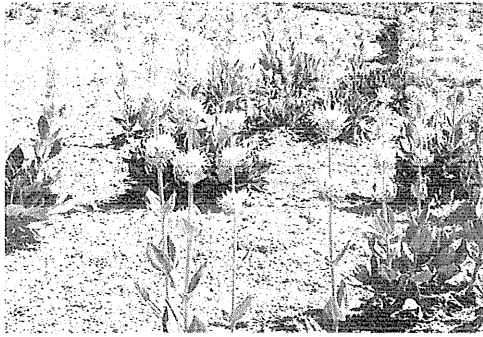
45. 収穫物の乾燥 (ハサ掛け)



46. 収穫物の調整 (湯もみ)



47. 生薬: トウキ (大和当帰)



48. Part 6 ゲンチアナ



49. Part 7 クマコケモモ

(2) 種苗登録された薬用植物

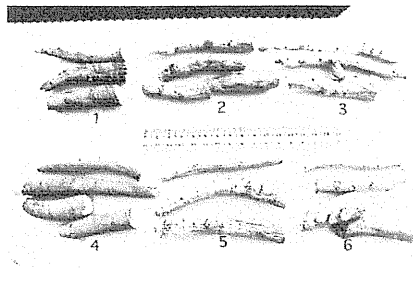
薬用植物の種苗登録は新種苗法になったときから、薬用植物の項が尽かされた昭和61年以後からの動きである。薬用植物は成分含有を特徴とすると特許法の範疇とされていたが、その後のUPOV条約を考慮した種苗法の改正で種苗法の範疇となった。サントニン高含有種苗「みぶよもぎ」は特許で申請された。その後、下痢成分高含有のダイオウ「シンシュウダイオウ」は種苗法で登録された。

種苗登録された植物はシャクヤク（北海道植物部）、ハトムギ（北海道植物部）、ダイオウトジオウ（武田製薬工業）、トリカブト（化研生薬、ツムラ）、オタネニンジン（福島県）、アサ（栃木県）等がある。国立医薬品食品衛生研究所北海道栽培試験場が作成したシャクヤク「北宰相」とハトムギ新品種「北のはと」を紹介する。

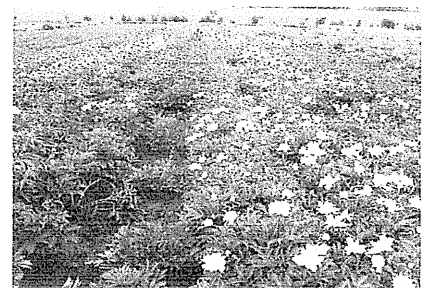
① シャクヤク「北宰相」は収集された54系統から選抜育種されたもので成分含有量が高く、収量性にも優れた系統として登録された。



50. シャクヤク「北宰相」の花



51. 乾燥された根



52. 北宰相は54系統の中から選抜

収量 (10 a 当たり)	: 3 年生	1,266kg、	5 年生	1,674~2,342kg
成分 paeoniflorin	: 3 年生	3.90%、	5 年生	4.47~4.81%
Oxypaeoniflorin	: 3 年生	0.41%、	5 年生	0.25~0.28%
Gallotannin	: 3 年生	0.29%、	5 年生	0.36%

② ハトムギ新品種「北のはと」は、北海道在来種より選抜育種されたハトムギで、特性は(1)極早生品種(出穂期が6月下旬~7月上旬)で、霜が来る前の10月初旬に収穫できるため、北海道北部地域で結実可能(栽培可能)。北海道の栽培では病害虫の発生はない。このため大規模機械化、無農薬栽培が可能である。(2)短稈品種(結実期の草丈140~150cm)である。茎数が多い(27本程度)。果実はやや小粒であり(100粒重:10.1g)、もち性、収量は穀実重として150~250kg/10aである。

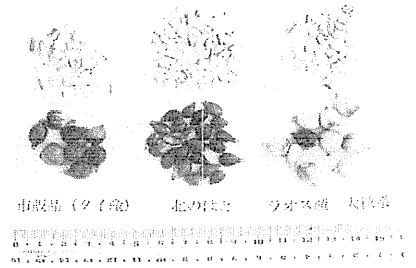


53. 10月上旬（成熟期）

現在、商業生産が開始されている。



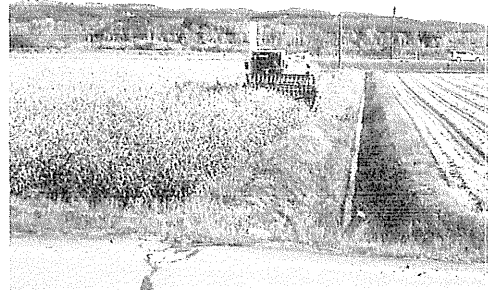
54. 「北のはと」（結実期）



55. 市場生薬の比較



56. 農家圃場（名寄市）での生産風景



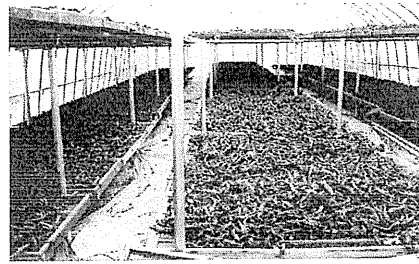
57. コンバイン（4条刈り）による収穫

③ 信州大黃（シンシュウダイオウ）

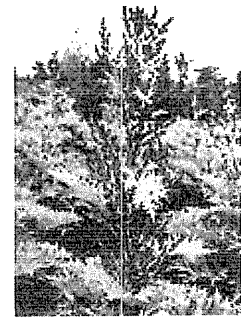
武田薬品工業はダイオウの交配育種によって、1988年に登録し、この系統からの自然交配からの選抜で信州大黃Sを2006年に登録した。これらは北海道で栽培され、同社の成否に利用されている。



58. 信州大黃の生産栽培風景（名寄市）



59. 収穫物の乾燥



60. 信州大黃S

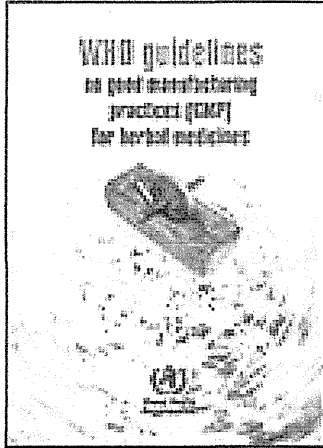
③ WHOと伝統薬への取組み

(1) 伝統医療に関するWHOの取組み

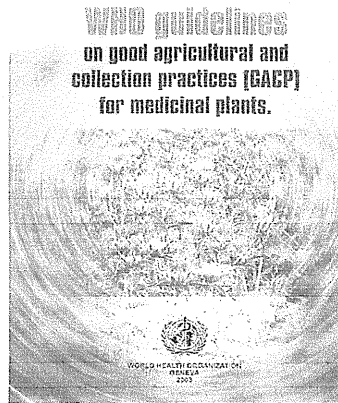
1987年 WHOは1987年、アルマータ宣言として「各国の医薬品行政に有用性が証明された伝統薬（remedy）を利用することとした。その後出された 品質及び有用性・安全性に関するガイドラインがハーブの普及に寄与した。伝統薬の無制限の普及に懸念する自然保護のグループ（WWF、IUCN）から保護に関する多くの意見が出され、チェンマイ宣言「薬用植物を大切にして、20世紀を迎えよう」にまとめあげられた。（1988年）1990年代には伝統薬の普及のための多くのガイドラインが出された。

1991年 ハーブの品質、安全性、有効性及び実際の使用に関する評価のためのガイドライン

- 1992年 薬用植物・生薬の安全性と有効性評価のための研究用ガイドライン
- 1997年 薬用植物・ハーブの使用を普及させるためのガイドライン
- 2000年 薬用植物・ハーブの利用、有効性、安全性に関するガイドライン (2000)
- 2002年 栽培指針GACPと自然保護 (2002) FAO、WWF、IUCN、WHO、UPOFU
- 2007年 薬用植物のGMPガイドラインとカワの安全情報



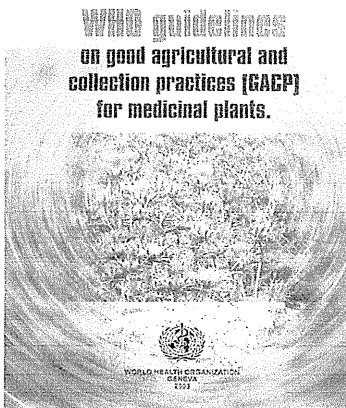
61. 薬用植物GMPガイドライン



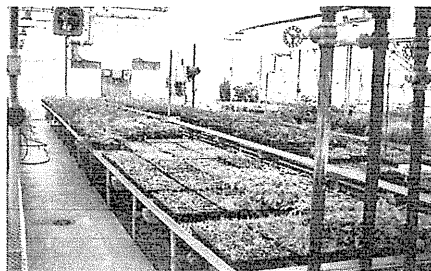
62. カワ製品の肝障害のリスクアセスメント

(2) WHOの栽培指針GACP

薬用植物の栽培方法と安全で清潔な環境での栽培、収穫、調整加工に関する指針で、野生植物の計画的採取地と保護に関してのべている。また、類似植物の鑑別技術の充実、野生植物の計画的採取、野生植物の栽培化の検討等が記してある。GACPを日本について考えてみると、野生植物を利用しているアケビ（生薬名 木通）、オオツズラフジ（防已）、キハダ（黄柏）、ホウノキ（厚朴）、ニガキ（苦木）は栽培しなければならないと植物である。



63. GACPのWHOガイドライン



64. GACPによる育苗栽培



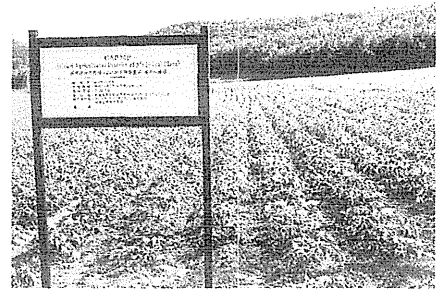
65. 圃場栽培



66. 収穫



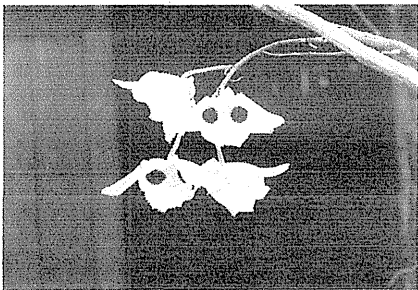
67. 乾燥



68. GACPの圃場

(3) ワシントン条約での薬用植物の取引

自然保護の立場から絶滅危惧種の動植物の輸入・輸出制限を行っているワシントン条約がある。薬用動物では国内での使用が禁止された種にトラ（虎骨）とサイカク（犀角）があり、現在保有している在庫物だけは利用出来るジャコウ（麝香）やクマ（熊胆）等がある。但し、野生動植物を捕獲したものでなく、飼育または栽培された種に関しては資源国からの輸出許可書（CITES：Convention on International Trade of Endangered Species）があれば、輸入が可能である。薬用植物の中ではラン科のセッコク（石斛）がこれに該当する。栽培証明があれば花卉のデンドロビウムと同様に輸入は可能である。



69. *Dendrobium paluchirum*の花



70. 栽培株



71. 生薬市場の石斛される

(4) 漢字文化圏の薬用植物の品質保持に関する組織

FHH (Forum for the Harmonization of Herbal Medicines)

日本の漢方薬の原料植物は80%以上が中国からの輸入に依存している。しかしながら品質が安定した良質の生薬の安定供給はなかなか困難である。共通の資源を薬用に行っている国での規格の調和は品質確保に重要な意義をもつ。漢字文化で共通して生薬を規格している日本、中国、韓国、ベトナム、シンガポール、香港及び中国医学の理解者の多いオーストラリアの生薬・伝統薬行政の担当者による調和会議が組織化された。目的と目標は(1) 共通の課題として有用な資源や資材を経済的活用、(2) 品質規格の国際的調和の重要性、(3) 安全性、有効性及び品質に関して、科学的技術に基づいた基準の改善や改良の内容を提供することである。2002年に創立されたから、薬局方の有害溶媒を確認試験で用いないことが調和され、また関連国の中で起こった健康障害内容を解明し、国民の健康維持に寄与してきている。今回の香港代表だったマーガレット チャン博士が現在、WHOの事務総長に就任された。

■おわりに

薬用植物を取り巻く環境は、高齢化社会になるにつれ日本の疾病構造も変化してきている。また伝統薬（漢方薬）の良さ見直され生薬類の需要も高まってきている。しかし、輸出国中国が国内の社会構造の変革で薬用植物の生産量が激変してきている。中国に頼るだけでなく、栽培可能な国への依存要望も高まっている。また、今までは西洋医学一辺倒であった東南アジアの国々もWHOの努力の結果、各国政府は伝統薬を重視する傾向がみられてきた。薬用植物を含めた薬局方の作成希望もミャンマーやカンボジア、ラオスから出てきている。

日本での資源確保のためには薬用植物種の保存と国内栽培技術基盤の確立が必要である。そのためには一般的な農業機械を活用した薬用植物栽培の機械化すること、薬用植物種子の発芽試験法と長期保存条件の確立すること、薬用植物培養物の超低温保存法の確立することが大切である。薬用植物のさらなる利用の拡大のためには薬用遺伝資源の導入と薬用植物の創薬への活用がまたれる。また、遺伝子技術の応用もさらなる発展が期待される。

研究
短 信劣悪環境に応答する植物ホルモン「アブシジン酸」の応答経路を解明
—植物の環境ストレス耐性の制御機構が明らかに—

(独)理化学研究所・(独)科学技術振興機構(JST)・(国)東京大学

独立行政法人理化学研究所(野依良治理事長)、独立行政法人科学技術振興機構(以下JST、北澤宏一理事長)と国立大学法人東京大学(濱田純一総長)は、劣悪環境への応答にかかわっている植物ホルモン「アブシジン酸(ABA)」のシグナル伝達経路を世界で初めて解明しました。これは、理研植物科学研究センター機能開発研究チーム(篠崎一雄センター長兼チームリーダー)の梅澤泰史研究員、基幹研究所中野生体膜研究室の平山隆志専任研究員(横浜市立大学客員教授)らと、慶應義塾大学の石濱泰准教授ら、横浜市立大学生命ナノシステム科学研究科および東京大学農学生命科学研究科の篠崎和子教授らによる共同研究の成果です。

植物は、根を下ろした場所から移動することができないので、土壌・水・日照などの生育環境が悪化しても、それに適応するしか生

存の道はありません。そのため植物は、独自の適応能力を備えており、ABAはその中心的な調節物質であることが分かっていました。しかし、ABAの情報かどのように細胞内を伝わり、必要な応答が引き起こされるのかはよく分かっておらず、長年の課題となっていました。研究グループは、細胞内シグナル伝達の中で、特にタンパク質のリン酸化・脱リン酸化反応に着目して研究を行い、タンパク質脱リン酸化酵素の1つ「PP2C(Protein Phosphatase 2C)」が、タンパク質リン酸化酵素の1つ「SnRK2(SNF1-related protein kinase 2)」と相互作用し、ABAシグナル伝達経路が調節されていることを世界で初めて明らかにしました。また、最近報告されたABAの細胞内受容体の一群である「RCAR/PYR」との関係も調べたところ、ABAが受容体に作用するところから環境ストレス耐

性遺伝子が発現するところまでのシグナル伝達経路を確定しました。

ABAは、植物の耐乾性、耐塩性、耐冷性などの環境ストレス耐性を制御するだけでなく、病虫害への抵抗性などにも関与しています。さらに、種子成熟や発芽、成長、老化など植物のあらゆる生育段階に影響を持つ極めて重要なホルモンです。今回、ABAのシグナル伝達経路を解明したことで、ABAの作用を人為的に制御するための基盤を築き上げることができました。将来的には、干ばつ・塩害・冷害などに耐性を持つ作物の開発、種子の安定性向上や穂発芽の抑制など、さまざまな応用が期待できます。

(独)理化学研究所

平成21年9月21日

プレスリリースより転載

