

GC-MS による精神作用を有する成分を含有する植物の分析

立川 敦生*, 岡本 健*, 松脇 洋平*, 大嶽 秀之*

Analysis of plants containing psychotropic substances by GC-MS

Atsuo TACHIKAWA*, Ken OKAMOTO*, Yohei MATSUWAKI* and Hideyuki OTAKE*

*Nagoya Customs Laboratory, 2-3-12, Irifune, Minato-ku, Nagoya, Aichi 455-8535 Japan

It has long been known that some plants in various regions of the world contain psychotropic substances. In Customs, it is necessary to analyze those plants for contained psychotropic substances, but analytical methods for these plants have not yet been established. Therefore, the purpose of our study is establishing those analytical methods. Generally, analytical methods vary plant to plant, because the components of plants differ from each other, thus it is necessary to analyze them individually. In this study, we examined the extracting conditions and the gas chromatograph mass spectrometer (GC-MS) conditions for psychotropic substances contained in 6 plants (San Pedro, Acacia, Chaliponga, Khat, Yopo and Harmala). As a result, we could extract psychotropic substances from those 6 plants by simple extraction by an ethanol:chloroform (1:1) mixed solution or liquid-liquid extraction using ethyl acetate under an alkaline condition. Furthermore, we could identify each of the psychotropic substances with DB-5MS or CYCLODEX-B columns.

1. 緒 言

2. 実 験

ある種の植物が、麻薬のような精神作用を有する成分（以下「精神作用成分」という。）を含有していることは、世界の各地で古くから知られている。例えば、一部のサボテンは「麻薬及び向精神薬取締法」上の麻薬であるメスカリンを含有し¹⁾、また、ハルマラ *Peganum harmala* の種子は幻覚作用を有するハルミンを含有する²⁾。これら精神作用成分を含有する植物（以下「植物系ドラッグ」という。）は、郵便等で海外から我が国に送られてくる貨物から発見されることがあり、成分確認のためには化学分析が必要となる。

定性分析で広く用いられるガスクロマトグラフィ質量分析法で分析する場合、対象が植物系ドラッグであれば、それらに含まれる精神作用成分の抽出法と分離カラムの検討が必要となる。抽出法については、植物ごとに精神作用成分と夾雑する成分が異なることから、それぞれの精神作用成分をより選択的に抽出できると同時に夾雑する成分が抽出されにくい溶媒を検討する必要がある。また、カラムについては、汎用性の高いものが抽出された精神作用成分の分析に適さなければ別のカラムの検討が必要となる。

しかしながら植物系ドラッグの分析は、メスカリンを含有するサボテンに関して中嶋らの報告³⁾があるものの、多くの植物系ドラッグの分析法は確立されていない。

本研究では、いくつかの植物系ドラッグについて分析法を検討し、有効な結果を得たので報告する。

2.1 試料及び試薬

2.1.1 試料

サンペドロ *Echinopsis pachanoi*

アカシア *Acacia sp.*

チャリポンガ *Diplopterys cabrerana*

カート *Catha edulis*

ヨポ *Anadenanthera peregrina*

ハルマラ *Peganum harmala*

試料は、いずれも分析依頼されたものであり、主な精神作用成分を Table 1 に、化学構造式を Fig.1 に示す。

Table 1 Main psychotropic substances of samples

Samples	Main psychotropic substances
San Pedro	Mescaline
Acacia	DMT, NMT
Chaliponga	DMT
Khat	Cathine, Cathinone
Yopo	Bufotenine
Harmala	Harmine, Harmaline

* 名古屋税関業務部 〒455-8535 愛知県名古屋市港区入船 2-3-12

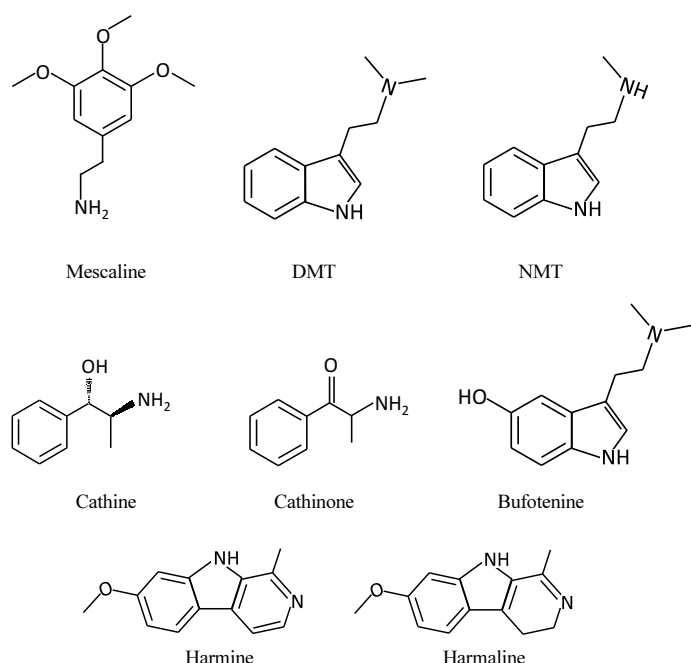


Fig.1 Chemical structures of psychotropic substances

2.1.2 試薬

標準試薬

カチン塩酸塩 (SIGMA-ALDRICH)

L-ノルブソイドエフェドリン塩酸塩 (関税中央分析所から譲り受けたもの)

DL-ノルエフェドリン塩酸塩 (東京化成工業)

ブフォテニン塩酸塩 (CAYMAN CHEMICAL)

サイロシン (国立医薬品食品衛生研究所から譲り受けたもの)

ハルミン (東京化成工業)

ハルマリン (東京化成工業)

エタノール (関東化学, 特級)

クロロホルム (関東化学, 特級)

酢酸エチル (関東化学, 特級)

2 mol/L 水酸化ナトリウム水溶液 (水酸化ナトリウム (関東化学, 鹿 1 級))

0.2 mol/L 水酸化ナトリウム水溶液 (水酸化ナトリウム (関東化学, 鹿 1 級))

pH 試験紙 pH1-14 (MACHEREY-NAGEL)

0.22 μ m メンブランフィルター (REPHILE BIOSCIENCE)

2.2 装置と測定条件

2.2.1 ガスクロマトグラフ質量分析計 (以下「GC-MS」という.) 条件 (共通条件)

装置: ガスクロマトグラフ 6890N/質量分析計 5973

(Agilent Technologies 社)

注入量: 1 μ L

イオン源温度: 230 $^{\circ}$ C

四重極温度: 150 $^{\circ}$ C

キャリアガス: ヘリウム (流速 1.0 mL/min)

イオン化法: EI 法

2.2.2 GC-MS 条件 (カラムごとの条件)

2.2.2(1) カラム DB-5MS を用いた場合の条件

カラム: DB-5MS(30 m $\times$ 0.25 mm i.d.,膜厚 0.25 μ m)

(Agilent Technologies 社)

カラム温度: 50 $^{\circ}$ C(1 min hold) $\rightarrow$ (15 $^{\circ}$ C/min) $\rightarrow$ 320 $^{\circ}$ C(10 min hold)

注入口温度: 280 $^{\circ}$ C

インターフェース温度: 250 $^{\circ}$ C

注入法: スプリット法

スプリット比: アカシア, チャリポンガ, ヨボ, ハルマラ 50:1
サンペドロ, カート 10:1

2.2.2(2) カラム CYCLODEX-B を用いた場合の条件

カラム: CYCLODEX-B(30 m $\times$ 0.25 mm i.d.,膜厚 0.25 μ m)

(Agilent Technologies 社)

カラム温度: 100 $^{\circ}$ C(1 min hold) $\rightarrow$ (2 $^{\circ}$ C/min) $\rightarrow$ 160 $^{\circ}$ C(0 min hold)

注入口温度: 230 $^{\circ}$ C

インターフェース温度: 230 $^{\circ}$ C

注入法: スプリット法

スプリット比: カート 10:1

2.3 抽出法及び分離カラム

2.3.1 抽出法の選択

試料は, 植物であることから精神作用成分の含有量には個体差がある. 濃縮や試料の増量により検出可能な濃度に調製できるよう, 原則として, 精神作用成分が最大ピークかそれと同等に抽出することを目的とし, その確認に用いるカラムは DB-5MS とした.

精神作用成分を直接抽出する方法として極性の異なる有機溶媒であるエタノールとクロロホルムを等量混合した溶媒 (以下「エタノール, クロロホルム液」という.), 及び, 有機溶媒に溶けにくい塩の抽出に適した pH8-9 程度の弱アルカリ性条件下で抽出した後, 酢酸エチル相に移す方法を用いた.

これらの抽出法で良好な結果が得られなかった場合, 2.3.2(3)を検討した.

2.3.2 抽出法

2.3.2(1) エタノール, クロロホルム液抽出

試料 (ヨボは種皮を除いたもの) 約 100 mg にエタノール, クロロホルム液約 2 mL を加え, 20 分間超音波抽出した. これを遠心分離 (4000 min $^{-1}$, 5 min) 後, 上澄み液を分取した. 分取した液を, 無水硫酸ナトリウムにより脱水し, 0.22 μ m メンブランフィルターを通したものを検液とした.

2.3.2(2) アルカリ性 (pH8-9) 条件下酢酸エチル抽出 (以下「弱アルカリ性抽出」という.)

試料 (ヨボは種皮を除いたもの) 約 100 mg にイオン交換水約 2 mL を加え, 20 分間超音波抽出した. これを遠心分離 (4000 min $^{-1}$, 5 min) 後, 上澄み液を分取し, 0.2 mol/L 水酸化ナトリウム水溶液で pH 試験紙により pH8-9 に調整した後, 酢酸エチル約 2 mL を加え, 液液抽出を行った. その後, 酢酸エチル相を分取し, 無水硫酸ナトリウムにより脱水し, 0.22 μ m メンブランフィルターを通

したものを検液とした。

なお、検出可能な濃度にするためサンペドロ及びカートについては、減圧条件下で酢酸エチル相を4倍程度濃縮した。

2.3.2(3) アルカリ性 (pH12-14) 条件下酢酸エチル抽出 (以下「強アルカリ性抽出」という。)

試料約 100 mg にイオン交換水約 2 mL を加え、20 分間超音波抽出した。これを遠心分離(4000 min⁻¹, 5 min)後、上澄み液を分取し、2 mol/L 水酸化ナトリウム水溶液で pH 試験紙により pH12-14 に調整した後、酢酸エチル約 2 mL を加え、液液抽出を行った。その後、酢酸エチル相を分取し、無水硫酸ナトリウムにより脱水し、0.22 µm メンブランフィルターを通したものを検液とした。

なお、この抽出法は 2.3.2(1)及び 2.3.2(2)で良好に精神作用成分を抽出できなかったカートのみ実施し、検出可能な濃度にするため減圧条件下で酢酸エチル相を4倍程度濃縮したものを検液とした。

2.3.3 分離カラムの選択

汎用性の高い DB-5MS を用いて分析した後、DB-5MS で判別不可能な立体異性体に対する分析は CYCLODEX-B により分離の可否を検討した⁴⁾。

3. 結果及び考察

3.1 サンペドロ

3.1.1 抽出法

Fig.2(a)のとおり、エタノール、クロロホルム液抽出による結果は、多くの夾雑する成分が検出された。

Fig.2(b)のとおり、弱アルカリ性抽出により、11.6 分にメスカリンのマススペクトルと一致するピークを検出した。また夾雑する成分の検出も少なく、良好な結果が得られた。

3.1.2 分離カラム

DB-5MS によりメスカリンの分離同定が可能であった。

3.2 アカシア

3.2.1 抽出法

Fig.3(a)(b)のとおり、エタノール、クロロホルム液抽出及び弱アルカリ性抽出により、ともに 12.2 分に NMT, 12.3 分に DMT のマススペクトルと一致するピークを検出した。しかし、これらの抽出法を比較した場合、弱アルカリ性抽出の方がエタノール、クロロホルム液抽出より NMT 及び DMT の抽出効率は高かった。

これらは塩の状態で存在しているため弱アルカリ性抽出の方が良好な結果を得られたと考える。

3.2.2 分離カラム

DMT と NMT は共通の基本骨格を有しているが Fig.3(a)(b)のとおり、DB-5MS で DMT と NMT の分離同定が可能であった。

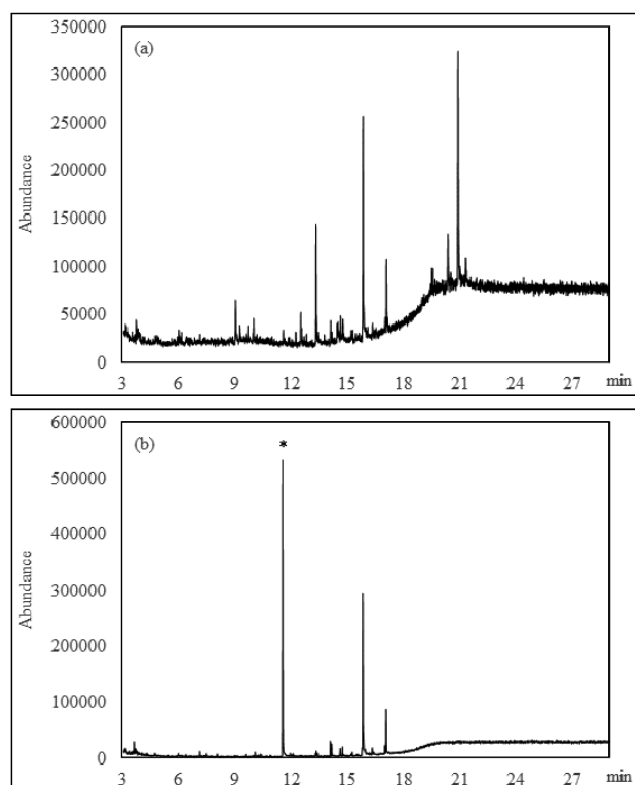


Fig.2 Total ion chromatograms of San Pedro extract under the extracting condition described in (a)2.3.2(1) and in(b)2.3.2(2), under the GC-MS condition described in 2.2.2(1)

*Mescaline

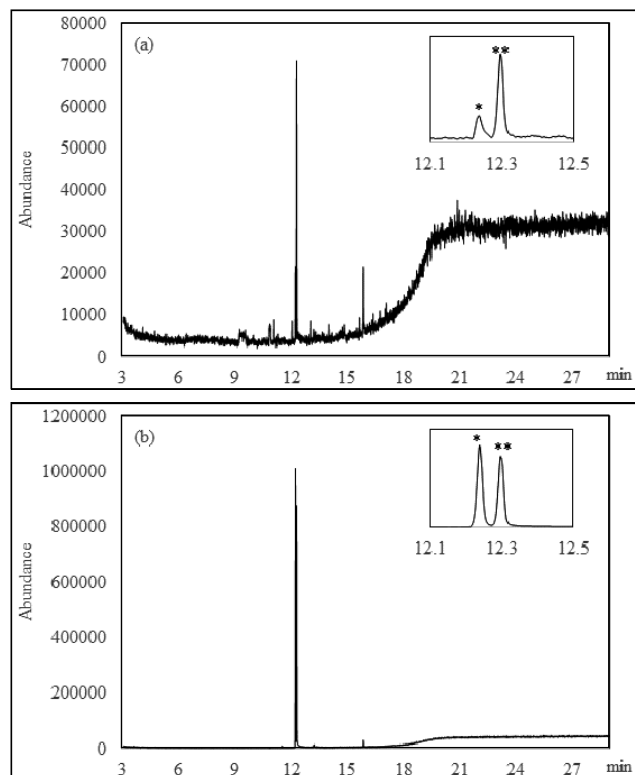


Fig.3 Total ion chromatograms of Acacia extract under the extracting condition described in (a)2.3.2(1) and in(b)2.3.2(2), under the GC-MS condition described in 2.2.2(1)

*NMT **DMT

3.3 チャリボンガ

3.3.1 抽出法

Fig.4(a)(b)のとおり、エタノール、クロロホルム液抽出及び弱アルカリ性抽出により、ともに 12.3 分に DMT のマススペクトルと一致するピークを検出した。しかし、これらの抽出法を比較した場合、弱アルカリ性抽出の方がエタノール、クロロホルム液抽出より DMT の抽出効率が高く、検出された夾雑する成分も減少した。また、弱アルカリ性抽出により僅かに NMT のマススペクトルと一致するピークを検出した。

3.2.1 の結果と同様に、DMT の抽出において弱アルカリ性抽出の方が良好な結果が得られた。

3.3.2 分離カラム

本研究試料において、NMT の検出は僅かであったが 3.2.2 と同様に DB-5MS で DMT と NMT の分離同定が可能であった。

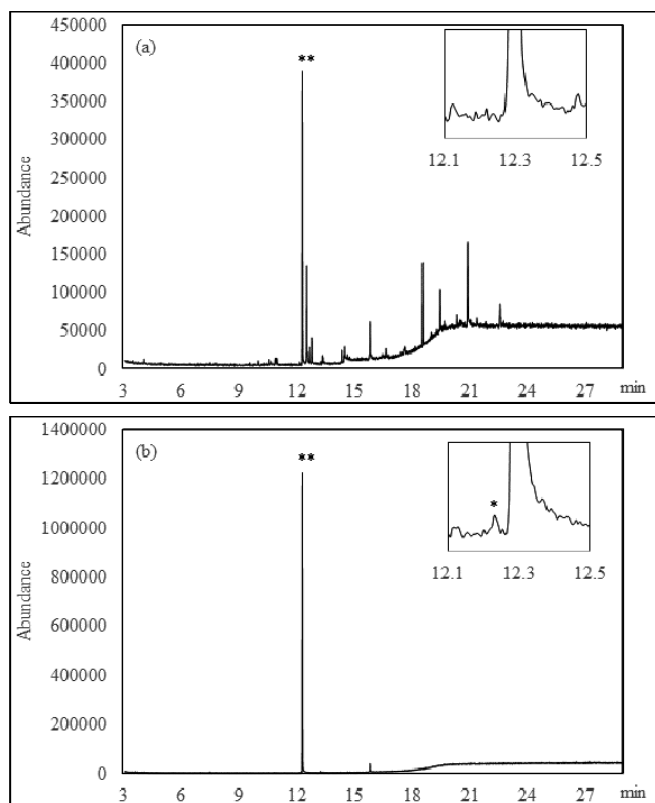


Fig.4 Total ion chromatograms of Chaliponga extract under the extracting condition described in (a)2.3.2(1) and in(b)2.3.2(2), under the GC-MS condition described in 2.2.2(1)
*NMT **DMT

3.4 カート

3.4.1 抽出法

Fig.5(a)のとおり、エタノール、クロロホルム液抽出による結果は、多くの夾雑する成分が検出された。

Fig.5(b)のとおり、弱アルカリ性抽出による結果、8.3 分にカチノン、8.5 分にカチンのマススペクトルと一致するピークを検出し、エタノール、クロロホルム液抽出と比較して検出された夾雑する成分は減少した。しかし、8.5 分のカチンはブロードなピークを示した。

Fig.6 に強アルカリ性抽出による結果を示す。8.3 分にカチノン、8.5 分にカチンのマススペクトルと一致するピークを検出した。カチンは弱アルカリ性抽出と比較して抽出効率がよく、また、ピーク形状が改善し、良好な結果が得られた。

Fig.5(b)と Fig.6 の違いは、カートからカチンを抽出する過程で、カチンは pH8-9 の弱アルカリ性抽出では十分に遊離されず水相に残留し、pH12-14 の強アルカリ性抽出で十分に遊離したためと考えられる。このことから、カチンを遊離させるには pH12 以上の強アルカリ性の条件が適していると考ええる。

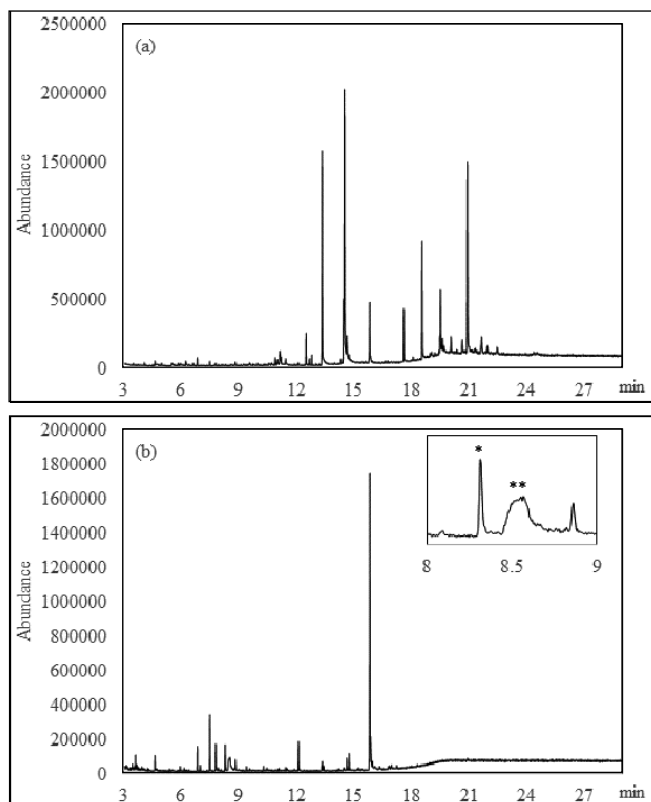


Fig.5 Total ion chromatograms of Khat extract under the extracting condition described in (a)2.3.2(1) and in(b)2.3.2(2), under the GC-MS condition described in 2.2.2(1)
*Cathinone **Cathine

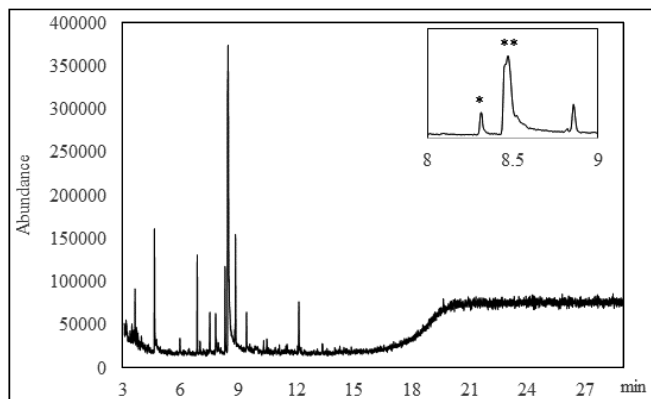


Fig.6 Total ion chromatogram of Khat extract under the extracting condition described in 2.3.2(3), under the GC-MS condition described in 2.2.2(1)
*Cathinone **Cathine

3.4.2 分離カラム

Fig.7 のとおり、カチンには 3 種の立体異性体が存在する。従って、これらを判別できる条件で分析を行う必要がある。

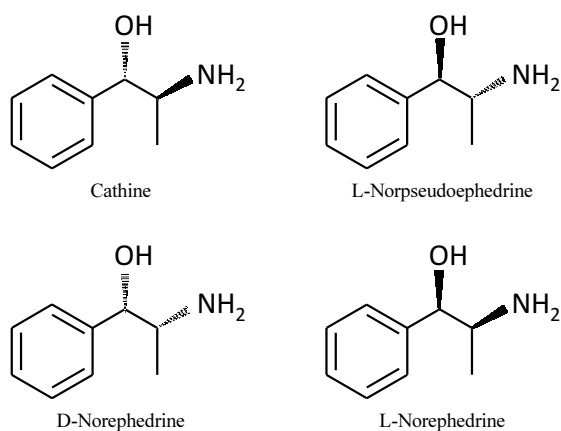


Fig.7 Chemical structures of Cathine and its stereoisomers

カチン及びその立体異性体の標準試薬を DB-5MS を用いて分析した結果を Fig.8 に示す。これら立体異性体は、リテンションタイムの違いにより明確に分離できなかった。また、Fig.9 に示したように、これらのピークのマススペクトルは類似していた。従って DB-5MS では、カチンと他の立体異性体との判別は不可能であった。

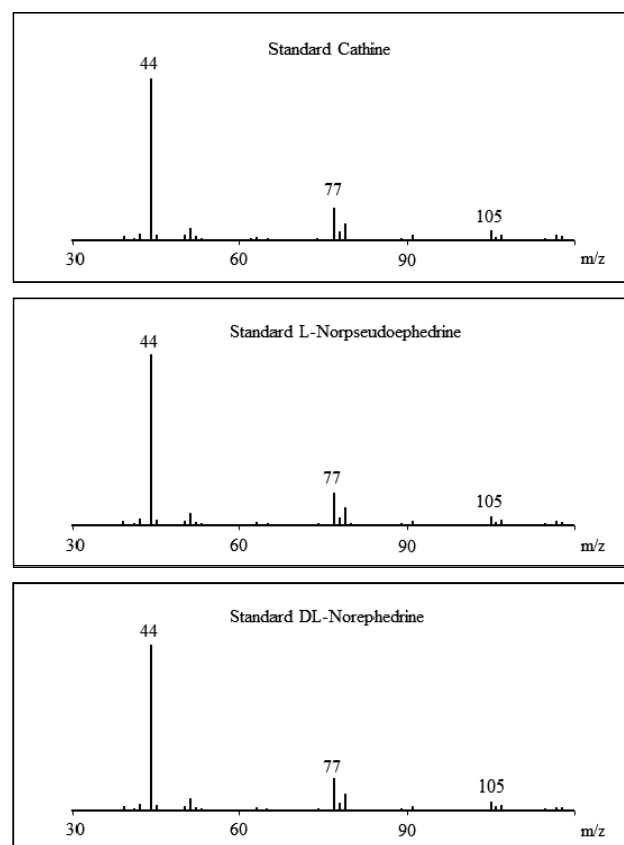


Fig.9 Mass spectra of the detected peak in Fig.8

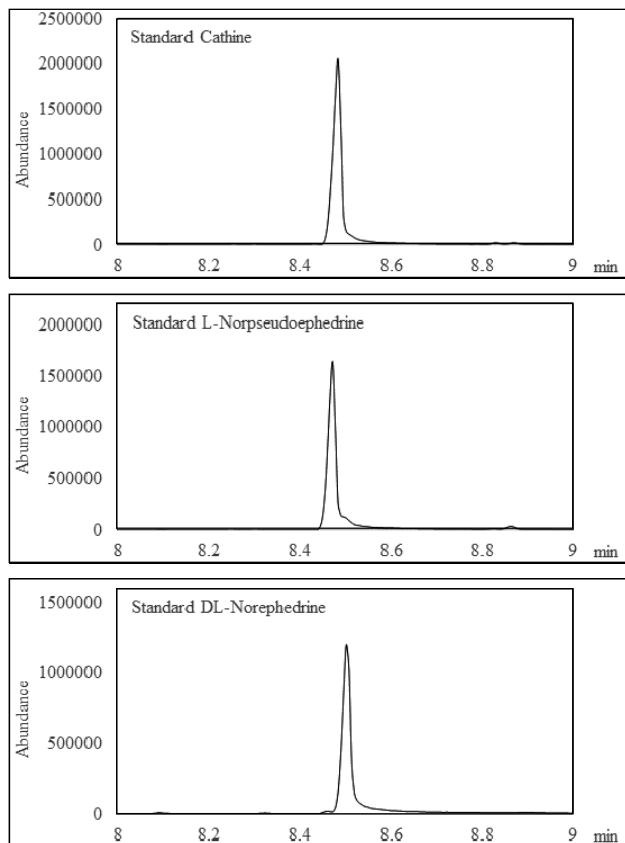


Fig.8 Total ion chromatograms of standard substances under the GC-MS condition described in 2.2.2(1)

カチン及びその立体異性体の標準試薬を立体異性体分離カラムである CYCLODEX-B を用いて分析した結果を Fig.10 に示す。リテンションタイムは、カチン 23.8 分、L-ノルブソイドエフェドリン 24.2 分、DL-ノルエフェドリン 24.7 分、25.0 分であり、CYCLODEX-B を用いることで立体異性体ごとに分離同定が可能であった。

強アルカリ性抽出によるカート抽出物を CYCLODEX-B を用いて分析した結果を Fig.11 に示す。23.8 分にカチンのピークを検出し、なおかつ、他の夾雑する成分と分離した。このことから、CYCLODEX-B を用いることでカート中のカチンの分析が可能であることが確認された。

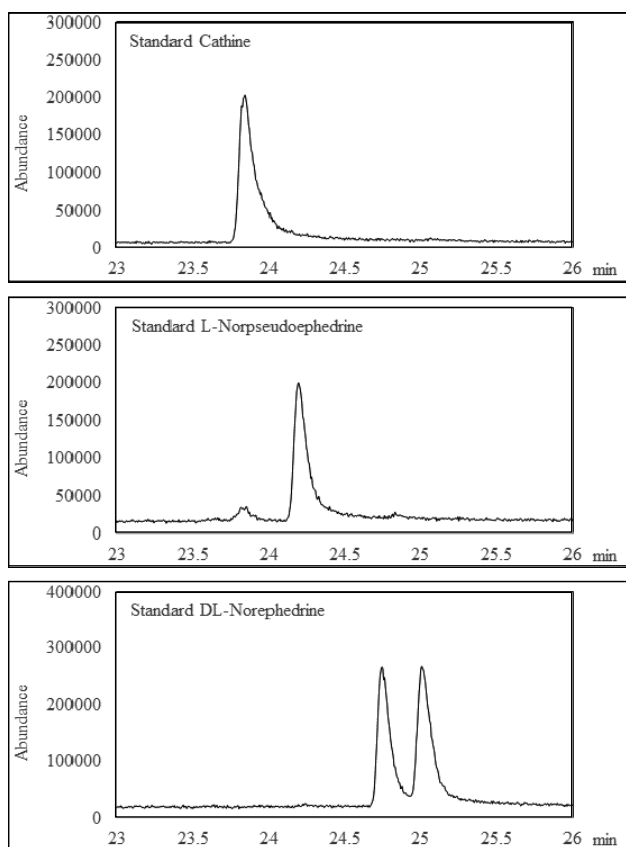


Fig.10 Total ion chromatograms of standard substances under the GC-MS condition described in 2.2.2(2)

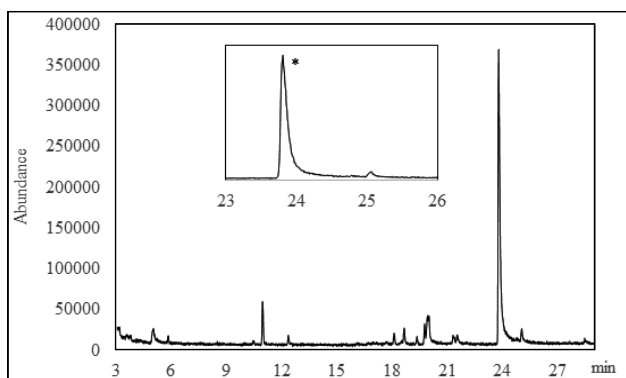


Fig.11 Total ion chromatogram of Khat extract under the extracting condition described in 2.3.2(3), under the GC-MS condition described in 2.2.2(2)
*Cathine

3.5 ヨボ

3.5.1 抽出法

Fig.12(a)(b)のとおり、エタノール、クロロホルム液抽出及び弱アルカリ性抽出により、14.3分にブフォテニンのマススペクトルと一致するピークを検出した。

ただし、ヨボは種子であり油脂を含有しているため、油脂の抽出を抑制できる弱アルカリ性抽出の方が適していると考ええる。

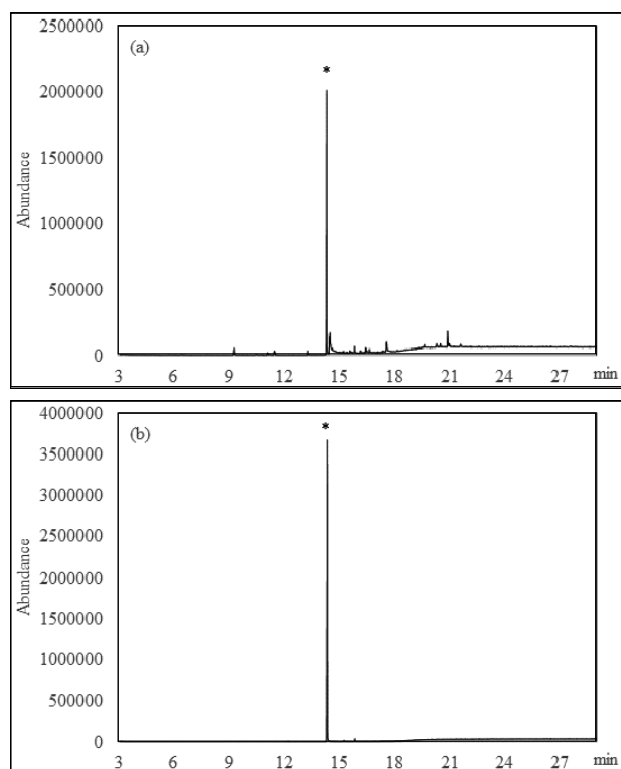
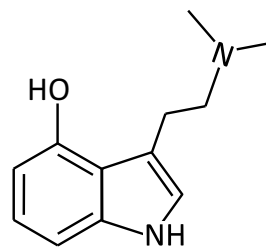


Fig.12 Total ion chromatograms of Yopo extract under the extracting condition described in (a)2.3.2(1) and in(b)2.3.2(2), under the GC-MS condition described in 2.2.2(1)
*Bufotenine

3.5.2 分離カラム

ブフォテニンは、一部のきのこに含まれる精神作用成分であるサイロシン⁹⁾と位置異性体の関係にあり (Fig.13)、これらのマススペクトルは類似する (Fig.15)。

ブフォテニンとサイロシンの標準試薬をDB-5MSを用いて分析した結果、リテンションタイムは、サイロシン 14.0分、ブフォテニン 14.3分であり、DB-5MSにより分離同定が可能であった (Fig.14)。また、ヨボ抽出物のリテンションタイムは 14.3分であり、ブフォテニンであることが判別できた。



Psilocin

Fig.13 Chemical structure of Psilocin

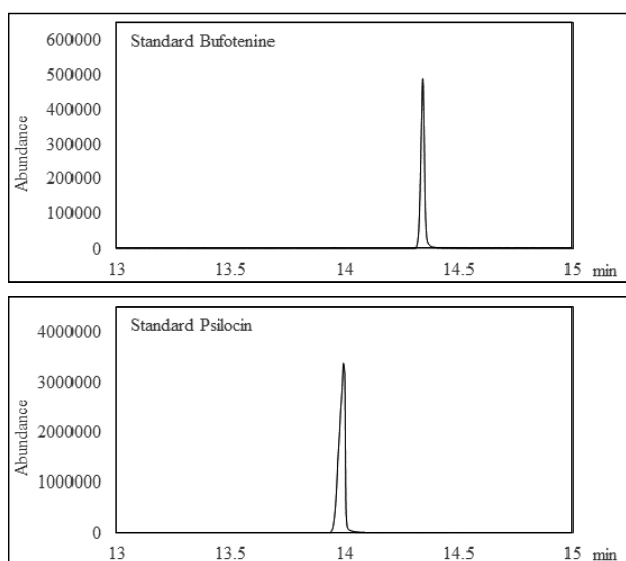


Fig.14 Total ion chromatograms of standard substances under the GC-MS condition described in 2.2.2(1)

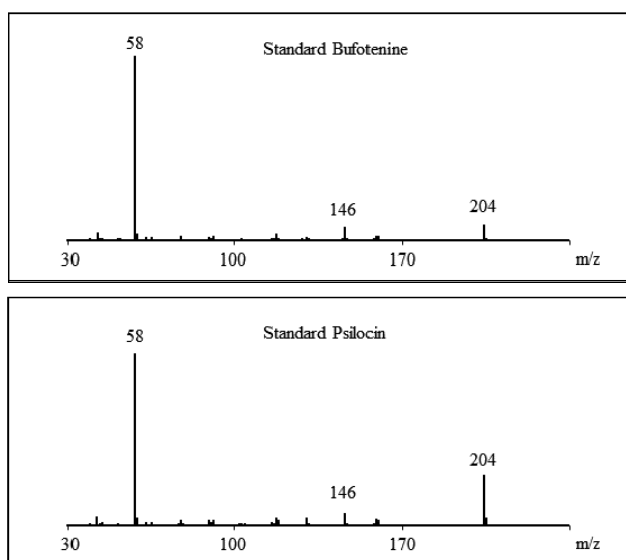


Fig.15 Mass spectra of the detected peak in Fig.14

3.6 ハルマラ

3.6.1 抽出法

Fig.16(a)(b)のとおり，エタノール，クロロホルム液抽出及び弱アルカリ性抽出により，15.1 分にハルマリン，15.4 分にハルミンのマススペクトルと一致するピークを検出した。

ただし，ハルマラは種子であり油脂を含有しているため，油脂の抽出を抑制できる弱アルカリ性抽出の方が適していると考ええる。

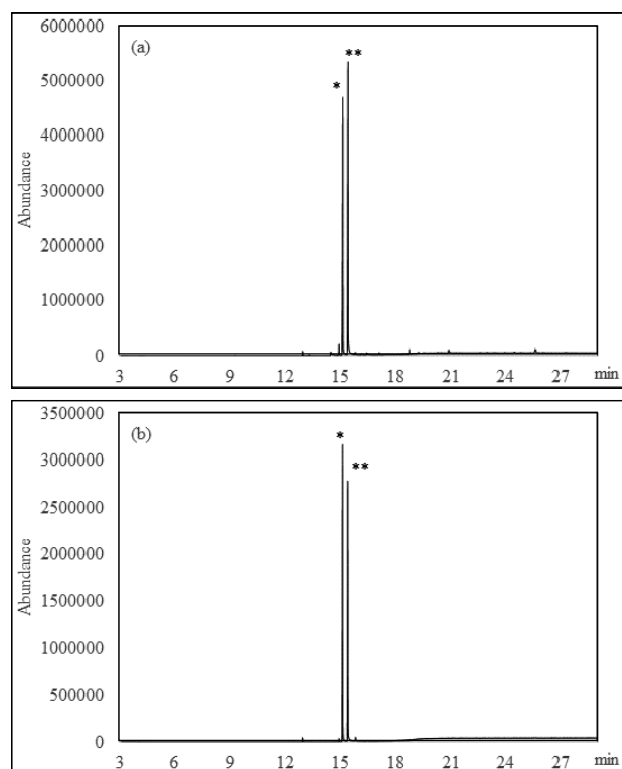


Fig.16 Total ion chromatograms of Harmala extract under the extracting condition described in (a)2.3.2(1) and in(b)2.3.2(2), under the GC-MS condition described in 2.2.2(1)

*Harmaline **Harmine

3.6.2 分離カラム

ハルミンとハルマリンの標準試薬を DB-5MS を用いて分析した結果を Fig.17 に示す。Fig.16(a)(b)に示したハルマラ抽出物から検出したピークとリテンションタイムが一致し，DB-5MS により分離同定が可能であった。

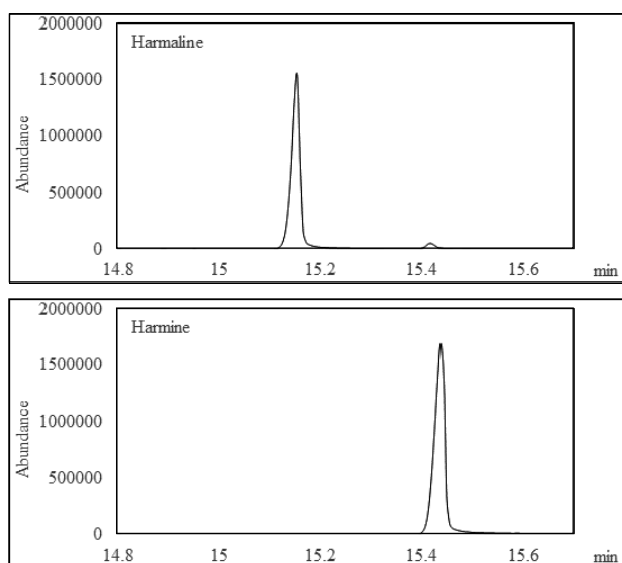


Fig.17 Total ion chromatograms of standard substances under the GC-MS condition described in 2.2.2(1)

4. 要 約

精神作用成分を含有する植物であるサンペドロ、アカシア、チャリボンガ、カート、ヨボ及びハルマラに含まれる精神作用成分の抽出条件及び GC-MS 条件を検討した。

サンペドロ、アカシア及びチャリボンガは、弱アルカリ性抽出、かつ、カラム DB-5MS を用いることで良好な結果が得られた。

カートは、弱アルカリ性抽出により精神作用成分の抽出は可能であったが、カチンの抽出に関しては強アルカリ性抽出の方が弱

アルカリ性抽出より良好な結果が得られた。また、カラム DB-5MS ではカチンとその立体異性体が分離しなかったが、CYCLODEX-B を用いることで良好な結果が得られた。

ヨボ及びハルマラは、エタノール、クロロホルム液抽出または弱アルカリ性抽出、かつ、DB-5MS を用いることで良好な結果が得られた。ヨボの主な精神作用成分であるブフォテニンは、サイロシンと類似するマススペクトルを有するが、リテンションタイムの違いにより分離同定が可能であった。

文 献

- 1) 刈米達夫：“最新生薬学”，P.394 (1949)，（廣川書店）
- 2) 船田正彦，竹林美佳，宮崎育子，浅沼幹人，青尾直也，和田清：精神保健研究，**61**，61 (2015)
- 3) 中嶋順一，荒金眞佐子，浜野朋子，塩田寛子，吉澤政夫，鈴木幸子，北川重美，安田一郎，森謙一郎，荻野周三：東京健安研セ年報，**59**，91 (2008)
- 4) 小曾根一欽，松崎隆一，佐藤重剛，山崎光廣，古川広：関税中央分析所報，**36**，27(1997)
- 5) 日本薬学会編 “薬毒物試験法と注釈 2006－分析・毒性・対処法－”，P.159(2006)，（東京化学同人）