

指定薬物検査目的で試買した植物片製品における 医薬品成分の検出事例

松尾 広伸, 吉村 裕紀, 辻村 和也

長崎県では、違法薬物の流通防止のため、指定薬物成分の混入の可能性がある植物片等の製品やいわゆる健康食品の買上調査を行っている。検査においては、対象成分を含め、違法性の疑いがある成分について広くスクリーニング分析を行う体制をとっている。

令和元年度及び令和2年度に行った、指定薬物成分の混入の可能性がある製品の買上調査にて、植物片3製品のスクリーニングの結果から、エフェドリン類の含有が示唆され、マオウを含有するいわゆる無承認無許可医薬品であることが疑われた。そこで、複数の質量分析計で詳細に分析を行ったところ、全ての製品から医薬品成分エフェドリン、プソイドエフェドリン、メチルエフェドリンを含むエフェドリン類5成分を検出した。さらに、これらの成分がマオウ由来であるか確認するために、PCRを行ったところ、3製品中1製品で、マオウ特異的塩基配列のPCR増幅が確認された。

キーワード：指定薬物、無承認無許可医薬品、エフェドリン、LC-MS、GC-MS、PCR

はじめに

長崎県では、違法薬物の流通防止のため、指定薬物成分の混入の可能性がある植物片等の製品やいわゆる健康食品の買上調査を行っている。検査においては、対象成分を含め、違法性の疑いがある成分について広くスクリーニング分析を行う体制をとっている。そのため、指定薬物は含有していないが、いわゆる無承認無許可医薬品と疑われる製品が検知される場合がある。医薬品に該当する成分本質(原材料)については、「専ら医薬品として使用される成分本質(原材料)リスト」に規定されているが、植物由来として規定されている成分も多い。そのような成分が含まれていることが疑われる製品においては、成分の含有に加え、植物由来の成分であることを示すことが求められる場合がある。

令和元年度及び令和2年度に行った、指定薬物成分の混入の可能性がある植物片等の製品の買上調査にて、植物片3製品から医薬品成分エフェドリン、プソイドエフェドリン、メチルエフェドリンを含むエフェドリン類5製品が検出された。さらに、これらの成分がマオウ由来のものであるか検討を行ったため、その内容を報告する。

材料および方法

1 試料

インターネットで買い上げた植物片3製品(R1-1, R1-2, R2-1)

2 試薬

エフェドリン(E)、プソイドエフェドリン(PE)、メチルエフェドリン(ME)、ノルエフェドリン(NE)、ノルプソイドエフェドリン(NPE)はメルク(株)製のメタノール溶液、メタノールは関東化学(株)製のLC-MS/MSグレード、tert-ブチルメチルエーテル、PFPAは富士フィルム和光純薬(株)製、MSTFAはジーエルサイエンス(株)製を用いた。

3 機器

GC-MSは、アジレント・テクノロジー(株)製7890A/5985C GC/MSD、LC-Q/TOFMSは、Waters製Xevo G2-XS Qtof、LC-TQMSは、アジレント・テクノロジー(株)製1290/6460Aを使用した。

4 前処理

既報¹⁾を参考に、フィンガーマッシャーを用いて磨砕した検体0.05 gをとり、tert-ブチルメチルエーテルを加え混和し、乾固させたのちメタノールに転溶した。適宜メタノールを用いて希釈し、試験溶液とした。

5 違法性のある成分のスクリーニング

GC-MS及びLC-Q/TOFMSによるスキャン分析を行

表1 LC-TQMS定量トランジション

成分	Precursor Ion	Product Ion	
		定量	確認
E	166.1	148.1	115.1, 91.1
PE	166.1	148.1	115.1, 91.1
ME	180.1	162.2	46.2, 43.1
NE	152.1	134.1	117.1, 115.1
NPE	152.1	134.1	115.1, 91.1

い、既製 (Cayman, SWGDRUG, NIST) 及びin-house (GC用、LC用) のデータベースを用いて成分含有の有無を確認した。GC、LCの分析条件は指定薬物検査のものを用いた²⁾。

6 エフェドリン類の分析

(1) GC-MSによる定性分析

既報^{1, 3, 4)}を参考に、E及びPEはMTFA誘導体を、NE及びNPEはPFPA誘導体を調製し、MEは誘導體化せず測定した。カラムはDB-5MS-DG (30 m x 0.250 mm, 0.25 μm, Agilent Technologies)、イオン化はEI (70 eV)、注入口温度250℃、注入モードはMEのみスプリットレス注入、他はスプリット注入 (1:10)を行った。昇温条件は70℃ (2 min)- (10℃/min)-280℃(5 min)とした。

(2) LC-Q/TOFMSによる定性

既報⁵⁻⁶⁾を参考に測定条件を設定した。カラムはACQUITY UPLC BEH C18 (2.1 x 100 mm, 1.7 μm, Waters)を使用した。イオン化はESI positive、測定モードはMSe (m/z:100-800)、移動相A: 10 mM ぎ酸アンモニウムpH 3、移動相B: メタノール、流速0.4 mL/min、グラジエントはA:B=95:5 (0-8 min)→10:90 (8-13 min)→95:5 (13-15 min)とした。

(3) LC-TQMSによる定性及び定量

カラムおよび移動相はLC-Q/TOFMSと同様の条件とした。イオン化はAJS ESI positive、測定モードはMRMとした。トランジションを表1に示した。検量線範囲について、Eは50-500 ng/mL、PEは10-500 ng/mL、ME、NEおよびNPEは1-100 ng/mLとした。

7 PCRによるマオウ含有の確認

これら成分の由来としてマオウを疑い、既報⁷⁾を参考にプライマー(表2)を設計し、PCRによる確認を行った。

表2 PCRプライマー配列

Forward primer	Reverse primer
EphX2 : ttggtaccttctctctttg (22 mer)	EphZ4 : gcatttctatgtttggcatg (21 mer)
EphX3 : tataaggaatttgaaatgatgatg (24 mer)	EphZ5 : gggatgatgacttggct (19mer)

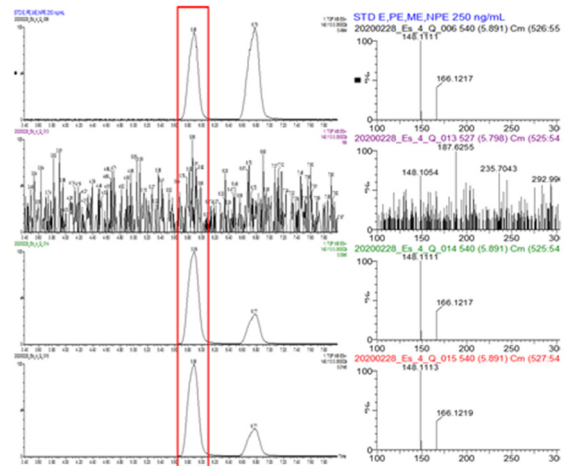


図1 LC-Q/TOFMSにて測定したエフェドリンのクロマトグラムおよびMSスペクトル a) 標準溶液 250 ng/mL b) 操作ブランク c) 検体R1-1 d) 検体R1-2

表3 エフェドリン類定量値範囲 (n=4, 製品中含量の単位: μg/g)

検体		E	PE	ME	NE	NPE
R1-1	最小値	145	42.6	8.54	5.73	5.47
	最大値	870	197	70.4	26.5	15.2
R1-2	最小値	791	170	26.5	24.6	18
	最大値	1157	589	104	55.9	118
R2-1	最小値	1010	234	49.7	95.1	49.5
	最大値	1990	595	83.9	156	120

結果および考察

1 違法性のある成分のスクリーニング

GC-MSにてエフェドリン、LC-Q/TOFMSにてメチルエフェドリンの含有が示唆された。

2 エフェドリン類の分析

(1) GC-MS及びLC-Q/TOFMSによる定性

検体の抽出液と標準溶液の分析結果を比較し、全ての成分について、溶出時間とMSスペクトルが一致した。図1にLC-Q/TOFMSにより測定したエフェドリンのデータを示した。

(2) LC-TQMSによる定性及び定量

定量結果を表3に示した。採取箇所の違いにより定量値のばらつきが認められたが、全ての成分が確認された。エフェドリンについては全ての検体で約1 mg/g相当の含有が確認された。

3 PCRによるマオウ含有の確認

1検体(R2-1)のみマオウ特異的塩基配列のPCR増幅が確認された(表4)。当該検体は他の検体より定量値が高く、マオウ含量の違いにより結果に差が生じた可能性があるが、他の検体にマオウが入っていない、または当該手法が最適でない可能性もあり、今後PCRプライマー再設計等の検討が必要であると考えられた。

表4 PCR確認結果

Primer (理論増幅長bp)	試料		
	R1-1	R1-2	R2-1
EphZ5+EphX2 (254 bp)	×	×	◎
EphZ5+EphX3 (181 bp)	×	×	◎
EphZ4+EphX3 (205 bp)	×	×	◎

×:増幅無し、◎:明確な増幅あり

まとめ

植物片製品から医薬品成分であるエフェドリン、プソイドエフェドリン、メチルエフェドリンが検出された。また、これらの製品からはノルエフェドリン、ノルプソイドエフェドリンも検出され、結果は医薬品成分の検出として薬務行政室に報告し、「医薬品成分が検出された製品について」として報道発表された。その後マオウ特異的塩基配列をターゲットにしたPCRにより、一部製品においてその存在が示唆された。

今回、指定薬物検査の依頼があった検体から医薬品成分が検出されたことで、検査項目に分析対象を絞らず幅広く分析を行うことが、違法性のある製品を排除する上で有用であると考えられた。

参考文献

- 1) 日本化学会編：食品衛生検査指針 理化学編 2015, pp.917-920, 公益社団法人日本食品衛生協会, 東京(2015).
- 2) 辻村, 他: 指定薬物の検査結果(2018年度), *長崎県環境保健研究センター所報*, 64, 138-139 (2018).
- 3) Guro F, Günter G., Investigation of the silylation of ephedrines using N-methyl-N-trimethylsilyl-trifluoroacetamide., *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* Nov 25; 811(2):201-8 (2004).
- 4) Emilia M, Manuela P, Roberta P, Piergiorgio Z, Simona P., A rapid and simple procedure for the determination of ephedrine alkaloids in dietary supplements by gas chromatography-mass spectrometry., *J Pharm Biomed Anal.* Aug 28;41(5):1633-41(2006)
- 5) Mark C Roman., Determination of Ephedrine Alkaloids in Botanicals and Dietary Supplements by HPLC-UV., *JAOAC Int.* 87(1): 1-14 (2004).
- 6) 安藤, 他: 超高速液体クロマトグラフータンデム質量分析計(LC-MS-MS)を用いた覚醒剤中の残存エフェドリン類の分析方法の検討について, *関税中央分析所報*, 57, 103-107 (2017).
- 7) Natascha T , Ikhlas A K, Zhiqiang P, Brian E., The use of polymerase chain reaction (PCR) for the identification of ephedra DNA in dietary supplements., *Planta Med.* Feb;72(3):241-7 (2006).

A report on the detection of pharmaceutical ingredients in plant fragment products purchased to survey illegal drugs

Hironobu MATSUO, Hiroki YOSHIMURA and Kazunari TSUJIMURA

Nagasaki Prefecture conducts purchase inspections of products such as plant fragments and “health foods” that may be contaminated with certain designated drug ingredients to prevent the distribution of illegal drugs. For the inspections, a system is in place to conduct a broad analytical screening of the ingredients suspected to be illegal, including the target ones.

During the inspections of purchased products conducted in the first and second fiscal years for the possibility of contamination with designated drug ingredients, the screening of three plant fragments suggested that they contained ephedrine. It was suspected that they were “unapproved and unlicensed” drugs containing mallow. Therefore, we conducted a detailed examination using several mass spectrometers and detected five ephedrine components, including the pharmaceutical ingredients ephedrine, pseudoephedrine, and methylephedrine, in all products. Furthermore, PCR confirmed these components to be derived from Mao. PCR amplification of Mao-specific nucleotide sequences was confirmed in one of the three products.

Key words: illegal drug, pharmaceutical ingredients, Ephedrine, LC-MS, GC-MS, PCR