

## いわゆる健康食品中の医薬品成分の二次元展開 TLC によるスクリーニング試験

栗田浩幸,\* 水野くみ子, 黒見公一, 上野千恵,  
上村慎子, 藤原厚子, 小和田和宏, 山本政利

## Screening Test of Drugs in Health Foods Using 2-Dimensional TLC

Hiroyuki KURITA,\* Kumiko MIZUNO, Koichi KUROMI,  
Chie UENO, Mitsuko KAMIMURA, Atsuko FUJIWARA,  
Kazuhiro OWADA, and Masatoshi YAMAMOTO

*Department of Drug and Food Science, Shizuoka Institute of Environment and Hygiene,  
4-27-2 Kita-ando, Aoi-ku, Shizuoka 420-8637, Japan*

(Received June 5, 2007; Accepted December 10, 2007)

A simple and rapid method for screening of drugs in health foods using 2-dimensional TLC was established. The development systems were: (1) ethyl acetate/methanol/28% ammonia (85 : 10 : 5), (2) cyclohexane/toluene/diethyl amine (65 : 25 : 10), (3) methanol and (4) ethyl acetate/methanol/25% ammonia (85 : 10 : 5). System (1) and (2) were run as 2-dimensional high-performance TLC, and System (3) and (4) were run as 2-dimensional conventional TLC. Sample extracted with methanol from health foods was applied to standardized two 2-dimensional TLCs and 4 *R<sub>f</sub>* values obtained from 4 development systems were compared with reference *R<sub>f</sub>* values which were measured previously using standard materials. The repeatability of reference *R<sub>f</sub>* values were secured by standardizing development conditions and pattern of 4 *R<sub>f</sub>* values was specific for 80 drugs. Moreover, using 2-dimensional TLC enable to assign 4 *R<sub>f</sub>* values to unknown substance without influence of matrix from health foods, so it was possible to determine drugs comparing 4 *R<sub>f</sub>* values. This method could be applied as first screening test for prevention of health crisis occurred by drugs added to health foods illegally.

**Key words**—drug screening; 2-dimensional TLC; health foods; health crisis

## はじめに

健康志向の高まりの中で、いわゆる健康食品の需要が増大しているが、これらの中には、医薬品成分が混入される事例がみられる。<sup>1-4)</sup> また、若年層を中心に麻薬類似作用を持つが麻薬としての規制のない、いわゆる違法ドラッグの濫用も問題となっている。<sup>5,6)</sup> これらは、医薬品としての管理下にないため、不適切な摂取による健康被害の発生が危惧されている。その健康危害発生時には、被害者の治療や被害の拡大防止のため、原因物質の迅速な同定が求められ、そのためには、NMR等の機器分析の前に、スクリーニングを行い、対象物質を推定することで検査の効率化を図る必要がある。このような分析には、昇温 GC-MS、グラジエント LC-MS、TLCの利用が考えられるが、TLCでは、分析に供した

物質はすべてプレート上に展開されているため、GCやHPLCと比較して、より広範な物質のスクリーニングが可能と考えられた。

TLCでのスクリーニングにおいては、多数の標準物質との同時分析は不可能なため、混入された医薬品成分の推定は、試料から得られた *R<sub>f</sub>* 値と文献値<sup>7,8)</sup>等との比較によるが、一般的に *R<sub>f</sub>* 値の変動は大きいため、展開条件を規定して、その再現性を確保する必要がある。また、TLCはGCやHPLCと比較して、分解能が低いいため、測定された *R<sub>f</sub>* 値に相当する候補物質は多数あり、未知物質の推定には複数の *R<sub>f</sub>* 値による絞り込みを行う必要がある。しかし、食品のような夾雑物質の多い試料に医薬品成分が混入されたもの、複数の医薬品成分が混入されたもの等複数の含有成分を同時に分析する場合、通常の一次元 TLC を複数回実施しても、各 TLC に検出される複数のスポットから検査対象スポットを判別し、展開溶媒毎の *R<sub>f</sub>* 値を測定することは非常

静岡県環境衛生科学研究所医薬食品部

\*e-mail: kani@pref.shizuoka.lg.jp

に困難である。このため、ある展開条件の TLC 上の検査対象スポットからその成分を抽出し、別の展開条件で分析することが要求されるが、操作が煩雑であり、また、微量成分への応用は現実的ではない。

そこで、筆者らは、複数成分を含有する検体において、各成分の複数の *Rf* 値を測定し、その成分を推定する方法を検討した。まず、過去に検出された、あるいは混入の可能性のある消炎鎮痛薬、<sup>1)</sup> Phosphodiesterase type 5 阻害薬（勃起不全治療薬）、<sup>2,3)</sup> 経口糖尿病薬類<sup>4)</sup>等 80 成分について、TLC の変動因子を制御することで、再現性が高く未知物質を推定することが可能な *Rf* 値（以下「参照 *Rf* 値」という。）を 4 つの展開条件において得た。

次に、4 つの展開条件を 2 種類の二次元 TLC に組み合わせることで、未知物質 4 つの *Rf* 値の測定を容易にし、さらにこれらを参照 *Rf* 値と比較することで標準物質と同時分析することなく、いわゆる健康食品中の医薬品成分を推定することを可能としたので、併せて報告する。

## 方 法

**1. 試薬** 医薬品成分の標準物質は原則として試薬特級を使用し、各医薬品成分が 2 mg/ml となるようメタノールに溶解し、標準溶液とした。薄層板は Merck 社製プレコート silica gel 60 F<sub>254</sub> (粒子径 5–7 μm; 薄層板 I) 及び同社製プレコート silica gel 60 F<sub>254</sub> (粒子径 10–20 μm; 薄層板 II) をメタノールで洗浄後、105°C、30 分間活性化したものを使用した（乾燥機；エスペック製 PH-101）。ニンヒ

ドリン試液は和光純薬工業製薄層クロマトグラフ用スプレーを使用した。その他試薬は特級又はそれ以上のものを使用した。

**2. TLC** 展開条件を Table 1 に示した。標準溶液は 1 μl、試料溶液は 5 μl を薄層板の下端から 15 mm の位置に 25 ± 1°C、50 ± 10% RH（相対湿度）の条件下でスポットした。展開距離は、薄層板 I は 5 cm、薄層板 II は 10 cm とした。二次元展開を行う場合は、薄層板 I は展開条件 1→2、薄層板 II は 3→4 の順序とした。なお、一次元目の展開終了後に 40°C、30 min の条件で乾燥し、二次元目の展開を行った。スポットの検出は紫外線照射（254 nm）、ヨウ素蒸気、ニンヒドリン試液（60°C、5 min）及び噴霧用ドラージェンドルフ試液で順次処理した。その他は日本薬局方一般試験法に従った。

**3. *Rf* 値の処理** *Rf* 値に 100 を乗じたのち、四捨五入して整数とし、この値を平均値、標準偏差及び差の算出に用いた。

**4. 試料溶液の調製** 市販ウーロン茶を粉末とし、これに 0.2% (2 mg/g) となるよう Glibenclamide, Sibutramine, Sildenafil 及び Yohimbine をそれぞれ添加し、模擬試料を調製した。この試料 1 g を取り、メタノール 5 ml を加えて 5 分間超音波処理抽出した。これを遠心分離したのち、上澄液をメンブランフィルター (0.45 μm) でろ過し、試料溶液とした。

## 結果及び考察

**1. 展開溶媒** 医薬品成分等複数の成分を含有

Table 1. Standardized TLC Systems for Determination of Drugs in Health Foods

System number	Plate		Development solvent		Saturation time (min)	Saturation pad (W×H; mm)	Chamber size (W×D×H; mm)
	Type	Size (W×H; mm)	Composition	Volume (ml)			
1	Silica gel 60 F <sub>254</sub> (5–7 μm)	200×100	Ethyl acetate/methanol /28% ammonia (85 : 10 : 5)	100	30	200×200	205×50×210
2	Silica gel 60 F <sub>254</sub> (5–7 μm)	100×200	Cyclohexane/toluene/diethylamine (65 : 25 : 10)	100	30	200×200	205×50×210
3	Silica gel 60 F <sub>254</sub> (10–20 μm)	150×200	Methanol (100)	100	0	none	233×105×225
4	Silica gel 60 F <sub>254</sub> (10–20 μm)	200×150	Ethyl acetate/methanol /25% ammonia (85 : 10 : 5)	100	60	200×200	205×50×210

All system were run at 25°C and 50%RH.

する健康食品中について、TLCによるスクリーニングに必要な複数の $Rf$ 値を測定する場合、一次元TLCの複数回実施では、推定対象とするスポットの特定が困難である。そこで、スポットから2つの $Rf$ 値情報が得られる二次元展開TLCの利用を検討することとした。また、3つ以上の $Rf$ 値を判定する場合も同様に、独立した複数の二次元TLCでは、各TLC間に対応するスポットを特定することができないため、Fig. 1に示す模式図の通り、二次元展開の1つを同一系溶媒とした複数の二次元展開TLCを行い、TLC間の検査対象スポットを対応させて各溶媒での $Rf$ 値を測定する必要があると考えられた。すなわち、Fig. 1においてA, B, C成分を分析する場合、Y軸方向の展開を同一溶媒とし、この $Rf$ 値を比較することで、A成分は、TLC 1及び2における $(X_1, Y_a)$ 及び $(X_4, Y_a)$ の $Rf$ 値を持つスポットと特定でき、未知物質を推定するための3つの $Rf$ 値を得ることができる。さらに、Y軸方向の $Rf$ 値の大小関係が変わらない範囲で展開溶媒の組成を変化させることで、2つの二次元展開TLCから4つの $Rf$ 値が得られると考えられた。

以上の観点から、展開溶媒として、既報<sup>7,8)</sup>に記載される医薬品成分及び二次元展開の操作法を検討し、1) 酢酸エチル/メタノール/28%アンモニア水混液 (85:10:5)、2) シクロヘキサン/トルエン/ジエチルアミン混液 (65:25:10)、3) メタノール及び4) 酢酸エチル/メタノール/25%アンモニア水混液 (85:10:5) の4種類を選定した

(Table 1)。また、この4種類の展開溶媒のうち1)と2)及び3)と4)を組み合わせた2種類の二次元展開の利用を検討した。なお、TLC間のスポットの対応は、同一系展開溶媒1)と4)の $Rf$ 値を利用することとした。

**2. 展開条件** 未知物質を推定するためには、 $Rf$ 値の再現性を確保する必要があるが、選択した展開溶媒でのTLCを常法で操作したところ、医薬品成分の一部に $Rf$ 値の再現性の得られないものが認められた。

そこで、 $Rf$ 値の変動因子である温度、相対湿度、薄層板の大きさ、展開溶媒の量、飽和時間及び展開槽の大きさの各条件を検討した結果、Table 1に示す条件により既報<sup>7,8)</sup>の $Rf$ 値に近似させることが可能となり、これらを各展開溶媒における標準展開条件とした。

**3.  $Rf$ 値の再現性** 標準物質80成分について、Table 1の一次元展開における $Rf$ 値の再現性を薄層板3ロットでの標準偏差により評価した。その結果をTable 2に示したが、展開条件1-4で標準偏差の最大値はそれぞれ、2.4、2.0、2.1及び2.6と再現性は良好であり、また、平均値も1.2、0.5、0.7及び1.0と小さかった。この結果、参照 $Rf$ 値との比較による未知物質の推定が可能と判断された。なお、当該試験結果の妥当性を判断するため、各展開条件における標準偏差の大きい医薬品成分、すなわち展開条件1及び4はAtropine、展開条件2はBromhexine並びに展開条件3はLidocaineをそれぞれり

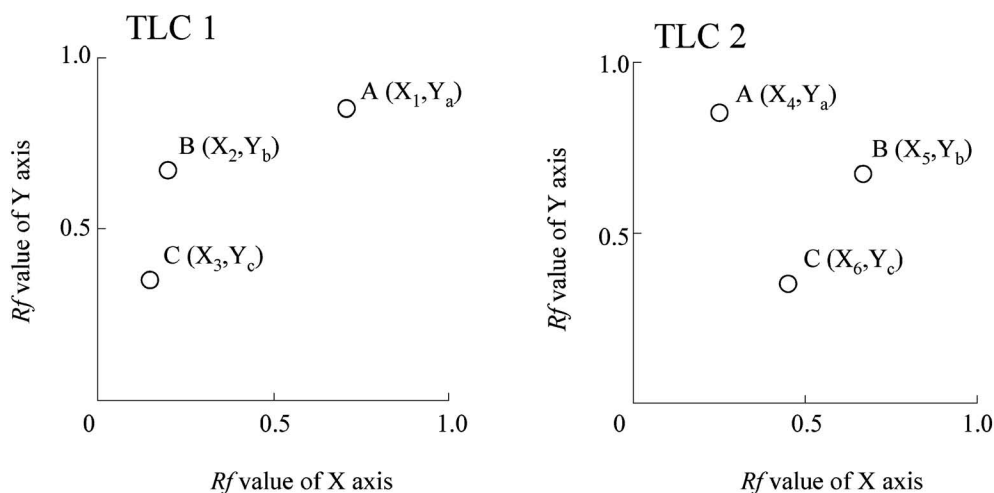


Fig. 1. Schematic Chromatogram for Determination of Drugs Using 2-Dimensional TLC

○: Sample spots,  $X_{1-6}$ :  $Rf$  values of X axis,  $Y_{a-c}$ :  $Rf$  values of Y axis.

Table 2. Repeatability of 80 Drugs' *Rf* Values ( $\times 100$ )

System number <sup>a)</sup>	Standard deviations <sup>b)</sup>	
	Mean	Maximum
1	1.2	2.4
2	0.5	2.0
3	0.7	2.1
4	1.0	2.6

a) TLC systems were shown in Table 1, b) Standard deviations were measured using 3 lots of plates.

ファレンス化合物に選定した。これらを試験毎に同時に展開し、この物質の *Rf* 値がおおむね標準偏差の範囲にあることを確認することとした。

4. 参照 *Rf* 値 標準物質について薄層板 3 ロットで得られた *Rf* 値の平均値を各医薬品成分の参照 *Rf* 値とした (Table 3).

#### 5. 検出方法の標準化

##### 5-1. 二次元展開の順序及び溶媒除去方法 二

Table 3. Reference *Rf* Values of 80 Drugs Measured Using TLC System 1-4<sup>a)</sup>

No	Compound	<i>Rf</i> values ( $\times 100$ ) <sup>b)</sup>			
		1	2	3	4
1	1-(3-Chlorophenyl)-piperazine (3CPP)	42	10	15	38
2	1-(4-Methoxyphenyl)-piperazine (4MPP)	34	9	10	30
3	2-(4-Iodo-2,5-dimethoxyphenyl)-ethanamine (2C-1)	39	7	6	36
4	2-(2,5-Dimethoxy-4-isopropylthiophenyl)-ethanamine (2C-T-4)	40	9	8	37
5	2-Methylamino-1-(3,4-methylenedioxyphenyl)-propan-1-one (Methylone)	59	25	26	55
6	5-Methoxy- <i>N,N</i> -dimethyl-triptamine (5MeO-DMT)	53	10	11	48
7	Acetaminophen	45	0	83	42
8	Ajmalin	56	9	30	48
9	Amantadine	41	24	7	34
10	Aminopyrine	65	30	68	60
11	Amiodarone	83	65	51	80
12	Atropine	29	8	5	22
13	Betamethasone Dipropionate	78	20	88	76
14	Biperiden	83	68	39	80
15	Bisoprolol	53	12	21	44
16	Bromhexine	83	69	80	81
17	Caffeine	55	6	64	49
18	Carbamazepine	55	2	79	52
19	Chlorpheniramine	60	39	14	54
20	Chlorpropamide	9	0	92	9
21	Cimetidine	30	0	60	24
22	Cinnarizine	83	60	75	81
23	Clemastine	71	53	17	63
24	Cyclizine	72	50	40	65
25	Diltiazem	68	23	49	61
26	Diphenhydramine	72	50	28	66
27	Ephedrine	34	9	9	27
28	Ethenzamide	65	8	81	62
29	Etizolam	55	6	74	48
30	Fenfluramine	68	47	21	59
31	Fluoxetine	54	20	12	45
32	Furosemide	5	0	87	4
33	Glibenclamide	9	0	90	8
34	Hydrochlorothiazide	34	0	81	32
35	Hydroxyzine	59	14	59	52
36	Imipramine	72	54	20	65
37	Isoxsuprine	63	5	61	59
38	Ketoconazole	54	0	71	47

Table 3. (continued)

No	Compound	<i>Rf</i> values ( $\times 100$ ) <sup>b)</sup>			
		1	2	3	4
39	Ketoprofen	4	0	87	4
40	Ketotifen	62	29	25	55
41	Lidocaine	76	40	73	72
42	Loxoprofen	4	0	89	3
43	Mazindol	59	11	47	54
44	Metoprolol	52	12	17	43
45	Mexiletine	62	28	24	57
46	Minoxidil	21	0	50	17
47	Nifedipine	72	2	85	72
48	Nizatidine	29	0	46	23
49	<i>N</i> -Nitorosofenfluramine	80	42	85	77
50	Norfloxacin	0	0	2	0
51	Noscapine	76	28	73	74
52	Oxatomide	67	6	72	65
53	Oxazepam	44	1	81	42
54	Papaverine	69	14	76	65
55	Pentoxifylline	56	4	66	50
56	Phenacetin	66	3	83	62
57	Phenolphthalein	54	0	85	51
58	Procaine	73	8	37	66
59	Progesterone	78	44	86	75
60	Propafenone	57	7	19	53
61	Propranolol	56	11	20	47
62	Ranitidine	26	0	25	23
63	Sibutramine	83	72	60	82
64	Sildenafil	48	1	55	45
65	Sulfadimidine	10	0	81	10
66	Sulfinpyrazone	12	0	93	12
67	Tadalafil	64	1	79	62
68	Testosterone Enanthate	82	55	87	80
69	Tetracaine	70	23	42	65
70	Theobromine	36	1	64	33
71	Thiamphenicol	33	0	84	31
72	Thymol	80	31	86	77
73	Ticlopidine	82	65	81	80
74	Tolbutamide	8	0	91	8
75	Tranexamic Acid	0	0	29	0
76	Trazodone	69	19	69	63
77	Trihexyphenidyl	83	68	40	79
78	Trimipramine	80	64	36	76
79	Vardenafil	48	0	69	46
80	Yohimbine	65	9	68	60

a) TLC system 1-4 were shown in Table 1, b) Mean of *Rf* values,  $n=3$ .

次元展開 TLC では、二次元目の展開に一次元目の展開溶媒の影響を受ける可能性が考えられた。そこで、展開挙動の異なる 10 成分 (Atropine, Caffeine, Clemastine, Glibenclamide, Lidocaine, Nizatidine,

Propranolol, Sibutramine, Sildenafil 及び Yohimbine) を選択し、展開順序と溶媒除去 (乾燥) 方法を検討した。その評価は、各成分の二次元目の *Rf* 値の変動、すなわちそれらの参照 *Rf* 値との差 (絶対値)

により行った。

薄層板 I においては、展開条件 1→2 の順序では、10 物質の各 *Rf* 値の差は平均値 1.2, 最大値 3 で、これら物質の推定の支障となる *Rf* 値の変動は認められなかった。しかし、展開条件 2→1 の順序では、平均値 4.2, 最大値 9 と *Rf* 値の変動は大きく、展開溶媒残存の影響を認めた。そこで、展開後の薄層板を 40°C, 30 min の条件で乾燥したが、この影響を除くことができなかった (Table 4)。この結果、展開を 1→2 の順序とし、また、一次元目の展開終了後にアンモニア臭を官能的に認めなくなる 40°C, 30 min の条件で薄層板を乾燥させることとした。

薄層板 II においては、展開条件 3→4, 4→3 いずれの順序でも *Rf* 値は大きく変動し、展開溶媒残存の影響を認めた。まず、展開条件 3→4 の順序では、10 物質の *Rf* 値の差は平均値 7.0, 最大値 13 であったが、40°C, 15 min の乾燥により平均値 2.1, 最大値 3 となり、溶媒の影響を排除できた。一方、展開条件 4→3 の順序では、*Rf* 値の差は平均値 9.1, 最大値 18 であった。しかし、この差は 40°C, 60 min の乾燥でも、一部の物質の *Rf* 値の変動を回復できず (平均値 3.9, 最大値 10)、二次元目の展開で得られた *Rf* 値から候補物質を判定することは不可能と判断された (Table 4)。これらのことから、展開順序は 3→4 とし、1 次元目の展開終了後、40°C, 30 min の条件で薄層板を乾燥させることとした。

**5-2. 推定方法** 未知物質の推定方法を検討した結果、試料から得られる対象スポットの *Rf* 値と参照 *Rf* 値との近似性を評価することで、未知物質の推定が可能と考えられた。すなわち、展開条件 1-4 から得られる *Rf* 値と各条件の参照 *Rf* 値との差

の絶対値を算出し、これらを合算し近似度とした。この値が小さいほど近似性は高いことから、近似度の順位付けによる物質の推定を行うこととした。また、参照 *Rf* 値の標準偏差 (Table 2) 及び二次元目の *Rf* 値の変動の最大値 (Table 4) がそれぞれ 2.6 及び 4 であったことから、試験毎の変動は±5 以内であると判断された。そこで、各展開条件でこの範囲外の参照 *Rf* 値を示す物質は、候補物質から除外することとした。

なお、同一系の展開条件である 1 と 4 において、参照 *Rf* 値の近接する物質の一部に Clemastine と Papaverine 等大小関係の変動する組み合わせが認められた。このような *Rf* 値の大小関係が変動する物質が同時に検出されることは極めて稀であるが、この場合においても、薄層板 I と II に検出される各スポットについて、2 つの *Rf* 値による近似度を算出し、それらの組み合わせを確認することで対応可能であると判断した。

**6. 模擬試料による検証** 医薬品の用量及び検出事例を参考にしてウーロン茶に Glibenclamide, Sibutramine, Sildenafil 及び Yohimbine を添加した模擬試料を調製し、本法の実効性を検証した。標準化した操作条件で試験溶液を展開したところ、試料由来成分の影響を受けことなく、添加した医薬品成分に該当するスポットについて、展開条件 1-4 の 4 つの *Rf* 値を測定できた。これらの *Rf* 値について参照 *Rf* 値との近似度を算出した結果、これら 4 つの展開条件で得られた *Rf* 値の±5 にある候補物質数は、それぞれ Glibenclamide は 4 成分、Sibutramine は 1 成分、Sildenafil は 1 成分、Yohimbine は 2 成分であったが、これらの中で添加した医薬品成分が示す近似度がそれぞれ最小であった。また、試料から抽出された Caffeine も同様に容易に検出できた。この結果、推定方法の標準化の妥当性及び本法による医薬品成分の検出能力が確認できた (Table 5)。なお、医薬品成分を含有するハーブ類のカプセル等においても適用は可能であった。

## 結 論

健康危機管理への対応として、いわゆる健康食品に混入される医薬品成分の TLC を利用した推定方法を検証した。その結果、分析条件の標準化により *Rf* 値の再現性を確保し、2 種類の二次元展開 TLC

Table 4. Effect of Interval Treatment on Second Development *Rf* Values (×100)

System order	Interval treatment			
	None	40°C 15 min	40°C 30 min	40°C 60 min
1→2	1.2 ( 3) <sup>a)</sup>	nt <sup>b)</sup>	0.6 ( 2)	nt
2→1	4.2 ( 9)	nt	3.9 (10)	nt
3→4	7.0 (13)	2.1 ( 3)	2.2 ( 4)	2.0 ( 4)
4→3	9.1 (18)	5.1 (12)	3.6 (10)	3.9 (10)

Absolute differences with reference *Rf* values of 10 drugs. a) Mean and (maximum value), b) Not tested.

Table 5. Determination of Drugs Added to Woo Long Tea by *Rf* Values ( $\times 100$ )

Compound	<i>Rf</i> values ( $\times 100$ )				Name of candidates
	1 <sup>a)</sup>	2 <sup>a)</sup>	3 <sup>a)</sup>	4 <sup>a)</sup>	
Glibenclamide	9	0	89	10	Glibenclamide (3) <sup>b)</sup> , Chlorpropamide (4), Toulbutamide (5), Sulfinpyrazone (9)
Sibutramine	85	71	64	81	Sibutramine (8)
Sildenafil	51	2	56	46	Sildenafil (6)
Yohimbine	67	10	68	63	Yohimbine (6), Oxatomide (10)
Caffeine <sup>c)</sup>	55	6	64	53	Caffeine (4), Pentoxifylline (8)

Each drugs were added at 2 mg/g. a) TLC systems were shown in Table 1, b) Sum of 4 *Rf* values' differences, c) Extracted from test sample.

により得られる4つの*Rf*値を使用することで、含有する医薬品成分を推定することが可能となった。また、一般的な医薬品成分の用量がmgオーダーであることを勘案すると、今回検証した0.2% (2 mg/g)の検出感度を有すれば十分に実用性の高い分析法である。

今回、医薬品80成分の参照*Rf*値を決定したが、今後このリスト数を充実させることにより、より広範な医薬品成分を推定することが可能となる。

一方、行政処分を伴う根拠資料とするためには、MS, NMR等機器分析による構造決定も必須である。この場合においても、本法により、分析対象を絞り込めれば、他の分析の効率化が図れると同時にその分析方法を補完する資料として有用と考える。

なお、いわゆる健康食品等の製造現場においては、MS等高度な分析機器の整備は困難と考えられるが、本法は、簡便廉価な方法のため、異常を探知するための原料の受け入れ検査にも利用できる方法である。

## REFERENCES

- 1) Goromaru T., Nishiuchi M., Iguchi S., Okue A., Tsukamoto Y., *Iyakuhiin Kenkyu*, **5**, 407-411 (1974).
- 2) Moriyasu T., Shigeoka S., Kishimoto K., Ishikawa F., Nakajima J., Kamimura H., Yasuda I., *Yakugaku Zasshi*, **121**, 765-769 (2001).
- 3) Blok-Tip L., Zomer B., Bakker F., Hartog K. D., Hamzink M., ten Hove J., Vredenberg M., de Kaste D., *Food Addit. Contam.*, **21**, 737-748 (2004).
- 4) Kumasaka K., Kojima T., Honda H., Doi K., *J. Health Sci.*, **51**, 453-460 (2005).
- 5) Kuroki Y., *Jpn. J. Toxicol.*, **17**, 241-243 (2004).
- 6) Yamamoto J., *Jpn. J. Toxicol.*, **17**, 245-250 (2004).
- 7) Moffat A. C., Osselton M. D., Widdop B., "Clarke's Analysis of Drugs and Poisons 2004," Pharmaceutical Press, London, 2004.
- 8) Romano G., Caruso G., Musumarra G., Pavone D., Cruciani G., *J. Planar. Chromatogr.*, **7**, 233-241 (1994).