

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 Yukihiro 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 a 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恐れが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

話し、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

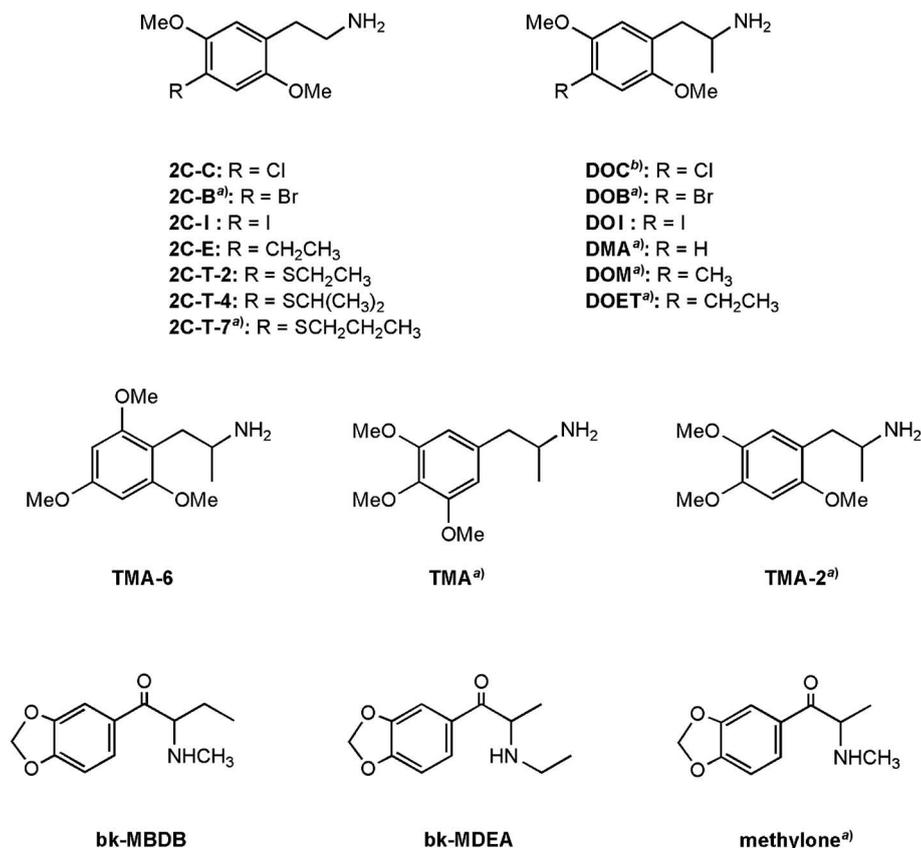


Fig. 1. Structures of Chemical Drugs

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-I	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

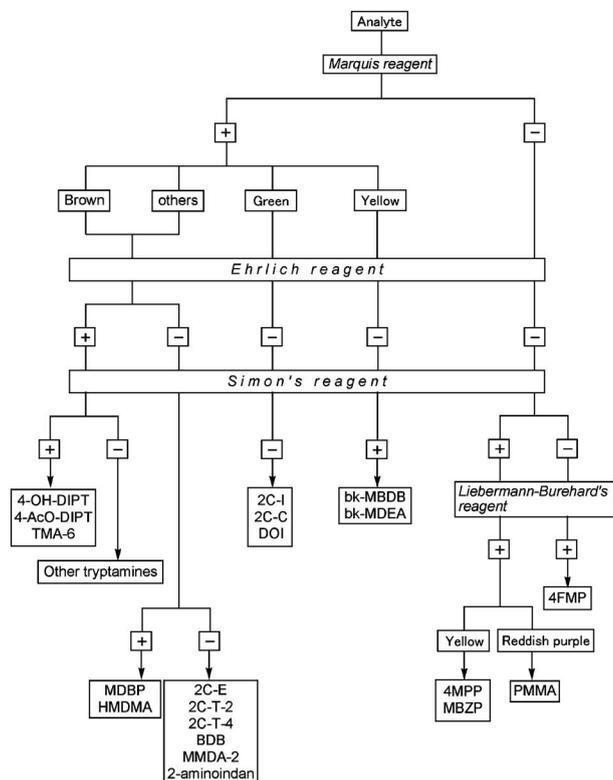


Fig. 2. Proposed Flow Chart for Screening of Designated Substances (Shitei-Yakubutsu) Using Color Test

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 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、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, MDMA-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、ドラーゲ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係わらず、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	
		Rf values ^{a)}	Color ^{b)}	Rf values ^{a)}	Color ^{b)}
		(n-hexane/acetone/triethylamine=10/10/1)		(MeOH/25% ammonia solution=200/3)	
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-I	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_{254 nm}. 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 –

1) Doi K., Miyazawa M., Fujii H., Kojima T.,

-
- 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.