

Table 1. 蒸留法によるメチルアミンの精製による  $\delta^{15}\text{N}$  値(‰)の変化

蒸留操作	留出分 $\delta^{15}\text{N}$	残留分 $\delta^{15}\text{N}$
1回目	-7.6	-3.3
2回目	-9.4	-3.9
3回目	-11.9	-6.9
4回目	-13.0	-8.4

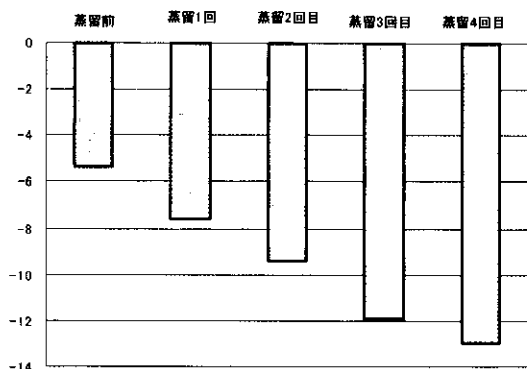


Fig. 3 蒸留精製によるメチルアミン(留出分)の  $\delta^{15}\text{N}$  値の変化

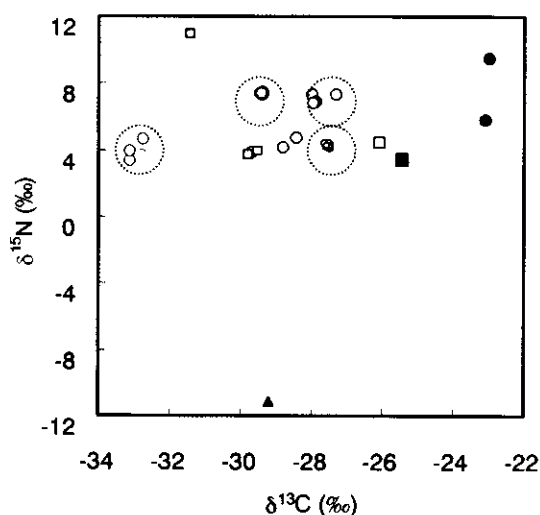


Fig.4 各種 MA の炭素・窒素安定同位体比 seized (○), synthesized from natural ephedrine (□), synthesized from synthetic ephedrine (▲), synthesized from semisynthetic ephedrine (●), commercial methamphetamine (■). Dotted circles indicate samples that were seized on the same occasion.

すなわちより精製されたメチルアミンのデータに関しては Fig. 3 にまとめた。

## 2. 押収品 MA の炭素・窒素安定同位体比分析による分類

押収品 MA、医薬品として入手可能な市販品 MA 及び実験室で各種 Ephedrine から化学合成した MA の炭素・窒素安定同位体比を測定した。その結果を Fig. 4 に示した。

## C. 考察

市販の Methylamine は、アンモニアとメタノールとの反応で合成され、蒸留によって分離・精製されている。アンモニアは窒素分子から Harber-Bosch 法によって合成されるため、その  $\delta^{15}\text{N}$  はほぼ 0 である。よってここから合成される Methylamine の  $\delta^{15}\text{N}$  もほぼ 0 の値となるはずであるが、市販品はいずれもマイナスの値を示した。これは、蒸留・精製する段階で、 $\delta^{15}\text{N}$  値がマイナスである軽い Methylamine が濃縮されたためと考えられる。実際、市販品をさらに蒸留することで、留出した Methylamine の  $\delta^{15}\text{N}$  はさらにマイナス方向に動き、残留分の  $\delta^{15}\text{N}$  はプラス方向に動いたことから、この推定は正しいものと考えられる。

以上の結果は、原料 Ephedrine の由来の推定が、MA の  $\delta^{15}\text{N}$  値を測定することで可能であることを示している。特に、 $\delta^{15}\text{N}$  値がマイナスとなった場合は、化学合成由来の Ephedrine を原料としている可能性が極めて高いと考えられる。

押収品 MA の炭素・窒素安定同位体比をプロットした Fig. 4 の結果は、原料 Ephedrine の由来が異なる場合はもちろんのこと、同じ天然由来と考えられる場合であってもある程度の分類が可能であ

ることを示している。特に、同一事犯で押収されたMAは極めて狭い範囲に集中していることから、本手法は取締対策用情報としても極めて有用な知見を与えうると言える。

#### D. 結論

本年度の実験から、昨年度までに確立した不純物分析による合成ルート推定に加えて、押収品MAの窒素同位体比を分析することで、Ephedrineを出発原料とする同じ合成ルートであっても、その原料の特徴により細分化が可能であることが示された。さらに押収品MAの炭素・窒素安定同位体比を2次元的にプロットすることで、不純物分析から得られる結果とは側面の異なる押収品の特徴を顕在化させることができることも明らかとなった。今後は、Ephedrineを出発原料としない合成ルートによる実験室的合成を試み、それらの安定同位体比の特徴を明らかにし、より包括的なProfiling手法を確立していく予定である。

#### E. 発表論文

1. "Determination of Origin of Ephedrine Used as Precursor for Illicit Methamphetamine by Carbon and Nitrogen Stable Isotope Ratio Analysis", Naoki Kurashima, Yukiko Makino, Setsuko Sekita, Yasuteru Urano and Tetsuo Nagano, *Analytical Chemistry*, in press.

## 研究協力報告書

### フェネチルアミン系乱用薬物(ATS)の Profiling Analysis —エクスタシー錠剤中の Methamphetamine の光学異性体分析—

研究協力者 太田 茂 広島大学大学院医歯薬学総合研究科 教授

**研究要旨** 本研究はフェネチルアミン系乱用薬物の化学的特性を用いて押収品の流通ルート等の解明のためのプロファイリングを行うことを目的としている。本年度は、エクスタシー錠剤中に含まれている Methamphetamine の光学活性についてキラルカラムを用いて HPLC にて分析を行った。本研究班にてプロファイリングを行ったエクスタシー錠剤 202 錠中から Methamphetamine が含まれていた 11 種類の錠剤を用いて検討を行った。その結果、右旋性の Methamphetamine を含む錠剤が 7 錠、左旋性の Methamphetamine を含む錠剤が 4 錠あった。

#### A. 研究目的

不正流通薬物の profiling は多面的な化学情報を得て、より正確な流通ルートや密造法の解明をすることが大切である。本年度は、日本で押収された MDA や MDMA を含有しているエクスタシー錠剤に焦点を絞り、混入している Methamphetamine(MA)の光学異性体についての化学情報を得ることで各錠剤の特徴付けをする。

#### B. 研究方法

試料錠剤としては、関東信越厚生局麻薬取締部で研究用麻薬として入手し、含有活性成分についてプロファイリングの終了した 202 の ecstasy 錠剤の中から、MA を含んでいた 11 種類の錠剤を選んで分析した。分析用試料調製は、各錠剤を粉末状にし、10 mg 秤量し、pH 7.0 のリン酸緩衝液 4 ml を加え、5 分間振とう後、フィルターでろ過し、試料溶液を得た。

#### 分析条件

HPLC : Shiseido Nanospace HPLC

カラム : Chiral Drug、35°C

(150 mm x 2.0 mm I.D.)、

移動相 : 50 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> :

(CH<sub>3</sub>CN:MeOH = 1 : 4) = 3 : 2

流速 : 0.1 ml/min

#### C. 研究結果

今回検討した錠剤は下記の成分を含むものである。

1. MDMA と MA : 2 錠
2. MDA、MA と Ephedrine : 1 錠
3. MDMA、MA と Ketamine : 7 錠
4. MDMA、MA、Caffeine と Ketamine : 1 錠

MA 結晶の場合の光学異性体分析法はすでに確立されているが、今回のようにサンプル中に Ketamine、Ephedrine、MDA 類などが含まれている場合は、純度の高い結晶の分析条件では、MA の光学異性体と他成分とのピークが重なる場合がある。そこで、MA の結晶の場合の移動相

条件を参考にしながら、種々検討し、研究方法の項に記した条件を確立した。標準品と実際の錠剤のクロマトグラムの1例を Fig.1 に示す。

右旋性の Methamphetamine のみを含んでいたのは 11 試料中 7 試料で、左旋性の Methamphetamine のみを含んでいたのは 11 試料中 4 試料であった。同時に分析された MDA と MDMA はすべてラセミ体であった。

#### D. 考察

日本で乱用されている Ecstasy 錠剤はすべて海外から密輸入されたものである。仕出地としては、オランダ等のヨーロッパと東南アジア及びカナダや米国であると推定されている。ヨーロッパ等では MA は Leuckart 法で密造される場合が多い。また、東南アジアでは麻黄由来の

Ephedrine を原料として、Emde 法または Nagai 法で Methamphetamine は密造されて、右旋性の Methamphetamine が流通している。

混入している Methamphetamine は右旋性のみではなく、左旋性のものもあったことは興味深い結果であった。

#### E. 結論

今回の結果のみでエクスタシー錠剤の仕出地を推定することは十分であるとは言えないが、少なくとも Profiling Analysis の一助になるのではないかと考えられる。今後は世界各地から仕出地のわかっているエクスタシー錠剤やヤーバー等の覚せい剤のみを含む錠剤を入手し、サンプルの例数を増やすことで Profiling Analysis の精度を高め、流通経路解明の一助にしたいと考えている。

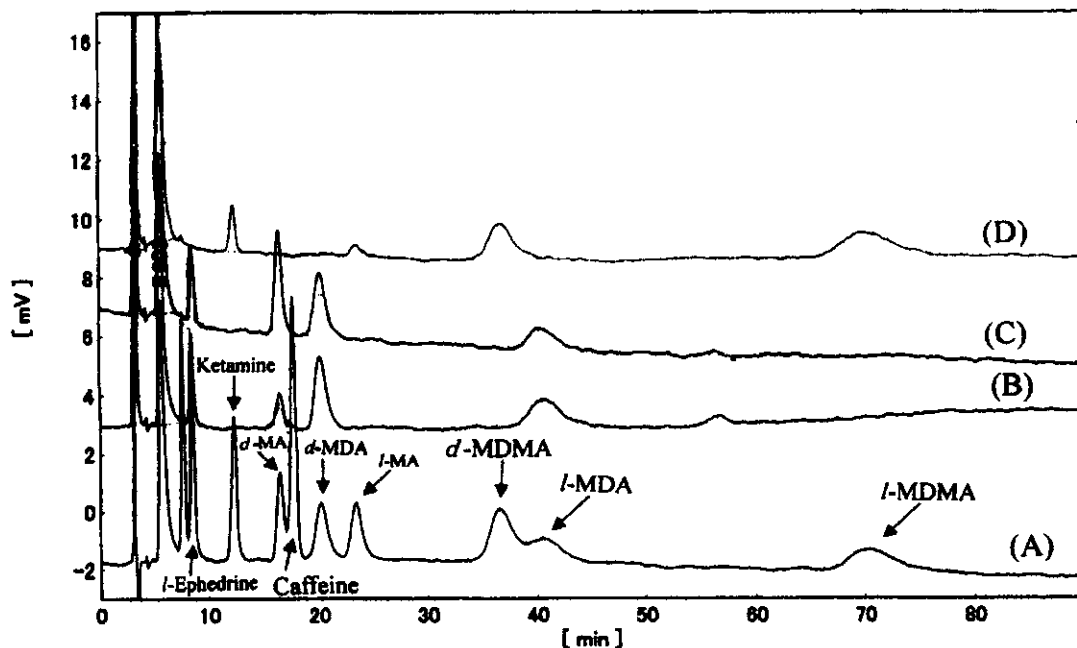


Fig.1 Chromatograms of "Ecstasy" tablets by HPLC  
(A) Mixture of standard substances. (B) "SV"(27)、(C) "T" (38)、  
(D)"Crown" (197)

## 研究協力報告書

### 起源の推定されている覚せい剤結晶の Profiling Analysis

研究協力者 牧野 由紀子 厚生労働省関東信越厚生局麻薬取締部 鑑定官

研究要旨 本研究は、国連薬物犯罪事務局(UNODC)の研究室と協力し、密造された覚せい剤の不純物分析を行い、覚せい剤の密造法及びその合成原料に関する最新の動向を知ることを目的としている。本年度は、密造所や仕出し地情報のある覚せい剤結晶について、光学異性体分析、エフェドリン類の分析、GC/MS による不純物分析、安定同位対比分析の結果を集計しまとめた。その結果、マレーシアやフィリピンで密造されたとの情報のある覚せい剤結晶は天然のエフェドリンを原料にしてクロルエフェドリン経由の Emde method で合成されていることが推定された。北朝鮮籍の貨物船から押収された覚せい剤結晶には、P-2-P を原料として Reductive amination 法で合成されたと推定されるものと天然のエフェドリンを原料にして Emde method で合成されていることが推定されるものがあった。北朝鮮の港を経由してきた中国籍の貨物船から押収された覚せい剤は天然のエフェドリンを原料として Emde method で合成されていることが推定された。

#### A. 研究目的

本研究は、覚せい剤のもつ化学的特性から流通ルートの解明を目指すものである。本分担研究において、1996 年より UNODC と協議しながら密造ルート解析に役立つ分析法について検討を続けてきた。これまでの検討で覚せい剤結晶の密造法及び原料物質の推定はある程度可能になっている。本年度は、仕出し地情報のある覚せい剤結晶について、光学異性体分析、エフェドリン類の分析、GC/MS による不純物分析、安定同位対比分析の結果を集計しまとめた。

#### B. 研究方法

日本で押収され公判が終了した覚せい剤結晶のうち、比較的量が多く仕出し地がわかっているものについて手続きし、研究用覚せい剤として交付を受けたもの

を試料とした。また、国内外の研究協力者との情報交換で得た分析結果も参考にした。更に、平成 15 年及び 16 年に関東信越厚生局麻薬取締部で押収し、鑑定嘱託された覚せい剤結晶のいくつかについて、鑑定時にプロファイリングを行った。試料は下記のとおりである。

1. 平成 11 年石川県沖で押収されたもの 4 試料。(国庫帰属品)
2. マレーシア国籍の人が成田空港へ持ち込んだ結晶 5 試料。(国庫帰属品)
3. 平成 16 年に関東信越厚生局麻薬取締部で押収したもので、マレーシアを仕出しましたは経由したといわれているもの 2 試料
4. 大日本製薬製の市販品 2 試料
5. 北朝鮮興南港を出航して韓国の墨湖港を経て島根県の境港に入港した中国船籍の貨物船から平成 11 年に押収さ

れたもの1試料。(国庫帰属品)

- 平成11年に浜田港に入港した北朝鮮籍の船内で押収されたもの1試料。
- 中国人が平成14年に持ち込んだとされているもの1試料。
- フィリピンのルソン島で密造され平成15年にフィリピンで押収されたもの2試料(化学情報交換によるもの)  
いずれのメタンフェタミン試料も融点及び赤外吸収スペクトルの測定による鑑定分析で、純度の高いものであることが確認されているものである。

GC/MS及びHPLCの分析条件は下記の通りである。

GC/MS: JEOL Mstation(二重収束質量分析計)/GC(HP 6890N)

カラム: Ultra-2 (30m x 0.2mm x 0.33 $\mu$ m)

キャリアガス: He

オープン温度: 50 $^{\circ}$ C(1min) to 300 $^{\circ}$ C(4min) at 10 $^{\circ}$ C/min.

イオン源温度: 300 $^{\circ}$ C

注入口温度: 250 $^{\circ}$ C Splitless mode

イオン化モード: Electron-impact

イオン化エネルギー: 70 eV

イオン化電流: 300  $\mu$ A

HPLC: Shiseido Nanospace series

Column: ODS-type (CAPCELL PAK C18 UG 120 S5, 250 mm x 1.5 mm I.D.)

Mobile phase: 5 mM SDS in 20 mM  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ - $\text{CH}_3\text{CN}$ (65:35)、温度 35 $^{\circ}$ C

Column: Chiral Drug (150 mm x 2.0 mm I.D.)

Mobile phase: 20 mM  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ - $\text{CH}_3\text{CN}$ (65:35)、温度 35 $^{\circ}$ C

Flow rate: 0.1 mL/min.

Monitoring wavelength: 210 nm

安定同位体比の測定は、関税中央分析所の協力を得て行ったものである。

## C. 研究結果

各試料についてのプロファイリングデータの集計結果はTable 1に示すとおりである。化学情報交換によるものは、光学異性体分析はできなかった。密造法の推定は、平成12年度の出担研究で提案した覚せい剤密造ルート識別フローチャート(Fig. 1)を用いておこなった。プロファイリングデータとしてHPLCでの例をFig. 2及び3に示す。

## D. 考察

マレーシアやフィリピンで密造されていたものは天然の麻黄由来のエフェドリンを使用しEmde法で合成されていることが推定できる。平成11年に押収された北朝鮮由来と考えられる2試料のうち境港で押収されたものは天然のエフェドリンを原料にEmde methodで合成された

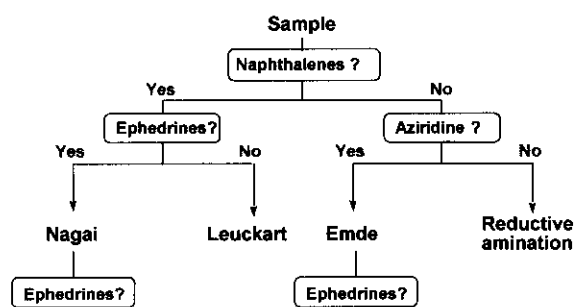


Fig.1 合成ルート識別フローチャート

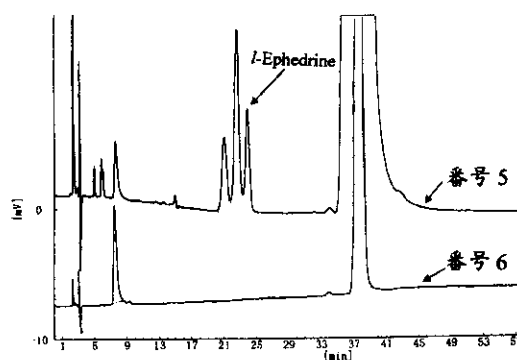


Fig. 2 HPLCによるプロファイリング例

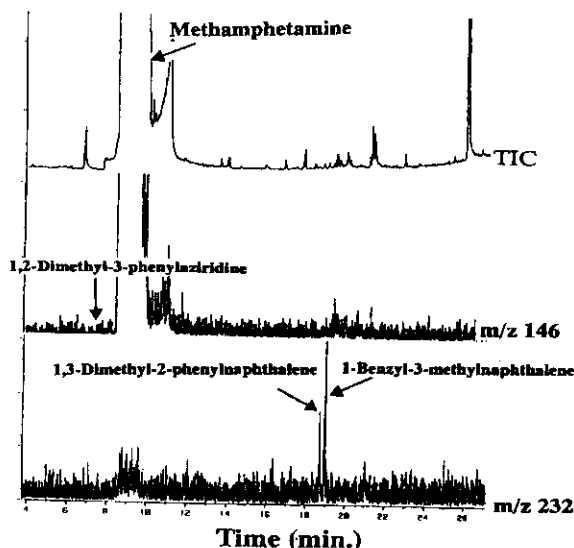


Fig. 3 GC/MS によるプロファイリング例

推定され、浜田港での押収品はエフェドリンがまったく検出されず、キー不純物もないので Reductive amination により合成されたと推定される。大日本製薬から市販されている覚せい剤結晶は、いずれも天然のエフェドリンを原料にして Emde method で合成されていることが推定される。平成 11 年の押収品である石川県沖での押収品は浜田港での押収品とプロファイリングの結果が類似していたことは興味深い結果である。マレーシア国籍の人が密輸した 5 試料はいずれも天然のエフェドリンを用い Emde method で合成されていることが推定できる試料であった。

#### E. 結論

本年度は、仕出し地の情報のある覚せい剤がいくつか入手できたので、それらを中心にプロファイリング分析を行い原料物質や密造法について検討してみた。フィリピンで押収された覚せい剤のプロファイリング研究している化学者からの情報によると、4、5年前は、エフェドリ

ンを原料としない方法つまり P-2-P を原料として Leuckart method での密造が多かったが、近年は天然の ephedrine を用いての密造が多いとのことであり、この傾向は昨年の本研究報告書に記載したが日本での押収品でも同様の傾向が見られており、興味深い情報であった。近年カナダや北米から覚せい剤結晶が密輸入される事犯が国際空港で増加している。今後その事件の裁判の進展状況について情報を収集し、公判終了後に、研究者用覚せい剤として入手し検討する必要がある。

日本で不正流通している覚せい剤はすべて密輸入品であり、その仕出し地を推定するには、関係国での密造法についての動向を的確に把握することが必要であると同時に新たな分析法を開発し、プロファイリングの精度を向上させていかなければならない。次年度には、覚せい剤結晶のプロファイリング研究を推進している韓国やフィリピン等の近隣諸国の関係者と協力しデータの収集を進める予定である。

Table 1. Profiling of methamphetamine crystals

試料番号	<i>d</i> -pseudoephedrine	Eephedrine	Aziridine	Naphthalenes	光学異性体	安定同位対比
1-1	無	無	無	無	d-体	N : 2.88, C:-32.42
1-2	無	無	無	無	d-体	
1-3	無	無	無	無	d-体	
1-4	無	無	無	無	d-体	
2-1	有	有	有	無	d-体	N : 4.24, C:-27.5
2-2	有	有	有	無	d-体	
2-3	有	有	有	無	d-体	
2-4	有	有	有	無	d-体	
2-5	有	有	有	無	d-体	
3-1	有	有	有	無	d-体	N : 3.0, C:-27.9
3-2	trace	有	有	無	d-体	
4-1	有	有	有	無	d-体	N : 3.44, C:-25.48
4-2	有	有	有	無	d-体	
5	有	有	有	無	d-体	N : 1.5, C:-27.0
6	無	無	無	無	d-体	N : 0.5, C:-30.4
7	無	有	無	有	d-体	
8-1	有	有	有	無	—	
8-2	有	有	有	無	—	

試料番号はB. 研究方法のところに記載した番号である。



## 研究協力報告書

### Kohonen 自己組織化 MAP 法及びカーネル主成分分析による覚せい剤 Profiling の試みと考察

研究協力者 高木達也 大阪大学 大学院 薬学研究科 教授

研究要旨 本研究では、乱用薬物の Profiling に対し、種々の視覚的結果を得ることができる多変量分類法、特に非線形要因解析法を中心に応用を試みてきた。一昨年度は、ニューラル独立成分解析法を応用し、有用な結果を得た。昨年度は、PCA(主成分分析法)、クラスター分析法(Ward 法)、Kohonen 自己組織化ニューラルネットワーク(SOM)法を応用し、適切な結果を得ることができた。今年度は、SOM 法に指紋照合的取り扱いを含めた適用方法を用い、従来の格子点上の散布図からは得られない情報を得ることができた。さらに、近年応用例の増してきたカーネル法、とりわけカーネル主成分分析法をとりあげ、Profiling に応用してみた。その結果、線形主成分分析では不純物分析からの結果と一致する分類結果を得ることができた。

#### A. 研究目的

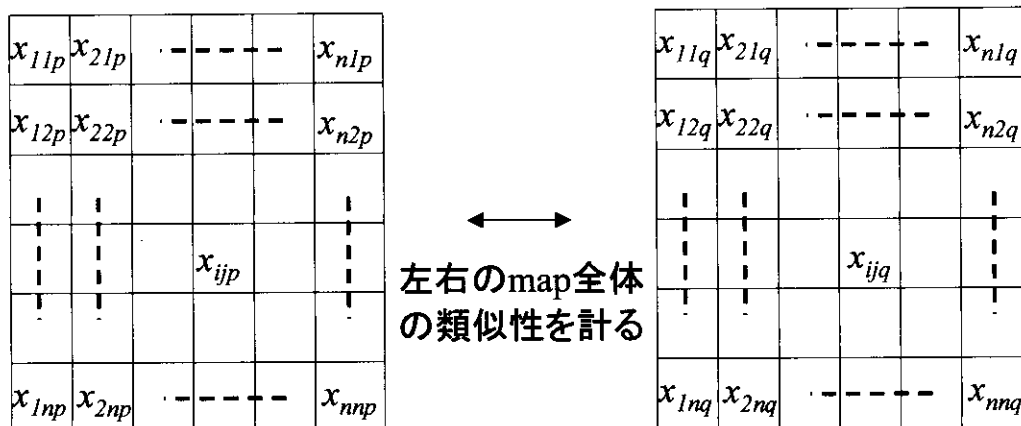
乱用薬物の不純物分析による Profiling には、主成分分析法などの代表的な線形要因抽出法では不十分であり、非線形手法を用いる必要があることは、昨年度までの本研究で何度か強調してきたところである。このため、昨年度は、主として、比較的近年用いられるようになった非線形分類法である、Kohonen 自己組織化ニューラルネットワーク法(SOM)<sup>1)</sup>による Profiling を行った。その結果、Ward 法によるクラスター分析法と相応する結果を得ることができたことより、この方法による Profiling が妥当な結果をもたらすものであることを示すことができた。

しかしながら、クラスター分析法では新規に押収された試料がどの位置に来るかを予測することが困難であり、新たに押収された覚せい剤の Profiling に過去に得られたデンドログラムを適用することは、原則的にはできない。この点、SOM

は新規押収品に関しても格子点上の位置を算出することができるが、これもあくまでも「分類法」であるため、「何がこの試料をこの点にプロットさせたのか」に対する情報を得ることは困難である。従って、SOM に匹敵する分類能力を持つ要因解析法による Profiling が求められている。また、SOM 法では、通常、勝者ニューロンの格子点上の位置以外の情報は利用されないため、私達は得られるはずの情報の一部を有効に用いていない可能性がある。

本年度の研究においては、SOM 法で最終的に学習された重みを使って得られる格子点上の値すべての情報を利用して、指紋照合的に SOM を利用する手法を考案し、覚せい剤の押収品の Profiling に適用してみた。

また、要因解析法による Profiling に関しては、既に本研究において、上記目的を達成するため、HEP ネットによる独立



$$V_{pq} = \frac{1}{n^2} \sqrt{\sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^n (x_{ijp} - x_{ijq})^2}$$

図1 指紋照合的 SOM 法の概念図

成分解析法や、5層砂時計型ニューラルネットワーク法を用いて、非線形要因解析法の応用を試みてきた。今年度は、高次元空間への写像により、非線形主成分分析を実現するカーネル主成分分析法<sup>2)</sup>を取り上げ、押収品の GC/MS データによる Profiling に応用してみたところ、妥当な結果を得ることができた。

## B. 研究方法

### 1. 使用したハードウェア

計算には、CPU に AMD Athlon 2400+ を用いた自作の WindowsXP Professional マシンを主として使い、随時、大阪大学遺伝情報実験センターの UNIX WS Fujitsu S-7/7000 Um600、Linux WS を用いた。

### 2. 使用したソフトウェア

プログラムは PCA に関しては、SPSS for Windows version 11.5J 及び、MS Excel XP for Windows を用いた。SOM は、開発者の Kohonen 自身によるプログラム、SOM\_PAK<sup>3)</sup> および LVQ\_PAK<sup>4)</sup> を用い、

MS Excel および Delta Graph でグラフ化した。また、kernel PCA に関しては、Gist version 2.1.1<sup>5)</sup> を用い、MS Excel 等でグラフ化した。

### 3. データ

データは、世界各地で押収されたメタアンフェタミンを牧野らが GC/MS により測定した各種成分(不純物)ピーク面積を用いた。この過程で、合成後の混合物と考えられるものはデータから除去した。ピーク面積は不純物の量やサンプルの量に敏感なため、以下のような処理を施した。

- a. 成分列ごとに標準化を行う
- b. サンプル列ごとに標準化を行う
- c. その上で、0-10 の範囲にカテゴリー化する。

と言う処理を行った。

### 4. アルゴリズム

#### 4-1. SOM の指紋照合的利用法

従来、SOM は勝者ニューロンの位置をプロットすることにより分類法として用いられてきた。しかし実際には、SOM の

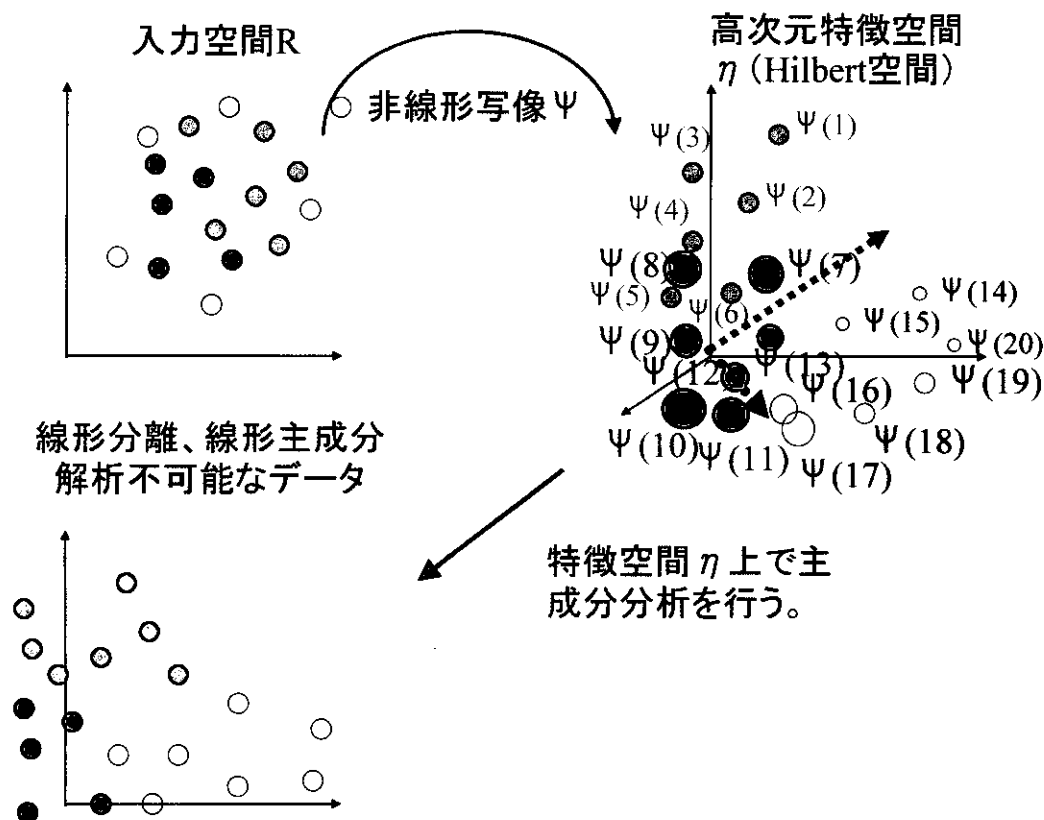


図2 カーネル主成分分析法のアルゴリズム

出力格子点上すべてに何らかの値が存在する。従来の方法ではそれらの値は、「敗者ニューロンの値」として捨て去られてきた。今回、我々は、それらの値も用いて、両者の類似性、 $V_{pq}$ を測定し、類似性行列を多次元尺度構成法により2次元上の座標を求め、分類に寄与することを試みた(図1)。

#### 4-2. カーネル主成分分析

PCA、オリジナルの SOM については省略するが、kernel PCA についてはまだ比較的なじみが薄いため、図2に従って、やや詳細に解説する。

線形主成分分析では、与えられたデータ空間、

$$\mathbf{X} = \begin{bmatrix} x_{11} & x_{21} & \cdots & x_{n1} \\ x_{12} & x_{22} & \cdots & x_{n2} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ x_{1n} & x_{2n} & \cdots & x_{nn} \end{bmatrix} \quad (1)$$

中で分散最大の潜在変数  $z_{ij}$  を、順次求めていく。

$$\mathbf{Z} = \mathbf{A}\mathbf{X} \quad (2)$$

ここで  $Z = \{z_{ij}\}$  が主成分得点、 $A$  が主成分負荷量と呼ばれる。 $A$  は、分散共分散行列の固有値固有ベクトル問題を解くことによって得られる。

$$\lambda a = (\mathbf{X}\mathbf{X}')a \quad (3)$$

これに対してカーネル主成分分析では、データ座標を高次元特徴空間(場合によっては無限大次元空間; Hilbert 空間)

$\eta = R^n$  に写像し、 $\eta$  中で主成分分析を行い、再度 2次元空間へ逆写像を行う。実際には超高次元空間中の主成分分析は困難なため、カーネル関数を用いた非線形写像により写像された空間中で主成分分析を行う。このため、カーネル主成分分析と呼ばれる。

特徴空間  $\eta$  中では、分散共分散行列、 $V$  は、

$$V = \frac{1}{N} \sum_{p=1}^N \Psi(\mathbf{x}_p) \Psi(\mathbf{x}_p)^T \quad (4)$$

で表される。 $V$  の固有値を  $\lambda$ 、固有ベクトルを  $\xi$  とすると、

$$N\lambda\xi = K\xi \quad (5)$$

ここで、 $K$  は、

$$K = \begin{bmatrix} K(x_1, x_1) & K(x_2, x_1) & \cdots & K(x_N, x_1) \\ K(x_1, x_2) & K(x_2, x_2) & \cdots & K(x_N, x_2) \\ K(x_1, x_3) & K(x_2, x_3) & \cdots & K(x_N, x_3) \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ K(x_1, x_N) & K(x_2, x_N) & \cdots & K(x_N, x_N) \end{bmatrix} \quad (6)$$

で表される、カーネル行列で、カーネル関数、 $K(x_p, x_q)$  から成る。要するに、カーネル行列の固有値固有ベクトル問題に帰着することになる。

なお、以下では主としてカーネル関数としては、Gaussian カーネルを用いた。

## C. 研究結果と考察

### 1. SOM の指紋照合的使用法

通常、SOM では勝者ニューロンの位置が格子点上に表され、それを分類に用いる。今回は、図 3 のように、さしたる情報は得られなかった。SOM では、類似したデータは類似した位置に勝者ニューロ

ンが来るように学習が行われるが、それでも、他の格子点上にも値が来ないわけではなく、これらの情報を全く利用しないのは、合理的なパターン認識法とは言い難いと考え、今回、図 1 に示したように、指紋照合的使用方法を行った。以前にも筆者らにより、同様な先駆的試みが行われているが、今回は、より客観的に類似性を判断できるよう、図 1 のように、類似性指数  $V_{pq}$  を計算し、類似性行列を組み立て、これを利用して各点の座標を、Distance-Geometry 的に求めた。実際、各格子点上の値の等高線マップを見ると、勝者ニューロンの位置はかなり異なっても、全体として、類似した等高線マップを示すものが確認された(例えば図 4)。今回は、類似性行列に多次元尺度構成法を適用して、図 5 のような結果を得た。

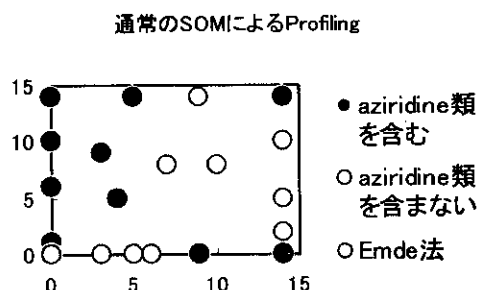
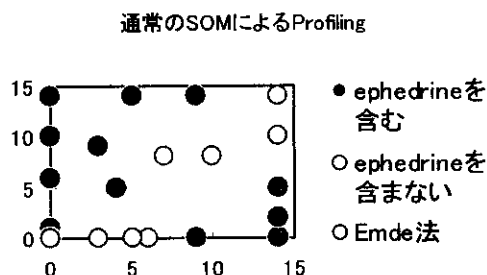


図 3 通常の SOM による分類

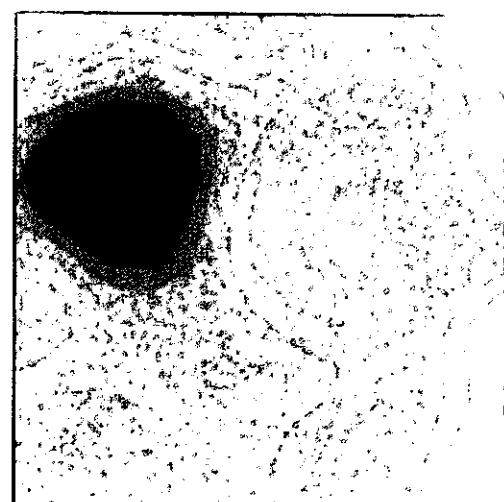
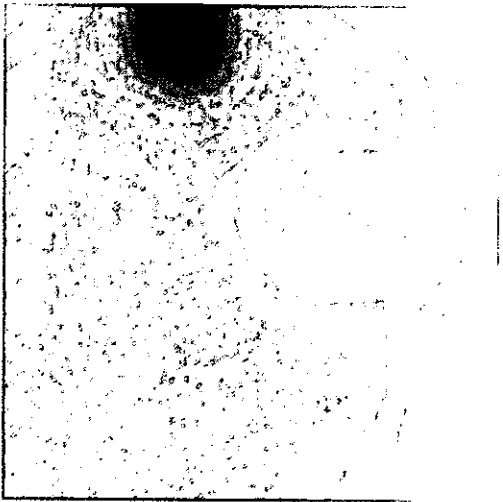
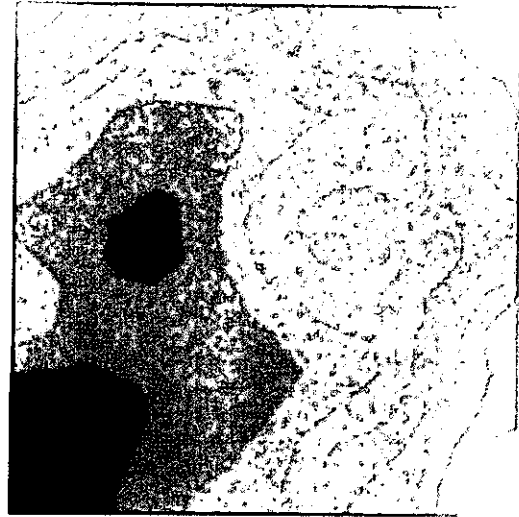
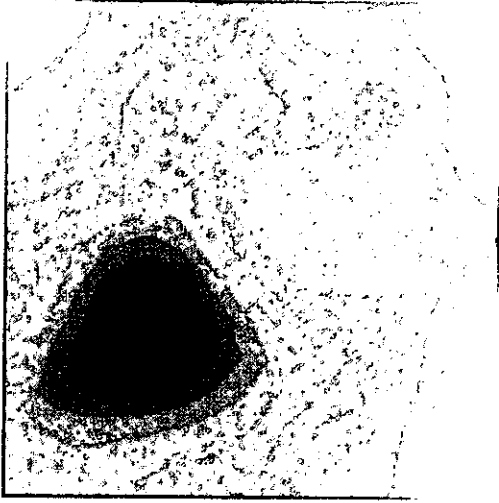
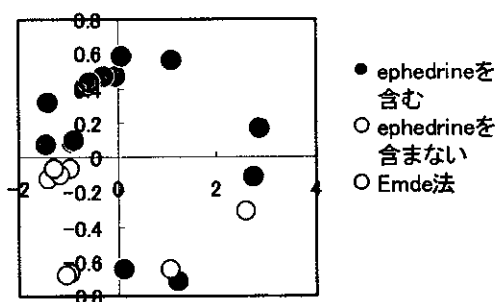


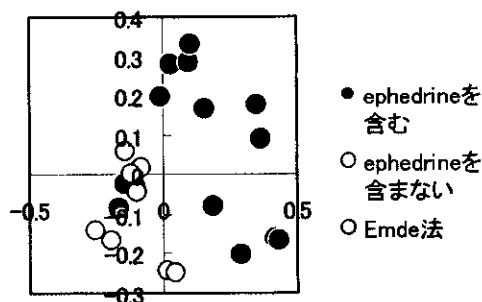
図 4 (a) Aziridine 類を含む試料の SOM 指紋 MAP。勝者ニューロン(最も黒いところ)の位置はかなり異なるが、全体の画像は類似している。

図 4 (b) Ephedrine 類を含む資料の SOM 指紋 MAP。(a)と同様、勝者ニューロン(最も黒いところ)の位置はかなり異なるが、全体の画像は類似している。

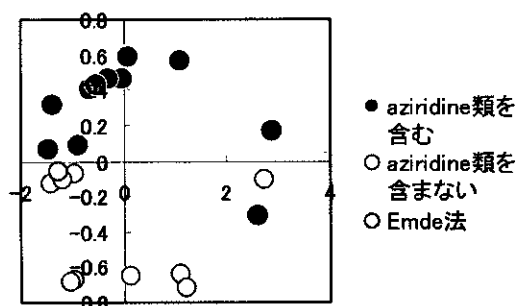
指紋照合的SOM法によるProfiling



Kernel PCA による Profiling



指紋照合的SOM法によるProfiling



Kernel PCA によるProfiling

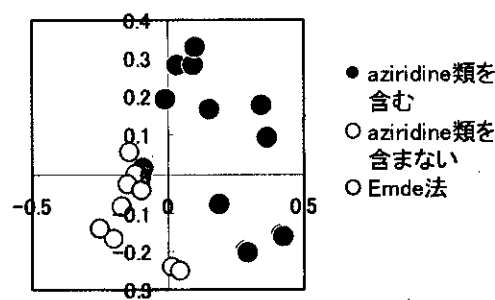


図5 指紋照合的自己組織化ニューラルネットワーク法による Profiling の結果

図6 カーネル主成分分析による Profiling の結果

図5は、明らかに、合成研究からの情報<sup>5)</sup>とほぼ相違ない結果を与える。これらの結果は、SOMの利用に当たって、必ずしも勝者ニューロンの位置のみが重要な情報ではないことを示唆している。

## 2. カーネル主成分分析による Profiling

カーネル主成分分析による結果は、指紋照合的 SOM による結果よりも、より明確なように思われる。カーネル主成分分析の結果概要を、図6に示した。aziridine 類も出発原料と思われる ephedrine も含まないデータは、Reductive amination 法によって合成されたことが類推され、図6の左下にほぼ集まっている。カーネル主成分分析は、極めて最近提案された手法であり、その適用に当たってはまだまだ考察すべき点が多いが、

今後疑いなく、この種の非線形主成分分析法の核となる手法であり、今後更に種々の試みを行いつつ、適用性を検討する予定である。

## D. 結論

1. 昨年度のサンプルでは通常 SOM 法が良好な結果を与えたが、今年度のサンプルでは必ずしも理解の容易な分類結果を得られなかった。
2. 指紋照合的 SOM 法を考案し、適用したところ、より理解しやすい分類結果を得ることができた。
3. カーネル主成分分析法を適用することにより、指紋照合的 SOM と同等或いはそれ以上に理解しやすい分類結果を得ることができた。この手法は非線形要因

解析法としても適用可能で、今後、さらなる展開が期待される。

#### E. 研究発表

1. 高木達也・牧野由紀子・錦織理華・山下典之・岡本晃典・横田雅彦・安永照雄、「カーネル主成分分析法による押収覚せい剤の Profiling」、第27回情報化学討論会、2004年11月(つくば)、予定。
2. Tatsuya TAKAGI, Yukiko MAKINO, Yuko TANAKA, Kousuke OKAMOTO, Noriyuki YAMASHITA, Tomoko MATSUMOTO, Masahiko YOKOTA, Ken KUROKAWA, and Teruo YASUNAGA, Application of Revised Version of Neural Independent Component Analysis to Classification Problems of Confiscated Methamphetamine, in preparation.

#### F. 参考文献

1. Kohonen, T., Self-organized formation of topologically correct feature maps. *Biological Cybernetics*, **43**, 59-69, 1982.
2. Schölkopf B, Smola AJ, Müller KR. Nonlinear Component Analysis as a Kernel Eigenvalue Problem. *Neural Computation* **10**, 1299-1319 1998
3. Kohonen, T., [http://www.cis.hut.fi/research/som\\_pak/](http://www.cis.hut.fi/research/som_pak/)
4. Kohonen, T., [http://www.cis.hut.fi/research /lvq\\_pak/](http://www.cis.hut.fi/research/lvq_pak/)
5. 長野哲雄、平成13年度厚生科学研究経費補助金研究報告書、pp.61-64 (2002)

## 分担研究報告書

### 3. 向精神作用を有する植物の分類と含有成分に関する研究

分担研究者 那須 正夫 大阪大学大学院薬学研究科 教授

研究要旨 合法・非合法を問わず種々の化学物質や植物が乱用されている。我が国で購入可能な未規制乱用物質について主にインターネット上で調査した。その結果、化学物質として *N,N*-dimethyltryptamine(DMT)及び phenethylamine 類縁化合物が、植物としては DMT 含有のアヤワスカ(*ayahuasca*)やサルビア・ディビノラム(*Salvia divinorum*) が主体であることがわかった。その他非常に多種の植物製品が販売され、それらの一部についてガスクロマトグラフィー質量分析計(GC/MS)により有効成分を確認した。アヤワスカ原料植物であるチャクルーナ(*Psychotria viridis*)、チャクロバンガ(*Diplopterys cabrerana*)及びハルマラ(*Peganum harmala*)を液体クロマトグラフィー(HPLC)、GC/MS により分析した結果、DMT がチャクルーナ及びチャクロバンガの各乾燥葉中にそれぞれ 0.025%及び 0.026%含有されており、ハルマラ種子中には MAO 阻害剤である harmaline 及び harmine がそれぞれ 2.10%及び 1.56%含まれていた。一方、規制物質である psilocybin および psilocin 含有幻覚性キノコについては、それらと非幻覚性近縁キノコの遺伝子配列を増幅し、塩基配列を決定して比較した。また我が国野生のキノコ 10 種 17 検体について麻薬成分含量の測定を実施した結果、*Psilocybe*、*Panaeolus* 属以外から麻薬成分は検出されなかった。幻覚性キノコの麻薬成分含有量と生育環境・遺伝子との関係、またその近縁種との分類上の問題点について考察した。

#### 研究協力者

横山和正 滋賀大学教育学部 教授

加藤研治 塩野義製薬株式会社医薬研究  
開発本部 主管研究員

黒川 顕 大阪大学遺伝情報実験センタ  
ー 助手

小川倫洋 日本学術振興会 リサーチア  
ソシエイト

木本 茂 近畿厚生局麻薬取締部 鑑定官

#### A. 研究目的

我が国では、麻薬・覚せい剤等の化学物質が法律により規制され、厳しく取締まられている。しかしながら、毎年多

量の薬物押収や、数多くの違反事件摘発があり、それらの乱用は収まらない。一方、天然物については、大麻草、けし、コカ、幻覚性キノコを除き、精神作用が強いものでも法規制されていない。そのため主にインターネットを利用して自由に販売され、若者を中心とした薬物乱用層の拡大に拍車をかけている。また、海外で密造される法規制外の化学物質の我が国への流入も活発化し、薬物汚染の多様化が深刻な社会問題を引き起こしている。本研究は、日本における薬物乱用実態を明らかにし、特に幻覚性キノコ等乱用植物の分類とその成分特徴との関連性



を追究するものである。

## B. 研究方法

日本で未規制の乱用物質流通調査をインターネット上で行い、そのうちの植物の一部を入手してガスクロマトグラフィー質量分析(GC/MS)により、成分分析を行った。特に乱用が顕著であるアヤワスカについては本年度、近畿厚生局麻薬取締部が押収したものを試料とし、成分定量をHPLCで、同定はGC/MSで行った。幻覚性キノコとその近縁キノコの遺伝子配列決定に用いた試料は、麻薬成分含有種 2 種および非含有種 2 種で、ゲノムDNAの調製は、DNeasy Plant Maxi Kit を用いた。PCR反応はWhatman Biometra T gradient を用いて行い、タカラバイオ株式会社がシーケンス解析した。また、キノコの形質からの分類を基にハラタケ類の系統樹を作成し、これと遺伝子による系統分類とを比較検討した。自生キノコの成分分析は国内で採取した10種17検体のキノコを試料とし昨年度と同条件でLC/MS/MSによる麻薬成分定量を行った。

## C. 結果

### 1. 乱用物質の種類と成分

化学合成品では麻薬等の分子構造の一部を少し変化させ、法律に触れないようにしたもの(デザイナードラッグ)が主流でamphetamine型興奮剤(ATS)類縁体と*N,N*-dimethyltryptamine(DMT)類縁体に大別される。ATS類縁体には2C-I、2C-T-2、2C-T-7、MBDB、TMA-2等があり、DMT類縁体としては5-MeO-DIPTが特に多く出回っている。植物で最も乱用されているのはアヤワスカ(*ayahuasca*)であり、これはDMTとMAO阻害剤との複合作用

を利用したものである。また、米国ではサルビアの乱用が大きな社会問題として取り上げられており、我が国でも時折見られる。これらを含めて、乱用目的で流通している植物は、ジュレマ、シリアンルー、ミモザ・プディカ、ウバタマ、エンゼルトランペット、ハワイアンウッドローズ、モーニンググローリー、イボガ、サルビア、ニガヨモギ、カンナ、カバカバ等非常に多種に亘ることがわかった。成分分析によりDMTがチャクルーナ、チャグロバンガから、またmescaline及びTMAがウバタマから、シリアンルーからharmine, harmaline、ダチュラからscopolamine、イボガからibogaine、カバカバからkawain、ニガヨモギからthujoneが検出された。マジックマッシュルーム製剤を標榜するものからは麻薬が検出されず、非常に高濃度のcaffeineが含有されていた。

### 2. アヤワスカの成分分析

5種類の植物製品についてHPLCによりDMT、harmaline及びharmineの一斉定量を行った。その結果3種類の植物にはほぼ同程度のDMT(0.020-0.026%)が含まれ、1種類の種子製品にharmalineが1.56%、harmineが2.1%含有されていた。これらの成分はGC/MSにより同定した。

### 3. 幻覚性キノコの遺伝子配列

シーケンス解析により、従来はほとんどが未知であった*Psilocybe*属のキノコのリボソーム遺伝子配列の大部分(約5,400 bp)を決定した。ただし、*Psilocybe fasciata*の配列は、部分的な4,200 bp程度である。これらキノコの分子系統樹を作成した。

### 4. わが国自生キノコの成分分析

10種類17検体の成分分析の結果、

*Psilocybe subaeruginascens*(オオシビレタケ)、*psilocybe subcubensis*、*psilocybe argentipes*(ヒカゲシビレタケ)、*psilocybe subcaerulipes*(アイゾメシバフタケ)及び *panaeolus subbalteatus*(センボンサイギョウガサ)から psilocybin、psilocin を検出した。*p. argentipes* の psilocybin 含量は傘で 1.657%、柄で 0.858%と高濃度であった。

### 5. 幻覚性キノコの分類学的位置と麻薬成分含有量

Bon により提案された担子菌類ハラタケ目の系統樹に幻覚性キノコを入れると、いずれも進化の頂点に位置することが判った。(テングタケ属は白い胞子、フウセンタケ科はさび褐色から黄褐色胞子、モエギタケ科は紫黒色胞子、ヒトヨタケ科は黒色胞子の各頂点)また、*Psilocybin* 類産生種は遺伝的に決まると思われ、シビレタケ属内で幻覚性があるのは *Cerrulescentes* 節、無いのは *Merdariae* 節と形質によりグループ分けされる。本研究における定量試験でもそのことが支持された。また、子実体形成時の環境により含有量が変化し、今回分析したヒカゲシビレタケは psilocybin、psilocin の合計値が 1.8%と非常に高かった。最高値はアメリカ西部で10月から1月初めに発生するシビレタケ *Psilocybe azurescens* で psilocybin を 1.78%、psilocin を 0.38%含有し、高温期発生キノコは低含量、低温期発生キノコは高濃度含有すると考えられる。培地組成による含有量差も報告され、Gartz(1989)は *P. cubensis* 培地にトリプタミンを加えると psilocybin レベルが33倍に上ることを報告している。

## D. 考察

幻覚剤麻薬系のデザイナードラッグが

多種類製造され、植物については DMT 摂取を目的としたアヤワスカが流行している。これは、MAO 阻害剤含有植物と DMT 含有植物とを混合させ、同時に使用するものである。前者にシリアン・ルー、カピー、後者にチャグロバンガ、チャクルーナ、ジュレマを用いたアヤワスカセットが多く販売されている。これら以外に salvinorin A, B, C を含むサルビア・ディビノラムや、caffeine、ephedrine を高濃度含有する興奮系植物製品が数多く見られた。アヤワスカの材料であるチャグロバンガ、チャクルーナについて DMT 含有率を求めたところ、0.025~0.026%であった。アヤワスカのもう一方の原料として必要な MAO 阻害剤については、カプセル入りの種子から harmaline、harmine を検出した。

幻覚性キノコのシークエンス解析により、従来明らかでなかった遺伝子領域も決定することができ、18S、25S のほぼ全領域、および intergenic transcribed spacer、5S の全領域の配列を決定できた。*P. fasciata* については一部領域につき配列を決定できなかったが、これはサンプルが古く DNA の剪断が起こっているためと考えられる。

我が国野生キノコ成分試験では、センボンサイギョウガサから麻薬成分が検出された。*p. antillarum* からは麻薬成分が検出できず、長期保存試料であったため成分が分解した可能性も考えられる。また、幻覚性が指摘されるベニテングタケ、イボテングタケからも麻薬成分は検出できなかった。神経伝達に関係する serotonin はベニテングタケなどからも検出されており、psilocybin 等ときわめて類縁関係が高い化合物であるのでオオシロカラカサ

タケやテングタケ類で環境変化等によるセロトニン生合成系が異常発現した場合には psilocybin および psilocin 生合成が生じる可能性も考えられる。テングタケ類の幻覚を引き起こす成分として buffotenin や ibotenic acid、muscimol 等が知られており、幻覚キノコの分類に関してこれらの成分検討も必要である。菌類の hallucinogen としては、psilocybin 類とイボテン酸の他に、子のう菌類に属する *Cordyceps purpurea*(バッカクキン) などから誘導される LSD がありこの系統も今後検討したい。

## E. 結論

デザイナードラッグは相応する麻薬類と同等の強い効果があると考えられるが、原末として数十ミリグラム単位に小分けされ、高値で販売されている。また精神作用の強い植物がその効果を宣伝されて多種流通し、これらによる二次犯罪の恐れもあり、何らかの乱用防止対策が必要と思われる。

幻覚性キノコ分類では、新たに判明した DNA 配列は、rDNA の 18S 全領域および 25S の後半領域であるが、現時点ではまだ情報の蓄積が十分に行われておらず、今のところ多種で配列が解析されている intergenic transcribed spacer 領域や 25S rDNA 領域の前半部を基にした系統分類が良いと考えられる。また幻覚成分に関しては有効成分として psilocybin 及び psilocin 以外に ibotenic acid、buffotenin、dimethyltryptamine 等が知られており、今後これら成分含有パターンとキノコ分類との関係に興味を持たれる。きのこの系統分類に、遺伝子による新しい方法が導入されているが、キノコの大部分を占め

るハラタケ目でも、現在ひだを持つキノコの約 1/10 程度が遺伝子分析されているに過ぎない。また、*Copelandia*, *Psilocybe* などの幻覚性キノコではこれまで分類学的な研究がほとんど行われず、今後の遺伝子学的研究の進展が期待される。

## 分担研究報告書

### 規制対象外の乱用物質に関する調査

分担研究者 那須 正夫 大阪大学大学院薬学研究科 教授

研究要旨 規制の厳しい麻薬・覚せい剤類の代用として種々の化学物質や植物が乱用されている。これらの中には作用の強いものもあり、健康被害や社会的弊害が懸念される。一般人にもインターネット販売で簡単に入手できることが流行の一因であることから、我が国で購入可能な未規制乱用物質について主にインターネット上で調査した。その結果、化学物質としては *N,N*-dimethyltryptamine(DMT) 及び phenethylamine 類似化合物が、また、植物としては DMT 関連のアヤワスカやサルビア・ディビノラムが主流であることがわかった。その他非常に数多くの植物製品が販売され、それらの一部についてガスクロマトグラフィー質量分析計により有効成分を確認した。使用方法によっては、危険なものも含まれると考えられる。

#### A. 研究目的

我が国では、麻薬・覚せい剤等の化学物質が法律により規制され、厳しく取り締まられている。しかしながら、毎年多量の薬物押収や、数多くの違反事件摘発があり、それらの乱用志向には根強いものがある。一方、天然物については、大麻草、けし、コカ、幻覚性キノコを除き、精神作用が強いものでも法規制されていない。そのためインターネットを利用して自由に販売され、若者を中心とした薬物乱用層の拡大に拍車をかけている。

また、海外で密造される法規制外の化学物質(いわゆるデザイナードラッグ)の我が国への流入も活発化し、薬物汚染の多様化が深刻な社会問題を引き起こしている。本研究は、日本における非規制物質の流通及び乱用状況を明らかにすることを目的とする。

#### B. 研究方法

##### 1. 規制対象外乱用化学物質の種類に関

##### する調査

インターネットで「合法ドラッグ」をキーワードに検索し、得られたホームページのうち、精神作用のある物質を宣伝販売している業者のものをいくつか選択して、それら販売品の内容をまとめた。

##### 2. 規制対象外乱用植物の成分分析

近畿厚生局麻薬取締部が大麻等薬物事件摘発の際、発見した法規制外植物を検体とし、ガスクロマトグラフィー質量分析(GC/MS)により、それらの成分について調べた。試料の前処理はメタノール中で2時間超音波処理後、一昼夜放置し、上清液を試料液とした。

GC/MS 分析条件は、HP-1 キャピラリーカラム(内径 0.25mm, 膜厚 0.25  $\mu$ m, 長さ 30m)を取り付けた日本電子製ガスクロマトグラフ質量分析計 GC-Mate II を使用し、オープン温度は初期温度 60°C(5 分間保持)、昇温速度 5°C/min.、最終温度 280°C(15 分間保持)、注入口温度 250°C(スプリットレス注入法)、EI イオン化法