

200838013A

厚生労働科学研究費補助金

医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス
総合研究事業

違法ドラッグの依存性等に基づいた
乱用防止対策に関する研究

平成20年度 総括・分担研究報告書
(H18-医薬-一般-017)

研究代表者 花尻(木倉) 瑠理

平成21年3月

平成20年度 総括・分担研究報告書

違法ドラッグの依存性等に基づいた
乱用防止対策に関する研究

目 次

I. 総括研究報告	
違法ドラッグの依存性等に基づいた乱用防止対策に関する研究	
花尻 (木倉) 瑠理	1
II. 分担研究報告	
1. 違法ドラッグ製品の分析法の開発、成分分析、分析標準品の調製	
花尻 (木倉) 瑠理	
<i>N</i> -OH-MDMA 及び <i>N</i> -OH-MDA のアルカリ溶液中における分解メカニズムについて	
内山 奈穂子	13
<i>N</i> -OH-MDMA 投与ラットにおける生体試料中薬物の UPLC-MS/MS を用いた分析法について	
花尻 (木倉) 瑠理	21
<i>N</i> -OH MDMA のヒト肝における代謝に関する研究	
宮島 敦子	37
新規指定薬物の分析法及び違法ドラッグ買い上げ製品の成分調査	
花尻 (木倉) 瑠理	51
“1-(4-methylphenyl)-2-methylaminopropan-1-one(4-methyl-methcathinone)”の GC-MS, LC-MS 及び NMR による同定	
内山 奈穂子	65
植物系違法ドラッグ製品から検出された新規カンナビノイドアナログ (1) : (1 <i>R,S</i> ,3 <i>S</i>)-3-[4-(1,1-dimethyloctyl)-2-hydroxyphenyl]cyclohexan-1-ol の同定	
内山 奈穂子	71
植物系違法ドラッグ製品から検出された新規カンナビノイドアナログ (2) : 1-pentyl-3-(1-naphthoyl)indole の同定	
内山 奈穂子	81
1-(4-Fluorophenyl)- <i>N</i> -methylpropan-2-amine (<i>N</i> -Me-4-FMP) 塩酸塩標準品の合成	
内山 奈穂子	89
違法ドラッグ成分の aequorin/GPCRs cell-based Ca ²⁺ functional assay による GPCRs 活性評価	
花尻 (木倉) 瑠理	95
2. 違法ドラッグ製品の簡易スクリーニング法の開発	
豊岡 利正	
HPLC-クーロアレイ検出器(CAD)による指定薬物の高感度一斉分析法の開発	
関 俊哲	99

3. 違法ドラッグ成分の活性評価法の開発		
栗原 正明		
違法ドラッグ成分の活性評価法の開発		
栗原 正明	115
4. 違法ドラッグ成分の脳波による作用評価		
裏出 良博		
フッ素置換アンフェタミン誘導体のラットの脳波に及ぼす作用および血漿中薬物濃度に関する研究		
内山 奈穂子	119
5. 植物系違法ドラッグ製品の基原種の特定		
合田 幸広		
ロータス系製品の遺伝学的手法を用いた流通実態調査		
緒方 潤	131
シニクイチ製品の遺伝学的手法による流通実態調査		
緒方 潤	137
ファラリス属植物の遺伝学的手法による流通実態調査		
緒方 潤	143
6. 植物系違法ドラッグの主活性成分の検索及び分析標準品の調製		
高山 廣光		
植物系違法ドラッグとして流通している <i>Voacanga africana</i> の根皮中に含有されるアルカロイドの調査		
高山 廣光	149
7. 植物系違法ドラッグの基原植物の収集及び栽培		
飯田 修		
基原植物の収集と特性分類に関する研究		
杉村 康司	159
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	165

違法ドラッグの依存性等に基づいた乱用防止対策に関する研究

研究代表者：花尻（木倉）瑠理 国立医薬品食品衛生研究所生薬部 室長

研究要旨：平成 19 年度より施行された「指定薬物」制度に対応し、具体的な化合物(群)や植物(群)を指定する際考えられる問題点を科学的に解決し、どのような化合物(植物)を指定し、どのように規制するかを検討するための実効的な資料を提供するために、合成系及び植物系違法ドラッグについて、以下の研究を行った。

合成系違法ドラッグについては、未知違法ドラッグ 3 成分の構造決定を行うと共に、指定薬物及び新規流通化合物の分析データの整備、違法ドラッグ成分の HPLC-CAD を用いた高感度一斉分析法の開発を行った。今回同定した 2 化合物は新しいタイプの違法ドラッグ成分であり、強いカンナビノイド受容体活性を示すことから乱用が懸念された。分析用標準品としては *N*-Me-4-FMP の大量製造を行い、全国の分析機関に交付する体制を整えた。一方、薬理活性未知の 5-MeO-EIPT について、ファーマコフォアフィンガープリント法及び 2D-QSAR モデルによる活性予測を行い、5-MeO-DIPT 等の麻薬成分と類似の活性を示すことを明らかにした。また、動物実験用脳波解析システムを使用し、FMP 及び *N*-Me-FMP は、ラットの覚醒量および自発運動量を投与量依存的に有意に増加させ、覚せい剤類似の脳波変化をもたらすことを明らかにした。さらに、G タンパク質共役型受容体と Ca^{2+} 感受性発光蛋白 Aequorin を安定に共発現する組換え細胞を用いたアッセイを行い、5-MeO-EIPT, DOC 及び ALEPH-2 が強いセロトニン受容体アゴニスト活性を有することを示した。これらの研究結果は、平成 20 年 8 月に厚生労働省が開催した第 3 回指定薬物部会において、6 薬物を指定薬物に指定するための判断根拠となる科学的データとして実際に提示された。近年違法ドラッグ市場において流通が認められている *N*-OH MDMA については、まず、本化合物のアルカリ条件下における分解反応機序を明らかにした。また、本化合物のラット及びヒト肝における代謝を検討し、*N*-OH MDMA は生体内で主に *N*-脱水酸化及び *N*-脱メチル化がおき、麻薬成分 MDMA 及び MDA に代謝されることを明らかにして、尿分析による MDMA との摂取識別が困難であることを示した。本結果は、平成 20 年 8 月に厚生労働省が開催した依存性薬物検討会において、*N*-OH MDMA を麻薬に指定するための判断根拠となる科学的データとして提示された。

植物系違法ドラッグについては、まず、植物系違法ドラッグ製品の基原植物を解明するために、ロータス、シニクイチ及びファラリスに着目して遺伝子分析による検討を行った。その結果、違法ドラッグ市場に流通するロータス製品は、スイレン属、熱帯性スイレンの(交)雑種を用いていることが示唆された。また、シニクイチを標榜する製品は *Heimia salicifolia* を原料植物としており、市場に流通するファラリス製品(栽培用種子)は *Phalaris* 属ではあるが、日本に広く分布自生しているクサヨシ (*P. arundinacea*) ではない可能性が示唆された。植物系違法ドラッグの主活性成分の検索に関する研究では、市場に流通する西アフリカ原産植物 *Voacanga africana* の根皮から、主塩基のビスインドールアルカロイド Voacamine とともに、既知アルカロイド 15 種、新規アルカロイド 11 種を単離構造決定し、幻覚性物質の Ibogaine の存在を確認した。さらに、医薬基盤研究所薬用植物資源センターにおいて、違法ドラッグに関わる 13 属 20 種 36 系統の植物の種子及び 1 属 4 種 27 系統の植物体を導入した。また、緊急性の高い 10 属 18 種 59 系統 190 点を選定し栽培育成を行った。本研究結果は、厚生労働省の監視指導行政に直接貢献する研究であり、国の違法ドラッグ対策に即したものと考えられる。

研究分担者	
豊岡 利正	静岡県立大学薬学部 教授
栗原 正明	国立医薬品食品衛生研究所 有機化学部室長
裏出 良博	財団法人大阪バイオサイエンス 研究所 分子行動生物学部門 研究部長
合田 幸広	国立医薬品食品衛生研究所 生薬部長
高山 廣光	千葉大学大学院 薬学研究院 教授
飯田 修	独立行政法人医薬基盤研究所 薬用植物資源研究センター 種子島研究部 研究リーダー

A. 目的

厚生労働省では、深刻化する違法ドラッグ問題に対応するため、平成 18 年に薬事法を改正し、興奮等の作用を有する蓋然性が高く保健衛生上の危害が発生するおそれがある薬物や植物を厚生労働大臣が「指定薬物」として指定し、医療等の用途以外の製造、輸入、販売等を禁止することになった。本研究は、この「指定薬物」制度に対応し、具体的な化合物(群)や植物(群)を指定する際考えられる問題点を科学的に解決し、どのような化合物(植物)を指定し、どのように規制するかを検討するための実効的な資料を提供するために行うものである。

平成 18 年の薬事法改正をうけ、平成 19 年 4 月には 31 化合物 1 植物が、平成 20 年 1 月には 5 化合物が指定薬物として規制化された。また、平成 20 年 8 月には第 3 回指定薬物部会が開催され、平成 21 年 1 月より 6 化合物が新たに指定薬物として規制された。指定薬物規制化に伴い、地方衛生研究所を中心とした各地域の分析機関において指定薬物分析が必須となっているが、本研究では、まず、この様な分析が迅速に行われるように分析標準品及び分析データ

の整備を行った(花尻)。また、違法ドラッグ成分の新規簡易スクリーニング法の開発についても検討を行った(豊岡)。新しく市場に登場した化合物については、構造決定をすると共に、規制の根拠となる科学的データを収集した(花尻)。

現在指定薬物に指定されている植物は *Salvia divinorum* のみである。これは、天然物の規制の困難さを反映したものであるが、他方、数多くの化学化合物が指定薬物化されたため、違法ドラッグ市場では、植物系にシフトした製品が流通することが危惧される。本研究では、このような問題にも対応するため、市場に流通する植物系違法ドラッグ製品について遺伝子解析による基原種の特定を行うと共に、一般に流通する近縁種についても同様の検討を行い、どのような範囲で植物を違法ドラッグとして指定する検討を行った(合田)。また、問題となる植物について、化合物の単離、構造決定を行うとともに、主活性成分について大量精製を実施し、分析用標準品の準備をはかった(高山)。さらに、医薬基盤研究所薬用植物資源センターにおいて基原植物の収集・栽培及び同定を行い、標準となりうる植物資源の確保を行った(飯田)。

一方、指定薬物指定には中枢作用を有する蓋然性が高いことが必要とされているが、そのための確かなスクリーニング法は少なく、規制化の隘路になっている。そこで、コンピューターモデリングの手法を用いて、問題となる活性未知の化合物について活性予測を行った(栗原)。また、動物実験用脳液解析システムを用いた薬物の薬理学的効果判定手法の検討を行った(裏出)。さらに、G タンパク質共役型受容体と Ca^{2+} 感受性発光蛋白エクオリンを安定に共発現する組換え細胞を用いたアッセイ法において、活性未知の化合物について代表的な受容体活性を検討した(花尻)。

なお、今年度は、生体内で代謝を受け、麻薬成分 MDMA 及び MDA が生成する可能性が指摘されている違法ドラッグ成分 N-OH MDMA

について、ラット及びヒト肝における代謝を検討し、規制化の判断根拠となりうる科学的データを収集した（花尻）。

B. 研究方法

1. 違法ドラッグ製品の分析法の開発, 成分分析, 分析標準品の調製

1) *N*-OH MDMA の物性・分析及び代謝に関する研究

麻薬成分 MDMA の *N*-水酸化体 *N*-OH MDMA は、新たな違法ドラッグとして乱用が懸念される化合物であるが、アルカリ性条件下において速やかに分解することが判明している。そこで、NMR 及び ESR を用い、分解メカニズムの検討を行った。NMR は NaOD アルカリ条件下で測定を行った。ESR は活性酸素のスピンラップ剤 5,5-dimethyl-1-pyrroline-*N*-oxide (DMPO) を用いて測定を行った。

一方、*N*-OH MDMA は代謝されて麻薬成分 MDMA 及び MDA が生成することが疑われている。そこで、ラット及びヒト肝における代謝を検討した。動物実験においては、茶褐色体毛を有する DA ラットに、*N*-OH MDMA を 5 mg/kg ずつ 10 日間連続して腹腔内投与し、血漿試料は初回投与後 360 分まで、尿試料は最終投与後 72 時間まで、毛髪試料は初回投与後 28 日間に新たに生えてきたものを採取した。各試料を固相抽出カラムで精製した。ヒト肝代謝については、凍結ヒト肝細胞、プールした human liver microsome, human liver cytosol, 各種ヒト cytochrome (CYP) および P450 reductase のパキキュロウイルス発現系 supersome を用いて *N*-OH-MDMA とインキュベーションした。試料中の *N*-OH MDMA, *N*-OH MDA, MDMA, MDA 量は UPLC-MS/MS により測定した。

2) 新規指定薬物の分析に関する研究

平成 20 年度に新規に指定薬物に指定された 6 化合物 5-MeO-EIPT, ethcathinone, *N*-Me-FMP,

ALEPH-2, MDPV 及び DOC について、呈色反応、TLC, LC-MS 及び GC-MS の分析データを検討した。また、インターネット上の記載や文献報告から日本においても流通の恐れのある違法ドラッグ成分もしくは研究班の調査研究の一環として、定期的に行っている違法ドラッグ製品買い上げ調査において、実際に流通が認められた新規流通違法ドラッグ成分 5 化合物について、GC-MS の分析データを示した。さらに、買い上げ製品の中から、指定薬物及び麻薬成分が検出された事例について検討を加えた。

3) 分析標準品の調製

平成 20 年度に新規に指定薬物に指定された 1-(4-fluorophenyl)-*N*-methylpropan-2-amine (*N*-Me-FMP) の分析用標準品を大量製造した。4-Fluorophenyl acetone を辛酸存在下で *N*-methylformamide と反応させ、*N*-formyl fluoromethamphetamine とし、塩酸存在下で還流して、*N*-Me-FMP とした。構造は NMR 測定及び質量分析により確認し、純度は、TLC 及び HPLC で確認した。

4) 新規流通違法ドラッグ成分の同定

市場流通違法ドラッグ買い上げ 3 製品（白色粉末 1 製品、乾燥植物 2 製品）から未知成分が検出されたため、それぞれについて、必要に応じて Preparative TLC を用いて成分の精製を行い、精密質量分析及び NMR により構造を同定した。

5) 指定薬物候補の GPCRs 活性検討

薬理的報告が少ない 3 種類の指定薬物候補化合物 5-MeO-EIPT, DOC 及び ALEPH-2 について、G タンパク質結合受容体 (G protein coupled receptors, GPCRs) と Ca²⁺感受性発光蛋白エクオリンを安定に共発現する組換え細胞を用いた Aequorin/GPCRs cell-based Ca²⁺ functional assay をを行い、GPCRs (5HT_{2a}) 活性を検討した。

2. 違法ドラッグ製品の簡易スクリーニング法の開発

指定薬物を蛍光標識化せず、簡便迅速、かつ

高感度なスクリーニング法の開発を目的として HPLC-クーロアレイ電気化学検出器(CAD)による高感度一斉分離検出法の開発を行った。

3. 違法ドラッグ成分の活性評価法の開発

ファーマコフォアフィンガープリント法及び 2D-QSAR (定量的活性相関) 法を用いて、薬理学的情報に関する文献が報告されていない指定薬物候補 5-MeO-EIPT について、活性予測を行った。ファーマコフォアフィンガープリント法では、3 点のファーマコフォアのグラフ距離で分子の類似性を評価し、AMT を 1 としたときのそれぞれの分子の類似性を数値で表した。2D-QSAR 法では、ラット脳 synaptosome における 5-HT の monoamine re-uptake に対する構造類似化合物の実測活性値 (IC₅₀ 値) について AutoQuaSAR を使って妥当な QSAR モデル式を構築し、5-MeO-EIPT の活性値を予測した。

4. 違法ドラッグ成分の脳波による作用評価

代表的な興奮薬として覚醒剤 *d*-amphetamine (*d*-AP)、*d*-methamphetamine (*d*-MAP) を選定し、また、興奮作用を持つと考えられる違法ドラッグとして、2 種類のフッ素置換アンフェタミン誘導体 4-FMP、*N*-Me-4-FMP を検討対象化合物とした。SD ラットに脳波・筋電位測定用の電極の処理手術を実施し、回復、順応させた後、1 日目はコントロールとして生理食塩水のみを投与し、2 日目に各薬物を腹腔内投与した。薬物投与後 24 時間にわたる脳波データを解析し、1 時間毎の覚醒、ノンレム睡眠、レム睡眠の時間を算出した。また、脳波のパワースペクトルの FFT (Fast Fourier Transform) 解析を行い、各段階における周波数 (0.5 - 35 Hz) の強度について、コントロールを 100 %とした相対強度を算出し、各薬物を比較した。自発運動量の測定は、脳波・筋電位の測定と同時にを行い、赤外線センサーによりラットの動きをカウントした。投与後 24 時間にわたるデータを解析し、1 時間毎の自発運動量を算出した。さらに、SD ラッ

トに 1, 2.5, 5 mg/kg ずつ各薬物を腹腔内投与し、一定時間毎の血漿中薬物濃度を UPLC-MS を用いて測定した。

5. 植物系違法ドラッグ製品の基原種の特定

違法ドラッグ市場に流通する ロータス (*Nymphaea, Nelumbo*) 製品及びシニクイチ (*Heimia salicifolia*) 製品について、核 rDNA 上の internal transcribed spacer (ITS) 領域および葉緑体 DNA 上の *trnL-trnF* 領域の塩基配列を調査し、基原植物を推定すると共に、その流通実態を調査した。Lotus (*Nymphaea, Nelumbo*) 製品については、園芸市場に流通する同属植物も買い集め基原植物調査を行った。さらに、違法ドラッグ市場に流通するフェラリス製品 (栽培用種子) および国内自生フェラリスについて、*trnL-trnF* 領域配列解析を利用した基原種鑑別を行った。

6. 植物系違法ドラッグの主活性成分の検索及び分析標準品の調製

違法ドラッグ市場に流通するキョウチクトウ科植物 *Voacanga africana* の根皮をメタノールにて抽出し、得られたエキスをカラムクロマトグラフィーで精製することにより含有アルカロイドを精査した。単離した化合物については各種スペクトルデータの測定により構造を決定した。

7. 植物系違法ドラッグの基原植物の収集及び栽培

違法ドラッグ市場に流通することが疑われる植物の種子を外国の植物研究機関との種子交換などにより導入し、また多肉植物専門業者などから植物体を導入した。導入した全ての種子ならびに植物体の中から緊急性の高い植物を選定し、開花、結実まで育成した。実際に開花、結実した植物については、種の同定を行うとともに形態タイプとの関係を検討した。また、形態変異の幅が広く多様なタイプが認められたクサヨシについては、全ての生育株について

最大葉の幅と葉質を記録する生育調査を行った。さらに、トケイソウ属植物については、保存用の種子を得るための基礎データとして開花ならびに結実の調査を行った。

C. 結果・考察

1. 違法ドラッグ製品の分析法の開発, 成分分析, 分析標準品の調製

1) *N*-OH MDMA の物性・分析及び代謝に関する研究

NaODアルカリ条件下におけるNMR測定では、*N*-OH-MDMA由来のピークは時間経過と共に減少し、MDAのニトロソ体およびMDAのオキシム体とみられるピークが観測された。一方、*N*-OH-MDA由来ピークは時間経過と共に減少し、MDAのオキシム体とみられるピークが観測された。この*N*-OH-MDMAの分解反応は、Ar置換下では著しく遅くなった。従って、酸素存在下において反応が進行すると考えられた。次に、分解反応にラジカルが関与しているかを検討するため、ESR測定を行った。その結果、アルカリ条件下、*N*-OH-MDMAではスーパーオキシドアニオンラジカルが観測された。従って、*N*-OH-MDMAの分解反応にはラジカルが関与すると考えられた。一方、同様の実験を行ったが*N*-OH-MDAではラジカルは観測されなかった。以上の結果から、アルカリ条件下において、*N*-OH-MDMAは、ラジカルが関与する酸化及び*N*-脱メチル化が起こり、MDAのニトロソ体を経て、最終的にMDAのオキシム体が生成すると考えられた。一方、*N*-OH-MDAは、ラジカルが関与しないアルカリ酸化が起こり、MDAのオキシム体が生成すると考えられた。

また、ラットを用いた代謝実験では、*N*-OH MDMA投与ラットにおいて、*N*-OH MDMA及び*N*-OH MDAは速やかに血漿中及び尿中から消失し、モル濃度に換算した各化合物の72時間の総排泄量の割合は、99%以上が*N*-脱水酸化

体MDMA及びMDAとして排泄されていた。一方、薬物投与ラット毛髪中からMDMA及びMDAが高濃度検出されると共に、未変化体*N*-OH MDMA及び*N*-OH MDAも少量ながら検出が可能であった。一度毛髪に取り込まれた薬物は血漿中や尿中と比較して安定であることを考慮すると、毛髪試料は摂取後時間を経ても未変化体が確認しやすく、本法のような高感度分析法を用いることにより、*N*-OH MDMAとMDMAの摂取識別が可能となると考えられた。

凍結ヒト肝細胞では、反応時間に伴って脱水酸化体であるMDMAおよび脱水酸化・脱メチル化体であるMDAの生成が認められ、その生成量は反応2時間でそれぞれ約10%および3%であった。また、*N*-OH-MDMAはヒト肝ミクロゾーム画分の酵素により*N*-OH-MDA、MDMAおよびMDAに代謝されることが明らかとなり、*N*-脱メチル化反応にはCYP分子種が関与していることが示唆された。また、*N*-脱水酸化反応はヒトCYP分子種およびP450 reductase以外のミクロゾーム画分中の還元(脱水酸化)酵素によるものと推察された。

2) 新規指定薬物の分析に関する研究

平成20年度に新規に指定薬物に指定された6化合物について、呈色反応、TLC、LC-MS及びGC-MSの分析データを示し、すでに指定薬物に指定されている他化合物との識別法を示した。また、近年流通が認められている、もしくは流通の恐れがある5化合物、bromo-dragonfly, 3C-B-fly, 1-(4-fluorophenyl) piperazine, phthalimidopropiophenone, dephenyl prolinolについて、GC-MS測定データを示した。さらに、指定薬物及び麻薬成分が検出された買い上げ製品の分析結果を示した。

3) 分析標準品の調製

本合成により、*N*-Me-4-FMP塩酸塩(白色結晶(7.4 g)を得た。HPLC(モニタリング波長210, 254 nm)により、*N*-Me-4-FMPの保持時間

の約3倍の分析時間を面積測定範囲として面積百分率法により純度を求めたところ、100.0%であった。また、本化合物について、GC-MS、LC-MS及びIRの測定データを示した。

4) 新規流通違法ドラッグ成分の同定

検討を行った3製品のうち、白色粉末1製品は、新規違法ドラッグ成分

1-(4-methylphenyl)-2-methylaminopropan-1-one (4-methyl-methcathinone)であった。また、乾燥植物2製品からは、カンナビノイドアナログ：(1*RS*,3*SR*)-3-[4-(1,1-dimethyloctyl)-2-hydroxyphenyl]cyclohexan-1-ol及び1-pentyl-3-(1-naphthoyl)indole(別名：JWH-018)を検出した。これらは、過去にカンナビノイド受容体に作用する化合物検索の結果合成された化合物の一種であり、薬理作用に関しても、強力なカンナビノイド受容体結合活性をもつことが報告されていることから、乱用が懸念される。

5) 指定薬物候補のGPCRs活性検討

測定対象とした3化合物5-MeO-EIPT、DOC及びALEPH-2のすべてに強いセロトニンAゴニスト活性が認められた。2,5-ジメトキシフェネチルアミン系幻覚薬であるDOC及びALEPH-2は特に強いAゴニスト活性を有し、コントロール化合物として使用したセロトニン以上の活性を示した。一方、これら化合物には、セロトニンAゴニスト活性は認められなかった。

2. 違法ドラッグ製品の簡易スクリーニング法の開発

HPLC-CADによる指定薬物の簡便かつ高感度一斉分析法を確立することができた。一斉分析では31種類の指定薬物を30分以内に良好に分離することができた。また、32種類の指定薬物をトリプタミン系、フェネチルアミン系、ピペラジン系及びその他、の3種類に系統別に分類した。系統別による一斉分析では、トリプタミン系を55分以内に11種類、フェネチルアミン系では40分以内に15種類、ピペラジン系

及びその他の系では22分以内に6種類の指定薬物を良好に分離検出することができた。個々の薬物の最適な酸化電圧における検出限界は25 pg/ml~0.5 µg/mlであった。さらに、上記の両分析法を用いて、市場で違法ドラッグとして販売されていた3種類の実試料に適用し、分析法の有用性を検証した。

3. 違法ドラッグ成分の活性評価法の開発

類似化合物の活性(既知)と比較するために、ファーマコフォアフィンガープリント法及び2D-QSAR法の2方法で評価した結果、どちらの方法でも5-MeO-EIPTは麻薬成分5-MeO-DIPTや指定薬物5-MeO-MIPTと類似の活性があることが予測された。

4. 違法ドラッグ成分の脳波による作用評価

フッ素置換アンフェタミン誘導体4-FMP、*N*-Me-4-FMPは、ラットの覚醒量および自発運動量を投与量依存的に有意に増加させることが明らかとなった。また、ラットの脳波にも有意な変化を与え、その変化は覚醒時において、代表的興奮薬である*d*-AP、*d*-MPと類似の挙動を示した。さらに、4-FMP、*N*-Me-4-FMP投与後のラット血漿中薬物濃度は投与量に依存して増加し、また、その薬物濃度の経時変化は、覚醒量および自発運動量の経時変化と相関がみられた。また、4-FMP、*N*-Me-4-FMPは、覚醒剤(*d*-AP、*d*-MP)と比べて、長時間血中に存在することが明らかとなった。以上の結果から、4-FMP、*N*-Me-4-FMPは*d*-AP、*d*-MPと類似の挙動を示す興奮性の化合物であることが明らかとなった。

5. 植物系違法ドラッグ製品の基原種の特定

昨年に引き続き違法ドラッグ市場に流通するロータス系製品について遺伝子解析を用い、その植物種の同定を行った結果、違法ドラッグ市場に流通するロータス系製品は、原種や純系種を原料とするものではなく、スイレン属、熱帯性スイレンの(交)雑種を用いていることが

示唆された。また、今回新たに市場品を調査した結果、ロータス製品はスイレンだけではなくハス (*Nelumbo nucifera*) も原料として使われていることが明らかとなった。シニクイチ製品について *trnL-trnF* 領域およびITS領域を調査した結果、シニクイチを標榜する製品は *Heimia salicifolia* を原料植物としていることがわかった。ファラリスについては、市場に流通するファラリス製品(栽培用種子)は *Phalaris* 属ではあるが、日本に広く分布自生しているクサヨシ (*P. arundinacea*) ではない可能性が示唆された。また、日本に自生しているクサヨシには遺伝子レベルでの地理的変異が見られた。

6. 植物系違法ドラッグの主活性成分の検索及び分析標準品の調製

Voacanga africana の根皮のアルカロイド成分の検索を行った。その結果、主塩基のピスインドールアルカロイド Voacamine とともに、既知アルカロイド 15 種、新規アルカロイド 11 種を単離構造決定し、違法ドラッグ「イボガ」(*Tabernanthe iboga*)の主成分で幻覚性物質の Ibogaine の存在を確認した。従って、*Voacanga africana* の根皮は *Tabernanthe iboga* のような幻覚様作用を示す可能性があるかと推察された。

7. 植物系違法ドラッグの基原植物の収集及び栽培

外国の植物研究機関との種子交換などにより 13 属 20 種 36 系統の植物の種子を導入した。加えて、多肉植物の専門業者から 1 属 4 種 27 系統の植物体を導入した。また、緊急性の高い 10 属 18 種 59 系統 190 点を選定し栽培育成を行った。中でもクサヨシ (*Phalaris arundinacea*) は、葉の形態形質にかなり幅広い変異をもった種であることが明らかになった。違法植物の形態特性を把握し、基原植物を正確に同定するためには、未開花個体の形態の特性調査に加えて、開花個体の形態も十分に精査し、これらの結果を総合的に検討することが重要である。

D. 結論

薬事法に制定された「指定薬物」に対応し、指定薬物として規制すべき物質及び物質群(植物を含む)の規制範囲を検討すると共に、根拠となる科学的データを提示することを目的とし、今年度は、合成系及び植物系違法ドラッグについて、以下の研究を行った。

合成系違法ドラッグについては、未知成分 3 化合物の構造決定を行うと共に、指定薬物及び新規流通化合物の分析データの整備、違法ドラッグ成分の HPLC-CAD を用いた高感度一斉分析法の開発を行った。構造を決定した 3 化合物のうち 2 化合物は大麻様の活性を標榜して販売されていた製品に添加されていたものであり、実際に極めて強いカンナビノイド受容体活性を示すことから、乱用及び健康危害が懸念された。また、分析標準品として *N*-Me-4-FMP の大量製造を行い、全国の分析機関に交付する体制を整えた。一方、薬理活性未知の指定薬物候補化合物 5-MeO-EIPT について、コンピューターを用いたファーマコフォアフィンガープリント法及び 2D-QSAR モデルによる活性予測を行い、5-MeO-DIPT 等麻薬成分と類似の活性を示すことを明らかにした。また、動物実験用脳波解析システムを使用し、指定薬物 FMP 及び指定薬物候補化合物 *N*-Me-FMP は、ラットの覚醒量および自発運動量を投与量依存的に有意に増加させ、脳波にも覚せい剤に類似した変化をもたらすことを明らかにした。さらに、Gタンパク質共役型受容体と Ca^{2+} 感受性発光蛋白 Aequorin を安定に共発現する組換え細胞を用いたアッセイを行い、指定薬物候補化合物 5-MeO-EIPT, DOC 及び ALEPH-2 が強いセロトニン受容体アゴニスト活性を有することを示した。これらの研究結果は、平成 20 年 8 月に厚生労働省が開催した第 3 回指定薬物部会において、6 薬物を指定薬物に指定するための判断根拠となる科学的データとして実際に提示された。

近年、違法ドラッグ市場において流通が認められている *N*-OH MDMA については、まず、本化合物のアルカリ条件下における分解反応機序を検討した結果、ラジカルが関与する酸化及び *N*-脱メチル化が起こり、MDA のニトロソ体を経て、最終的に MDA のオキシム体が生成すると考えられた。また、本化合物のラット及びヒト肝における代謝を検討した結果、*N*-OH MDMA は生体内で主に *N*-脱水酸化及び *N*-脱メチル化がおき、麻薬成分 MDMA 及び MDA に代謝されることが明らかになった。特にラットにおいては、99%以上が MDMA 及び MDA として尿中に排泄されることが明らかとなり、尿分析においては MDMA との摂取識別が困難であることを示した。本結果は、平成 20 年 8 月に厚生労働省が開催した依存性薬物検討会において、*N*-OH MDMA を麻薬に指定するための判断根拠となる科学的データとして実際に提示された。

植物系違法ドラッグについては、植物系違法ドラッグ製品の基原植物を解明するために、昨年に引き続いてロータスを、また新たにシニクイチ及びファラリスに着目して遺伝子分析による検討を行った。その結果、違法ドラッグ市場に流通するロータス系製品は、原種や純系種を原料とするものではなく、スイレン属、熱帯性スイレンの(交)雑種を用いていることが示唆された。また、シニクイチを標榜する製品は *Heimia salicifolia* を原料植物としており、ファラリスについては、市場に流通するファラリス製品(栽培用種子)は *Phalaris* 属ではあるが、日本に広く分布自生しているクサヨシ (*P. arundinacea*) ではない可能性が示唆された。植物系違法ドラッグの主活性成分の検索に関する研究では、市場に流通する西アフリカ原産植物 *Voacanga africana* の根皮から、主塩基のビスインドールアルカロイド Voacamine とともに、既知アルカロイド 15 種、新規アルカロイド 11 種を単離構造決定し、幻覚性物質の Ibogaine の

存在を確認した。さらに、医薬基盤研究所薬用植物資源センターにおいて、違法ドラッグに関わる 13 属 20 種 36 系統の植物の種子及び 1 属 4 種 27 系統の植物体を導入した。また、緊急性の高い 10 属 18 種 59 系統 190 点を選定し栽培育成を行った。

指定薬物制度の導入により、インターネット等における違法ドラッグ販売数は表面上激減し、少なくとも従来までのように容易に入手するのは困難な状況となった。一方、植物由来製品については、唯一指定薬物となった *Salvia divinorum* が違法ドラッグ市場より姿を消したものの、規制が厳しくなった化学化合物の代替品として、逆に流通拡大が認められている。また、近年、bromo-dragonfly や 3C-B-FLY のように、医薬品開発途上でメディシナルケミストリーによって大量に誕生した、特定の受容体に対し極めて高い活性を有する化合物が違法ドラッグ市場に登場している。これら化合物の中には、今年度の研究でその存在を明らかにしたカンナビノイド受容体に極めて強い活性を示す合成カンナビノイドアナログや内因性カンナビノイドのように、既存の違法ドラッグと構造が全く異なるものもあり、検出が困難となっているものもある。さらに、Phthalimidopropiophenone のように、体内で麻薬成分となるプロドラッグ的な化合物の存在も示唆されている。今後、このような化合物についても監視を強化していく必要があると思われる。

以上、本研究結果は、厚生労働省の監視指導行政に直接貢献する研究であり、国の違法ドラッグ対策に即したものと考えられる。なお、本研究班の研究成果の一部については、平成 21 年 1 月 26 日に、厚生労働省が開催した「平成 20 年度指定薬物分析・鑑定に関する研修」(全国 39 都道府県の地方衛生研究所から 51 名が参加)において、説明を行った。

E. 健康危機情報

メディシナルケミストリーによって誕生した bromo-dragonfly や 3C-B-FLY, また今回存在を明らかにした(1*RS*,3*SR*)-3-[4-(1,1-dimethylethyl)-2-hydroxyphenyl]cyclohexan-1-ol 及び 1-pentyl-3-(1-naphthoyl) indole (別名: JWH-018) のような違法ドラッグ成分は、非常に活性が強いことから、乱用による健康被害が懸念される。

F. 研究発表

1. 学会・講演発表

- 1) 関俊哲, 清水芳羽, 豊岡利正, 稲垣真輔, 花尻瑠理, 合田幸広: UFLC-蛍光法によるフェネチルアミン系指定薬物の高感度一斉分離検出法の開発, 第15回クロマトグラフィーシンポジウム (静岡 2008.5.31).
- 2) R. Kikura-Hanajiri, M. Kawamura and Y. Goda: Simple and rapid screening for psychotropic natural products using DART (Direct Analysis in Real Time)-TOF/MS, The international association of forensic toxicologists 46th international meeting (Martinique, France, 2008.6.2-8).
- 3) N. Uchiyama, R. Kikura-Hanajiri, Y. Goda, M. Wada and Y. Urade: Effects of new fluoro-substituted amphetamine analogs on electroencephalogram power spectra in rats, XXVI CINF Congress (Munich, 2008.7.13-17).
- 4) 花尻 (木倉) 瑠理: 様々な製品に含有される無承認無許可医薬品成分の分析について—違法ドラッグを中心に—, 日本分析化学会第57年会 (シンポジウム) (福岡, 2008.9.10-12).
- 5) 花尻 (木倉) 瑠理, 河村麻衣子, 内山奈穂子, 最所和宏, 合田幸広: 平成19年度違法ドラッグ製品の全国買い上げ調査について, 第45回全国衛生化学技術協議会 (佐賀 2008.11.13-14).
- 6) 宮澤法政, 大村厚子, 生嶋昌子, 只木晋一, 野坂富雄, 花尻 (木倉) 瑠理, 内山奈穂子, 合田幸広: 未規制の亜硝酸エステルが確認された違法ドラッグの分析について, 第45回全国衛生化学技術協議会 (佐賀 2008.11.13-14).
- 7) 高橋美津子, 桜井克巳, 渡部健二郎, 日高利夫, 花尻瑠理, 合田幸広: LC/MS スペクトルライブラリーを用いた違法ドラッグ中の医薬品及び指定薬物の検索, 第45回全国衛生化学技術協議会 (佐賀 2008.11.13-14).
- 8) 関俊哲, 畠中俊, 豊岡利正, 稲垣真輔, 花尻瑠理, 合田幸広: UPLC-ESI-TOF-MS による蛍光標識化指定薬物の高感度迅速一斉分析法の開発, 第19回クロマトグラフィー科学会議 (京都, 2008.12.1-2)
- 9) J. Z. Min, S. Hatanaka, T. Toyo'oka, S. Inagaki, R. Kikura-Hanajiri and Y. Goda: Rapid, sensitive and simultaneous determination of fluorescence-labeled designated drugs by ultra-performance liquid chromatography coupled with electrospray-ionization time-of-flight mass spectrometry, HPLC 2008 Kyoto (Kyoto, 2008.12.2-5)
- 10) 花尻 (木倉) 瑠理: 指定薬物の現状と違法ドラッグの分析法について, 平成20年度指定薬物分析・鑑定に関する研修 (厚生労働省, 2009.1.26)
- 11) 内山奈穂子: 違法ドラッグ成分のNMR等を用いた同定法について, 平成20年度指定薬物分析・鑑定に関する研修 (厚生労働省, 2009.1.26)
- 12) 緒方潤: 植物系違法ドラッグの遺伝子分析について, 平成20年度指定薬物分析・鑑定に関する研修 (厚生労働省, 2009.1.26)
- 13) A. Miyajima-Tabata, M. Sunouchi, K. Nakazawa, R. Kikura-Hanajiri, Y. Goda: Reductive metabolism of *N*-(1-(3,4-methylenedioxyphenyl)propan-2-yl)-*N*-methylhydroxyl amine in human hepatocytes, The 48th Annual Meeting of the Society of Toxicology, (USA, Baltimore, 2009.3.15-19)

- 14) 花尻(木倉)瑠理, 河村麻衣子, 内山奈穂子, 最所和宏, 宮島敦子, 簾内桃子: 合田幸広 *N*-OH MDMA 投与ラットにおける生体試料中薬物の UPLC-MS/MS を用いた分析法について, 日本薬学会第 129 年会(京都, 2009.3.26-28).
- 15) 内山奈穂子, 花尻(木倉)瑠理, 福原 潔, 合田幸広: *N*-OH-MDMA 及び *N*-OH-MDA のアルカリ溶液中における分解メカニズムについて, 日本薬学会第 129 年会(京都, 2009.3.26-28).
- 16) 宮島敦子, 簾内桃子, 中澤憲一, 花尻(木倉)瑠理, 合田幸広: *N*-OH-MDMA のヒト肝における *N*-脱水酸化および *N*-脱メチル化反応について, 日本薬学会第 129 年会(京都, 2009.3.26-28).
- 17) 緒方潤, 内山奈穂子, 丸山卓郎, 杉村康司, 飯田修, 花尻(木倉)瑠理, 合田幸広: 違法ドラッグ市場に流通する Lotus (ロータス) 製品の DNA 解析について, 日本薬学会第 129 年会(京都, 2009.3.26-28).
- 18) 岩井真澄, 小暮紀行, 北島満里子, 花尻瑠理, 合田幸広, 高山廣光: キョウチクトウ科植物 *Voacanga africana* 含有新規アルカロイドの探索研究, 日本薬学会第 129 年会(京都, 2009.3.26-28).
- 19) 熊坂謙一, 宮澤真紀, 内山奈穂子, 花尻(木倉)瑠理, 合田幸広, 小島尚: いわゆるケミカルドラッグ成分に関する検討(その5)-違法ドラッグ成分を含有する製品の分析結果-日本薬学会第 129 年会(京都, 2009.3.26-28).
- 20) 高橋美津子, 桜井克巳, 渡部健二郎, 日高利夫, 花尻(木倉)瑠理, 合田幸広: 無承認無許可医薬品及び指定薬物のスクリーニング分析を指向した LC/MS ライブラリーの構築, 日本薬学会第 129 年会(京都, 2009.3.26-28).
- 21) 山下和秀, 関俊哲, 豊岡利正, 稲垣真輔, 花尻瑠理, 合田幸広: HPLC-クーロアレイ検出器(CAD)による指定薬物の高感度一斉分析法の開発, 日本薬学会第129年会(京都, 2009.3.26-28).
- 22) 畠中俊, 関俊哲, 豊岡利正, 稲垣真輔, 花尻瑠理, 合田幸広: 蛍光標識化指定薬物の UPLC-ESI-TOF-MSによる迅速高感度一斉分析法の開発, 日本薬学会第129年会(京都, 2009.3.26-28).
- 23) 山原梢, 池田理恵, 和田光弘, 花尻瑠理, 中島憲一郎: ラット血漿中 2 種のピペラジン系デザイナードラッグの HPLC-蛍光定量, 日本薬学会第 129 年会(京都, 2009.3.26-28).

2. 論文発表

- 1) K. Matsumoto, H. Takayama, M. Narita, A. Nakamura, M. Suzuki, T. Suzuki, T. Murayama, S. Wongseripipatana, K. Misawa, M. Kitajima, K. Tashima, and S. Horie, MGM-9, a Derivative of the Indole Alkaloid Mitragnine: A Novel Dual-acting μ - and κ -Opioid Agonist with Potent Antinociceptive and Weak Rewarding Effects in Mice. *Neuropharmacology*, **55** (2), 154-165 (2008).
- 2) R. Kikura-Hanajiri, M. Kawamura, N. Uchiyama, J. Ogata, H. Kamakura, K. Saisho and Y. Goda, Analytical data of designated substances (Shitei-Yakubutsu) controlled by the Pharmaceutical Affairs Law in Japan, part I: GC-MS and LC-MS, *Yakugaku Zasshi*, **128**(6), 971-979 (2008).
- 3) N. Uchiyama, M. Kawamura, H. Kamakura, R. Kikura-Hanajiri and Y. Goda, Analytical data of designated substances (Shitei-Yakubutsu) controlled by the Pharmaceutical Affairs Law in Japan, part II: Color test and TLC, *Yakugaku Zasshi*, **128**(6), 981-987 (2008).
- 4) M. Kawamura, R. Kikura-Hanajiri, Y. Goda, Survey of current trends in the abuse of

- psychotropic plants using LC-MS. *Jpn. J. Food Chemistry*, **15**, 73-78 (2008).
- 5) J. Z. Min, Y. Shimizu, T. Toyo'oka, S. Inagaki, R. Kikura-Hanajiri, Y. Goda, Simultaneous determination of 11 designated hallucinogenic phenethylamines by ultra-fast liquid chromatography with fluorescence detection., *J Chromatogr. B.* **873**(2), 187-94 (2008).
- 6) N. Uchiyama, R. Kikura-Hanajiri, N. Kawahara and Y. Goda, Analysis of designer drugs detected in the products purchased in fiscal year 2006, *Yakugaku Zasshi*, **128**(10),1499-1505 (2008).
- 7) 花尻 (木倉) 瑠理, 日本における違法ドラッグ対策—指定薬物制度について—, *ファルマシア*, **44**(12), 1177-1182 (2008).
- 8) M. Maruyama, M. Kawamura, R. Kikura-Hanajiri, H. Takayama, Y. Goda, The botanical origin of Kratom (*Mitragyna speciosa*; Rubiaceae) available as abused drugs in the Japanese markets. *J. Nat. Med.*, (2009) in press.
- 9) N. Uchiyama, R. Kikura-Hanajiri, N. Kawahara, Y. Haijima, Y. Goda, Identification of a cannabinoid analog as a new type of designer drug in a herbal product, *Chem. Pharm. Bull.*, (2009) in press
- 10) N. Uchiyama, R. Kikura-Hanajiri, N. Kawahara, Y. Goda, Identification of a cannabimimetic indole as a designer drug in a herbal product, *Forensic Toxicology*, (2009) in press
- 11) R. Kikura-Hanajiri, M. Kawamura, T. Maruyama, M. Kitajima, H. Takayama and Y. Goda, Simultaneous Analysis of Opioid Agonists; Mitragynine, 7-Hydroxymitragynine and Other Alkaloids in a Psychotropic Plant "Kratom" (*Mitragyna speciosa*) by LC-ESI-MS, *Forensic Toxicology*. (2009) in press.
- 12) R. Kikura-Hanajiri, T. Maruyama, A. Miyashita and Y. Goda, Chemical and DNA analyses for the products of a psychoactive plant, *Voacanga africana*, *Yakugaku Zasshi*, accepted.

分担研究課題：違法ドラッグ製品の分析法の開発，成分分析，分析標準品の調製
研究分担者：花尻 瑠理 国立医薬品食品衛生研究所生薬部 室長

—*N*-OH-MDMA 及び *N*-OH-MDA のアルカリ溶液中における分解メカニズムについて—

研究協力者：内山 奈穂子 国立医薬品食品衛生研究所生薬部 研究員

研究協力者：福原 潔 国立医薬品食品衛生研究所有機化学部 室長

研究要旨：麻薬成分 MDMA の水酸化体 *N*-OH-MDMA は，平成 21 年 1 月より新たに麻薬に指定された。本化合物および麻薬成分 *N*-OH-MDA は，LC-MS 分析により，アルカリ条件下において速やかに分解することが判明している。本研究では，核磁気共鳴分光法（Nuclear Magnetic Resonance：NMR）および電子スピン共鳴分光法（Electron Spin Resonance：ESR）を用い，両化合物の分解メカニズムを検討した結果，*N*-OH-MDMA は，ラジカルが関与する酸化及び *N*-脱メチル化が起こり，MDA のニトロソ体を経て，最終的に MDA のオキシム体が生成すると考えられた。一方，*N*-OH-MDA は，ラジカルが関与しないアルカリ酸化が起こり，MDA のオキシム体が生成すると考えられた。従って，これら化合物の分析の際には，アルカリを用いない方法が必要であることが明らかとなった。

A. 研究目的

麻薬成分 MDMA の水酸化体 *N*-OH-MDMA は，新たに乱用が懸念される化合物であったが，平成 21 年 1 月より新たに麻薬に指定された（Fig. 1）。一般的に，違法ドラッグ製品中の塩基性化合物を分析する際の前処理として，溶液をアルカリ性として抽出を行う場合が多いが，本化合物および同じく麻薬成分である *N*-OH-MDA は，アルカリ性条件下において速やかに分解することが LC-MS 分析により判明している。そこで本研究では，NMR 及び ESR を用い，両化合物の分解メカニズムの検討を行った。

B. 研究方法

1. NMR 分析方法

各種 NMR (^1H , ^{13}C , HMBC, HMQC, DQF-COSY) を測定し，構造の同定を行った。

【NMR 装置】 JEOL ECA-600

【測定核種】 ^1H , ^{13}C

【測定溶媒】 D_2O

【測定温度】 30°C

【調製方法】

酸素条件下： D_2O (0.75 ml) に 40% NaOD (約 10 μl) を加え調製したアルカリ溶液 (pH 9~10) に，各化合物 (*N*-OH-MDMA または *N*-OH-MDA; 3 mg) をそれぞれ溶解したものを試料とし，経時的に NMR 測定を行った。

Ar 置換条件下： D_2O (0.75 ml) に *N*-OH-MDMA (3 mg) を溶解したものを NMR チューブに

移し, Ar で3分間置換し, セプタムを付けた (A). 別に, 40% NaOD 溶液を Ar で3分間置換し, セプタムを付けた (B), A に B を加えたものを試料とし, 経時的に NMR 測定を行った.

2. ESR 分析方法

【ESR 装置】 JEOL X-band spectrometer (JES-FA100)

【スピントラップ剤】

5,5-dimethyl-1-pyrroline-*N*-oxide : DMPO (同仁化学)

【調製方法】

各化合物の水溶液 (*N*-OH-MDMA または *N*-OH-MDA; 2.8 mg/ml H₂O) 300 μl に, 40% NaOH (5 μl) および DMPO (3 μl) を加えたものを試料とし, ESR 測定を行った. また, 化合物の水溶液の代わりに, 水をブランクとして用いた.

C. 研究結果・考察

【NMR】 酸素条件下において, アルカリ溶液中の *N*-OH-MDMA の経時変化を検討した結果, *N*-OH-MDMA 由来のピークは時間経過と共に減少し, MDA のニトロソ体および MDA のオキシム体とみられるピークが観測された (Fig. 1-2, Table 1). *N*-OH-MDMA のピーク (3-CH₃, 1.12 ppm) は時間とともに減少し, 95 時間後には消失した. 一方で, 48 時間後に MDA のニトロソ体とみられるピーク (3-CH₃, 1.50 ppm) および MDA のオキシム体とみられるピーク (3-CH₃, 1.74 ppm) が観測され, さらに 95 時間後には主に MDA のオキシム体とみられるピークに収束した (Fig. 2). 従って, *N*-OH-MDMA は *N*-脱メチル化によって MDA のニトロソ体となり, 最終的に MDA のオキシム体が生成すると考えられた. 一方, 試料を Ar で置換した後, 同様にアルカリ溶液中の *N*-OH-MDMA

の経時変化を検討した結果, *N*-OH-MDMA 由来のピークの減少速度は著しく遅くなり, 168 時間後でも本化合物のピークは存在していた (Fig. 3). 従って, *N*-OH-MDMA の分解反応は酸素存在下において進行すると考えられた. また, *N*-OH-MDA についても, 酸素条件下におけるアルカリ溶液中の経時変化を検討したところ, *N*-OH-MDA 由来のピークは時間経過と共に減少したが, MDA のニトロソ体とみられるピークは観測されず, MDA のオキシム体とみられるピークのみが観測された (Fig. 4). 最終的には, *N*-OH-MDMA の場合と同様に, 主に MDA のオキシム体とみられるピークに収束した.

【ESR】 次に, この分解反応にラジカルが関与しているかを検討するため, 試料にスピントラップ剤 (DMPO) を添加して, ESR 測定を行った. その結果, アルカリ条件下, *N*-OH-MDMA ではスーパーオキシドアニオンラジカル (O₂⁻) が観測された (Fig. 5a). 一方, アルカリを加えない場合, ラジカルは観測されなかった (Fig. 5b). 従って, *N*-OH-MDMA の分解反応にはラジカルが関与すると考えられた. 一方, *N*-OH-MDA についても同様の実験を行ったが, アルカリ条件下の有無に関係なく, ラジカルは観測されなかった (Fig. 5c-d).

以上の結果から, *N*-OH-MDMA および *N*-OH-MDA の推定反応経路を Fig. 6 に示した. アルカリ条件下において, *N*-OH-MDMA は, 脱プロトン化された後, 酸素存在下においてラジカルが関与する一電子酸化及び *N*-脱メチル化が起こり, MDA のニトロソ体を経て, 最終的に MDA のオキシム体が生成すると考えられた. 一方, *N*-OH-MDA は, ラジカルが関与しないアルカリ酸化が起こり, MDA のオキシム体が生成すると考えられた. 一般的に, ニトロソ体の α 位に水素がある場

合、互変異性により速やかにオキシム体に変換することが知られているが、今回行った NMR 測定で、両化合物のうち、*N*-OH-MDMA の場合にのみ MDA のニトロソ体が観測された理由として、以下の原因が考えられる。*N*-メチル基を有する *N*-OH-MDMA は、電子リッチな状態であるため、MDA のニトロソ体生成までのアルカリ酸化反応が速やかに進行しやすいと考えられる。この反応は、その後の MDA のニトロソ体から MDA のオキシム体への変換よりも速いために、生成された MDA のニトロソ体および MDA のオキシム体両方が NMR により同時に観測されたと考えられる。一方、*N*-OH-MDA は、*N*-メチル基が無いため酸化されにくく、一般的なアルカリ酸化反応しか進まないため、この段階が律速であると考えられる。従って、生成した MDA のニトロソ体は速やかに MDA のオキシム体に変換されたため、NMR により観測されなかったと考えられる。

D. 結論

本研究では、麻薬成分 *N*-OH-MDMA および *N*-OH-MDA のアルカリ条件下での分解メカニズムを解明するため、NMR および ESR を用い検討を行った。その結果、*N*-OH-MDMA は、ラジカルが関与する酸化及び *N*-脱メチル化が起こり、MDA のニトロソ体を経て、最終的に MDA のオキシム体が生成すると考えられた。一方、*N*-OH-MDA は、ラジカルが関与しないアルカリ酸化が起こり、MDA のオキシム体が生成すると考えられた。従って、これら化合物の分析の際には、アルカリを用いない方法が必要であることが明らかとなった。

E. 参考文献

特になし。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

内山 奈穂子, 花尻(木倉)瑠理, 福原 潔, 合田 幸広: *N*-OH-MDMA 及び *N*-OH-MDA のアルカリ溶液中における分解メカニズムについて 日本薬学会第 129 年会 (2009.3)

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし。

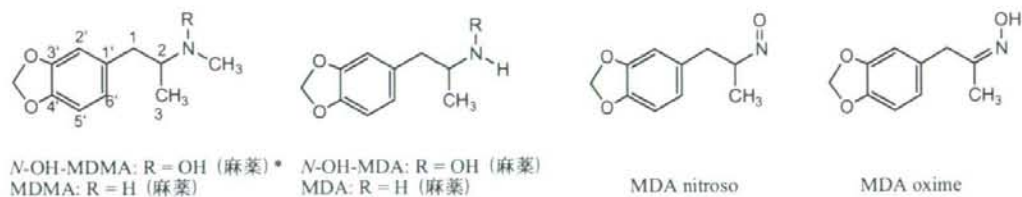


Fig. 1 $N\text{-OH}$ MDMA 及び構造類似麻薬の構造

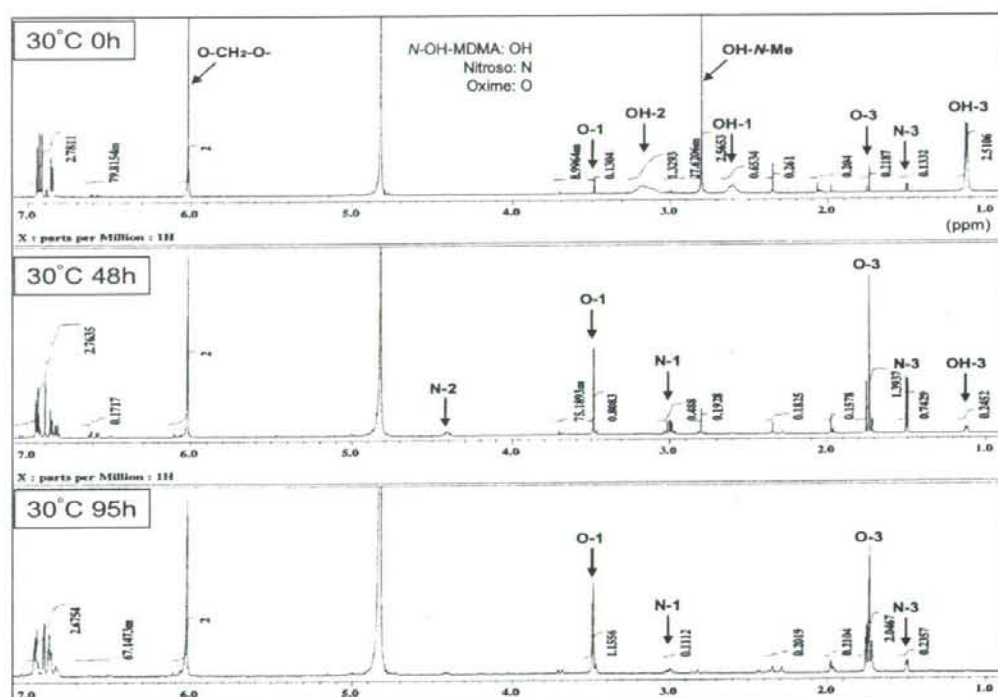


Fig. 2 酸素条件下における NaOD アルカリ溶液 (pH 9~10) 中の $N\text{-OH-MDMA}$ の経時的変化

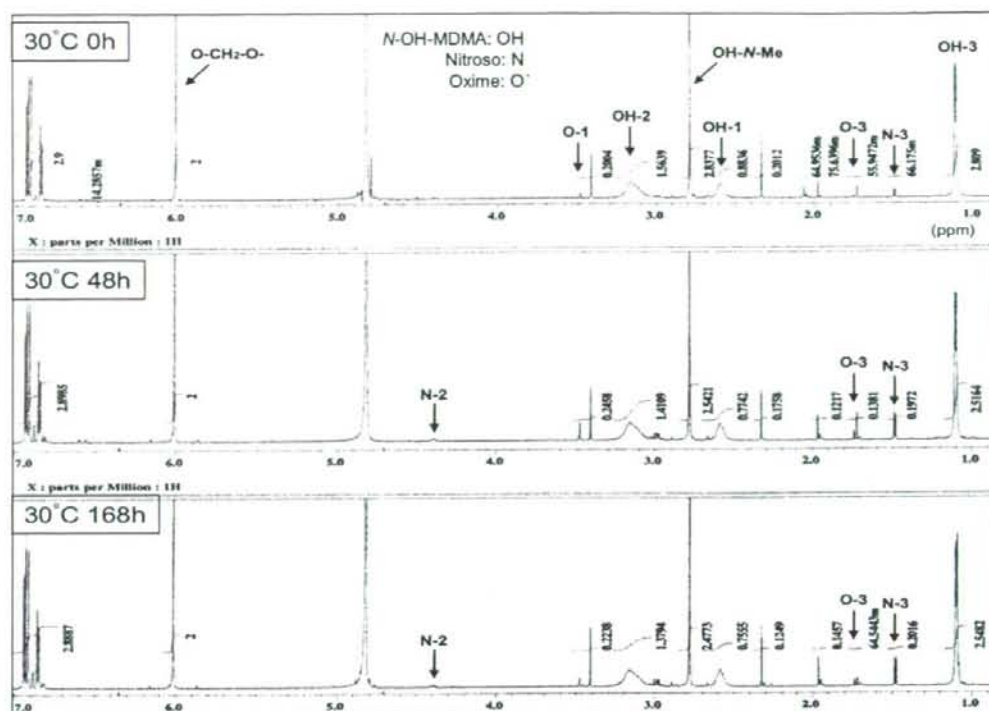


Fig. 3 Ar置換下におけるNaODアルカリ溶液(pH 9-10)中の*N*-OH-MDMAの経時的変化

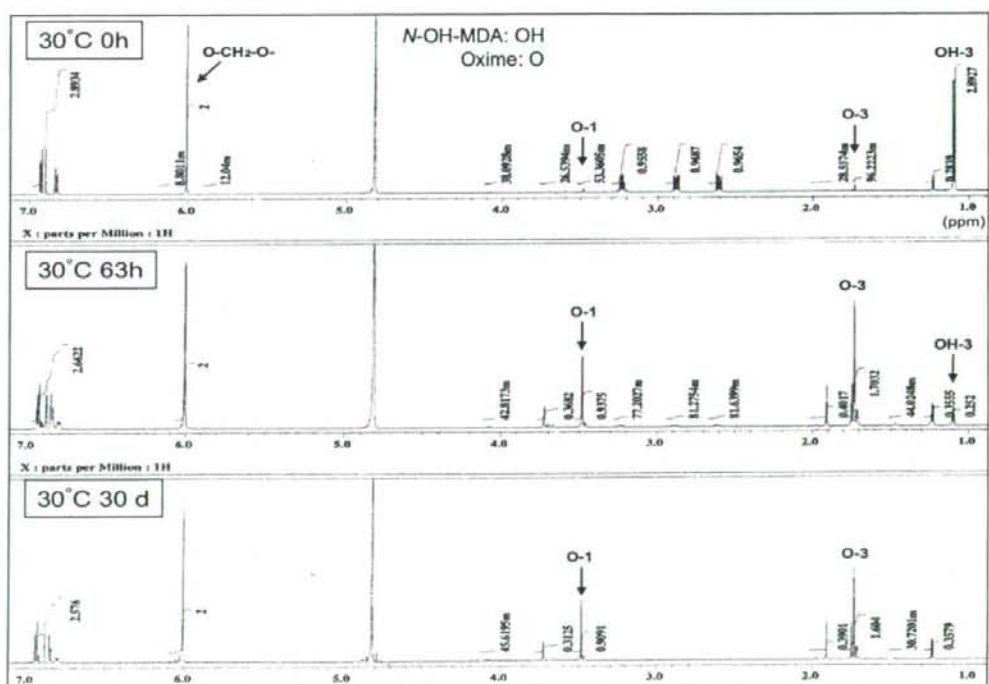


Fig. 4 酸素条件下におけるNaODアルカリ溶液(pH 9-10)中の*N*-OH-MDAの経時的変化