

200940018B

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

乱用薬物の分析・同定に関する研究

平成 19 年度～21 年度 総合研究報告書

(H19-医薬-一般-024)

研究代表者 合田 幸広

平成 22 (2010) 年 3 月

目 次

I.	総合研究報告書	
	乱用薬物の分析・同定に関する研究	
	合田 幸広 1
II.	研究成果の刊行に関する一覧表 19
III.	研究成果の刊行物・別刷 21

乱用薬物の分析・同定に関する研究

主任研究者 合田幸広 国立医薬品食品衛生研究所 生薬部長

平成 18 年、薬事法改正により指定薬物制度が出来、日本における乱用薬物規制は、麻薬・向精神薬取締法（及びあへん法など関連 4 法）による規制、薬事法上の指定薬物による規制、薬事法の「専ら医薬品」による規制の三層構造を持つことになった。平成 19 年 4 月より 31 品目の化合物と 1 品目の植物が指定薬物となったが(平成 21 年 3 月現在 39 化合物 1 植物)、これらのうち、有害性（精神毒性・依存性・乱用のおそれ等）の強さが示されたものは、順次麻薬・向精神薬指定される（平成 19 年以降 3 化合物が指定薬物より移行）。麻薬に指定された場合、単純所持・施用まで法律違反となる。他方、向精神薬や指定薬物の場合には、製造、輸入、販売等の流通は規制されるが、単純所持や使用は禁止されていない。分析的な面で考えると、麻薬の場合、向精神薬や指定薬物とは異なり使用罪が問われるため、生体による代謝物を事前に明らかにして、これらの化合物についての的確に分析できることが重要となる。また、麻薬の場合、罪が重いため、複数の原理による分析法での同定が必須とされる。さらに、植物として規制される場合には、その規制する種の範囲を厳密に規定するとともに、遺伝子情報を利用した分析法が必要となる。このような状況を背景として、本研究は、①既に麻薬・向精神薬取締法（及びあへん法など関連 4 法）で規制されている化合物や植物（菌類を含む）について、薬物の乱用に的確に対応するため、代謝物を検討するとともに合成し、毛髪や尿からの代謝物まで含めた分析と同定方法等について確立する；②新たに麻薬・向精神薬指定される蓋然性の高い薬物（植物を含む）について、指定後の迅速な取締り等に出来るよう、規制範囲の検討や分析法の確立等を行う；③また、麻薬・向精神薬成分を含有する可能性の高い植物について、今後の規制の範囲を検討するため、調査・分析を行うと共に鑑定法の確立を行う；④さらに、乱用薬物の取締りの現場での諸問題に対応が行えるよう、既存の麻薬・覚せい剤・大麻等について分析法の検討を行う等を目的として行われている。

本研究では、①として、近年乱用が問題となっている麻薬 MDMA の代謝物 4-hydroxy-3-methoxymethamphetamine グルクロン酸抱合体の合成、同じく麻薬シロシンおよびシロシピンのグルクロン酸、硫酸抱合体及び、メタンフェタミンの代謝物、*p*-ヒドロキシメタンフェタミン硫酸抱合体を合成することに成功した。さらに、シロシンのグルクロン酸抱合体および覚せい剤メタンフェタミンの代謝物である *p*-ヒドロキシメタンフェタミングルクロン酸

抱合体について、これらの抱合反応を触媒する UDP-グルクロン酸転移酵素の同定を行った。また、向精神薬メチルフェニデート（リタリン）について、動物実験によりメチルフェニデート並びに主代謝物であるリタリン酸及びアルコールとの併用により体内で生成する活性物質エチルフェニデートの血中、尿中、毛髪中の挙動を検討した。さらに、違法ドラッグ市場に流通する異性体 5-MeO-DPT（指定薬物）との摂取識別が困難である麻薬成分 5-MeO-DIPT について、LC-MS/MS を用いた毛髪中及び血漿中の薬物の高感度迅速分析法を開発した。また、麻薬であるクエン酸フェンタニル及びその代謝物であるノルフェンタニルの UPLC-MS/MS を用いたラット生体試料中の分析法を確立した。さらに、近年乱用が報告されている医薬品デキストロメトルファンとその光学異性体である麻薬化合物レボメトルファンについて、毛髪を中心とした生体試料中の高感度識別法を検討した。また、これまで確立した方法を利用し、覚せい剤中毒患者頭髮中薬物の分析を行った。

②としては、平成 19 年 10 月 20 日麻薬となったオリパビンの分析法を確立するとともに、平成 20 年 1 月 18 日より麻薬となった 2C-I について、血中、尿中及び毛髪中薬物の分析法を検討した。また、平成 21 年 1 月 16 日より麻薬となった *N*-hydroxy-MDMA について、各種条件下での挙動を明らかにし、分析法を確立した。さらに、シロシン、シロシビンを含む可能性のある沖縄県自生きのこについて基原種の鑑別を行うとともに、今後麻薬植物として規制される可能性のあるカートの活性本態であるカチノンについて、揮発性イオンペア試薬を用いた分析法の確立を検討すると共に、網羅的合成法によりカチノン類縁体の合成を試みた。

③としては、柱状サボテンから麻薬を抽出しようとする麻薬及び向精神薬取締法違反事犯に対応するため、生鮮状態のサボテン中のメスカリンの迅速分析法を検討した。さらに、今後麻薬指定される可能性のある幻覚性植物の標準試料の確保を目的として、インターネット上の販売店より 4 種の種子を購入し、発芽試験を行った。さらに、幻覚性サボテンである *Lophophora* 属植物について、葉緑体 DNA、*trnL-F* 領域の塩基配列解析を行い、基原種を検討するとともに、LC-MS 分析により mescaline の含有の有無との関係を調べた。次に、核 DNA、GBSSI 領域の塩基配列を行い、本遺伝子領域の幻覚性サボテンの鑑別に対する有用性を評価した。さらに、麻薬である MDMA 等の前駆体 myristicin, safrole 及び elemicin を含有するニクズク科 (*Myristicaceae*) 植物の調査研究を行った。

④では、大麻種子について、発芽試験に代わる簡便で迅速な発芽能力鑑別法としてテトラゾリウム塩 (2,3,5-Triphenyl-2*H*-tetrazolium chloride: TTC) を用いた呈色反応による判別法を確立した。また、同様にケシ属植物種子の TTC を利用した発芽能力鑑定法を確立すると共に、遺伝子情報を利用したケシ属植物の識別法について検討した。さらに、幻覚性サルビアの主活性本態であるサルビノリン A に対するモノクローナル抗体の作成を検討した。

さらに、近赤外分光光度計を用いる乱用薬物の識別法について検討するとともに、異なる分析機関間でガスクロマトグラフ質量分析計(GC-MS)の質量スペクトルデータを相互利用するための基礎的検討を行った。また、LC-MS/MS 及びデータベース検索ソフトを用いる尿中薬物スクリーニング法を検討するとともに、液体クロマトグラフ-リニアイオントラップ型タンデム質量分析計(LC-MS/MS)を用いて尿中薬物の鑑定を迅速化・省力化するための検討を行った。さらに、蛍光誘導体化試薬 DIB-C1 を用いる尿中薬物(フェネチルアミン系化合物及び新規指定麻薬)の迅速確認法を検討した。また、DART-TOFMS を利用して、複雑な抽出操作なしに尿試料から、覚せい剤や MDMA 等を検出する手法を示すとともに、違法ドラッグ製品から検出された大麻成分及び合成カンナビノイド等の定量分析を実施した、

分担研究者

花尻瑠理 国立医薬品食品衛生研究所生薬部室長

代田 修 徳島文理大学香川薬学部準教授

福原 潔 国立医薬品食品衛生研究所有機化学部室長

A. 研究目的

現在、麻薬・向精神薬取締法、あへん法、覚せい剤取締法等で厳しく規制されている薬物はすでに 250 種類以上もある。乱用薬物の世界では、その段階で法規制されていない新規に合成された類縁体や植物類(菌類を含む)などが順次出回ることが続いている。このような乱用薬物の多様化に伴い、年度毎に麻薬指定される化合物の数が増加しており、平成 14 年度からの平成 18 年度までの 4 年間で、13 化合物が新規に麻薬指定され、別にモダニフィルが第一種向精神薬、サイロシン、サイロシピンを含むきのこ類が麻薬原料植物に指定され、さらに、平成 19 年度では、新たに 4 化合物が麻薬指定、平成 20 年度は、N-OH-MDMA が麻薬指定された。これらの薬物を麻薬指定するためには、事前に、分析法の開発、国内の流通実態調査、諸外国の法規制状況並びに実態の調査、鑑識用麻薬標準

品の準備等が行われている。他方、国民の健康被害や社会的弊害をなくす観点から、新規薬物については精神毒性・依存性・乱用のおそれ等の有害性が明らかになった段階で緊急性に基づき続き麻薬指定されることになる。従って、生体での代謝や代謝物について明確でない段階で指定される場合が多く、必然的に、生体試料についての分析・同定法は確立されていない場合がほとんどである。また、また、植物には様々な形で麻薬・向精神薬成分を含むものが知られているが、植物系薬物の場合、法規制する際には、規制の範囲をどのように設定し、どのような分析法で法規制と対応するかが非常に重要な問題となる。事実平成 18 年に出来た指定薬物制度では、様々な植物系乱用薬物中サルビア・ディビノラムの 1 品目のみが指定されたが、これは天然物を法指定する困難さを端的に反映したものと見える。今後、随時、植物系の薬物が指定薬物に指定され、さらに精神毒性・依存性・乱用のおそれ等の有害性が明らかになった段階で、麻薬・向精神薬に再指定されることが予想されるため、規制の範囲と、規制範囲に対応した分析法の事前検討が課題となっている。

本研究では、このような背景の下、①既に麻

薬・向精神薬取締法（及びあへん法など関連4法）で規制されている化合物や植物（菌類を含む）について、薬物の乱用に的確に対応するため、代謝物を検討するとともに合成し、毛髪や尿からの代謝物まで含めた分析と同定方法等について確立する；②新たに麻薬・向精神薬指定される蓋然性の高い薬物（植物を含む）について、指定後の迅速な取締り等に出来るよう、規制範囲の検討や分析法の確立等を行う；③また、麻薬・向精神薬成分を含有する可能性の高い植物について、今後の規制の範囲を検討するため、調査・分析を行うと共に鑑定法の確立を行う；④さらに、乱用薬物の取締りの現場での諸問題に対応が行えるよう、既存の麻薬・覚せい剤・大麻等について分析法の検討を行う等を目的として行われている。本研究は、日本における監視指導・麻薬行政と密接な連携を経ながら遂行される。従って、日本の乱用薬物実態に即した研究が行われるところに、本研究の特色がある。

B. 研究方法

MDMA の代謝物 4-hydroxy-3-methoxy-methamphetamine (HMMA) グルクロン酸抱合体の合成は、化学合成及び酵素合成法にて行った。酵素としては、Arcolor 誘導型肝ミクロゾームを用いた。シロシンおよびシロシビンのグルクロン酸、硫酸抱合体の合成には、Arcolor 誘導型肝ミクロゾームを用いた酵素合成、Pyridine sulfur trioxide complex を用いた化学合成を検討した。p-ヒドロキシメタンフェタミン (p-OHMA) 硫酸抱合体の合成には、ピリジン中の p-OHMA に Pyridine-sulfur trioxide complex を添加し、50 °C で反応させ、残渣を HPLC 及び再結晶にて精製し得た。

また、向精神薬メチルフェニデート（リタ

リン）代謝物分析及び、5-MeO-DPT（指定薬物）麻薬成分 5-MeO-DIPT の識別分析及びクエン酸フェンタニル及びその代謝物であるノルフェンタニルの生体試料からの分析、医薬品デキストロメトルファンとその光学異性体である麻薬化合物レボメトルファンの生体試料からの分析には、UPLC-MS/MS を用いた。なお、光学異性体の分離には、Chiral CD-Ph column を利用した。

覚せい剤中毒患者頭髪中薬物の分析は、国立医薬品食品衛生研究所研究倫理委員会で承認された方法に従い、独立行政法人国立病院機構下総精神医療センターにおいて採取した覚せい剤乱用患者の頭髪試料を使用した。試料の分析は、過去にバリデーションされた GC/MS を使用する方法で行った。

オリパビ及びビンの分析法としては、呈色反応、TLC, UV, IR, HPLC 及び GC-MS について検討した。2C-I の生体試料分析は、固相抽出後、GC-MS を利用した。N-hydroxy-MDMA の分析法としては、呈色反応、TLC, IR, HPLC (LC-MS) 及び GC-MS について検討した。沖縄県自生きのこの同定は、DNA を抽出、精製し、塩基配列データベースに収載されているきのこの ITS1 および LS 領域の塩基配列との相同性に基いて行った。カートは、(独) 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より供与された株を2年間生育させたもの及び徳島文理大学で所有の株を3年間生育させたものを用いた

柱状サボテンからのメスカリンの分析には、GC/MS を使用した。園芸市場に流通する *Lophophora* 属植物の遺伝子解析は、葉緑体 DNA, *trnL-F* 領域及び核 DNA, GBSSI 領域について行った。ニクズク科 (Myristicaceae) 植物の調査研究には SciFinder 2007 を利用した。

大麻種子及びケシ属植物の簡便で迅速な発芽

能力鑑別法開発には、テトラゾリウム塩 (2,3,5-Triphenyl-2*H*-tetrazolium chloride: TTC)を用いた呈色反応を利用した。また、遺伝子情報を利用したケシ属植物の識別法では、医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター筑波研究部において栽培、収穫された、一貫種、フランクフルト、ローマ3号-2、トルコ2-1、イラン1、インド6、(以上、ソムニフェルム種)および、セチゲルム種(朱)の7(品)種を用いた。対照には、発芽防止処理として、各種子をオートクレーブ処理したものを使用した。また簡易識別法開発のため、Whatman社製FTA® Plant Card (FTAプラントセーバーカード、以下FTAカード)を使用した。

サルビノリンAは、幻覚性サルビアより単離したものをを用いた。モノクローナル抗体作成のための細胞融合には、マウス骨髄腫細胞P3/NS1/1-AG4-1(NS-1)を用い、免疫動物にはマウスBALB/cを使用した。

近赤外分光光度計としては、システムエンジニアリング製PlaScan-Wを用いた。また、メタンフェタミン、MDA、TMA-2、2C-T-4、2C-T-7及びそれらのTFA誘導体を用い、代表的な3社の四重極型質量分析計8台を使用して同一試料の質量スペクトルを測定し、同一機種内及び異なる機種間でのスペクトルパターンと個々のイオン強度比の比較を行った。LC-MS/MSデータベース検索ソフトによるデータ解析には、薬毒物スクリーニング・定量解析用ソフトであるCliquid™を用い、ライブラリ検索及び自動レポート化を実施した。さらに、Analyst™を用い、個別の化合物ごとに目視でピーク及びスペクトルを確認した。

また、蛍光検出HPLCに用いる尿中薬物蛍光誘導体化試薬としては、4-(4,5-diphenyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzoyl chloride (DIB-Cl)を

使用した。

DART-TOFMSとしては、日本電子製AccuTOF™ DARTを使用した。大麻成分等の同定、定量には、ESIポジティブイオン化UPLC-MSを用いた。

<倫理面への配慮> 麻薬・覚醒剤・向精神薬等の依存性薬物の中毒患者試料からの分析に関しては、試料の採取及び取り扱いについて十分に討議し、説明文及び同意書等を作成し、国立衛研の研究倫理審査委員会の審査を受け、承認を受けたところである。また、動物実験を行う際には、実験動物に対して各所属機関の動物実験倫理委員会の定める規定に則り、動物愛護上の配慮を行った。

C. 結果と考察

C.1 MDMA代謝物の合成

近年乱用が問題となっている麻薬であるMDMAは薬物代謝の第1相反応によって3,4-メチレンジオキシ部分がカテコール構造へと酸化された後、3位の水酸基がメチル化された4-hydroxy-3-methoxymethamphetamine (HMMA)が主な代謝物として生成する。HMMAはさらに第2相反応によって抱合体へと代謝されることが報告されている。しかし、抱合体は化合物の合成の困難なことから標品がなく、被疑者特定の為の検出対象として利用されていない。そこで本研究ではHMMAのグルクロン酸抱合体(HMMA-Gluc)の合成について検討し、高収率で目的とするβ-アノマーを位置選択的に合成できる化学法と酵素法を確立した。酵素法については、数種類のミクロゾームについて速度論的解析を行った結果、Arcolor誘導型肝ミクロゾームが大量合成に有効であることを明らかにした。酵素法による合成は化合物の大量合成に適していない場合が多いが、本反応の場合、10

ml の反応スケールで 13.2 mg の HMMA-Gluc が確認された。よって、大量合成に十分対応できる反応であると考え、本法により大量合成を行った結果 500 mg の HMMA-Gluc が得られた。

C.2 シロシン (psilocin) およびシロシビン (psilocybin) 代謝物の合成

シロシビン、シロシンはマジックマッシュルームなどのキノコ類に含まれる幻覚成分である。体内に取り込まれることでシロシビンはリン酸基部分が加水分解されてシロシンへと代謝される。さらに、シロシンは 4 位の OH 基が第 II 相代謝酵素により抱合化され、第 II 相代謝物として体外に排泄される。現在、これら幻覚成分を含むキノコ類の摂取の有無を鑑定する方法としては、加水分解処理した尿サンプル中からのサイロシンの分析が行われている。もし、尿サンプル尿を直接分析して第 II 相代謝物を検出できれば、感度の向上、分析時間の大幅な短縮が可能となる。そこで、本研究では、標品として用いるためのシロシンの第 II 相代謝物としてシロシングルクロン酸抱合体とシロシン硫酸抱合体の合成を行った。MDMA のグルクロン酸抱合体の合成経験から、本化合物の合成も Aroclor 1254 誘導ラット肝ミクロゾームを用いた酵素合成法が有効であるものと考え、本法を適用した。その結果、シロシンを pH 7.5, MgCl₂, alamethicin, UDPGA を含む溶液中で、Aroclor 1254 誘導ラット肝ミクロゾームを酵素原として添加し、10 mM/10 ml のシロシンを 37°C, 20 時間のインキュベートすることによって、収率 19% でグルクロン酸抱合体を合成することができた。さらに収率を改善する方法を見出すため、反応系に添加するミクロゾームの検討を行った。入手可能な薬剤誘導ミクロゾームを添加してグルクロン酸抱合体の生成を検討した結果、β-ナフトフラボン誘導

ラット肝ミクロゾームを用いると Aroclor 1254 誘導ラット肝ミクロゾームと比べて 1.3 倍の収率向上が見込めることがわかった。一方、他の誘導剤で処理したミクロゾーム (Clo, Dex, Phe, Iso) を用いた場合は収率が低下することが判った。シロシビン、シロシンの第 II 相代謝物としてはシロシンのグルクロン酸抱合体が同定されているが、硫酸抱合体など、他の抱合体に関する報告はこれまでのところない。これは加水分解等の後処理により、シロシン硫酸抱合体が分解し、検出されていないという可能性が考えられる。従って、もし尿成分を直接解析して第 II 相代謝物の情報を得ることができれば、グルクロン酸抱合体以外の抱合体からも幻覚キノコ摂取の有無について証明可能となる。そこで、引き続きの硫酸抱合体の合成についても検討を行った。その結果、シロシンに Pyridine sulfur trioxide complex を反応させたところ、収率 43% で硫酸抱合体を得ることに成功した。

C.3 代謝経路に関与する UDP-グルクロン酸転移酵素の同定と *p*-ヒドロキシメタンフェタミン (*p*-OHMA) 硫酸抱合体 *p*-OHMAS の合成

12 種のヒト UGT アイソザイム (UGT1A1, 1A3, 1A4, 1A6, 1A7, 1A8, 1A9, 1A10, 2B4, 2B7, 2B15, and 2B17) を用いてスクリーニングを行ったところ、シロシンのグルクロン酸抱合化に関しては UGT1A8 および UGT1A9 が、メタンフェタミンに関しては UGT1A9, UGT2B15 が高い活性を示した。次いで、これらアイソザイムの各基質に対する速度論的パラメーターも算出した。その結果、シロシンのグルクロン酸抱合化に関し、UGT1A8 の V_{max} および K_m は 1.3 nmol/mg/min, 21 mM, UGT1A9 の V_{max} および K_m は 3.7 nmol/mg/min, 24 mM と算出された。また、メタンフェタミンに関し、UGT1A1 および UGT2B15

は Michaelis-Menten プロットにのり、前者の V_{\max} は 0.026 nmol/mg/min, K_m は 4.9 mM, 後者の V_{\max} は 0.43 nmol/mg/min, K_m は 16.2 mM であった。一方, UGT1A9 は Michaelis-Menten プロットにのらないことから, UGT1A1 や UGT2B15 とは異なる反応様式であることが明らかとなった。

次に, *p*-OHMAS の合成を行い, HPLC で精製を行ったところ, 収率 8.5% で *p*-OHMAS を合成する異が可能となった。本反応は定量的に進行することから, 低収率は反応後の精製過程に問題があることが考えられた。そこで, 収率の向上を目指して, 再結晶による精製を試みた。その結果, 99% の純度の *p*-OHMAS を 54% の収率で得ることができた。

C.4 アルコール併用メチルフェニデート (リタリン) 投与ラットにおける毛髪中薬物の UPLC-MS/MS を用いた高感度迅速分析法の開発

まず, 薬物投与ラット毛髪から, メチルフェニデート (MPH), MPH の代謝物リタリン酸 (RA) 及びエタノール併用の指標となるエチルフェニデート (EPH) の同時抽出法を検討した。その結果, 超音波抽出下酵素消化法により, 複雑な操作をすることなく, 30 分間という極めて短い時間で, 効率よく抽出できることが明らかとなった。次に固相抽出カラムにより尿, 血液, 毛髪抽出物中の MPH, RA, EPH の 3 化合物を同時精製する条件を検討した。その結果, Oasis HLB を用いてメタノール/ 5M 塩酸 (20 : 1) 溶液で溶出する条件において, 最も高い回収率が得られた。さらに UPLC-MS/MS により, 尿, 血液, 毛髪抽出物中の MPH, RA, EPH の 3 化合物を, 高感度に (毛髪試料中の検出限界 RA 5 pg/mg, MPH 及び EPH 1 pg/mg) かつ迅速に (6 分以内) に定量分析する方法を検討し, 1% Formic acid / CH₃CN with 1% Formic acid 80/20

を移動相とし, ACQUITY UPLC HSS T3 をカラムとして使用する系で良好な結果を得た。以上確立した系を用い, MPH 単独及びエタノール併用 MPH 投与ラット尿及び血漿中の分析を行った。その結果, 主代謝物は RA であったが, 毛髪中では MPH が最も高い値を示し, RA 濃度は血中, 尿中濃度を考慮すると極めて低い事が判明した。また, エタノール併用 MPH 投与ラット尿, 血液, 毛髪中から EPH が検出された。EPH は, 尿中からは 0-24 時間に極少量検出されただけであったが, 毛髪中からは MPH の 1/50 程度検出された。毛髪試料中から MPH と共に RA 及び EPH を検出した例は, 本研究が初めてである。臨床的にアルコールは MPH の精神神経系の作用を増強させることが知られており, MPH と共に EPH を毛髪試料中から検出することで, MPH 中毒患者の治療方針に有用な情報をもたらす可能性が考えられる。

C.5 麻薬 5MeO-DIPT 及び指定薬物 5MeO-DPT の生体試料からの高感度迅速分析法の開発

麻薬である 5MeO-DIPT 及びその異性体 5MeO-DPT (指定薬物) の LC/MS/MS を用いたラット毛髪中及び血漿中の高感度迅速分析法を開発し, 両化合物の摂取識別法を検討した。UPLCカラムを用いることにより, GC/MSでは困難であった十分に分離した迅速な分析 (5MeO-DIPTの保持時間3.8分及び5MeO-DPTの保持時間5.0分) が可能となった。さらに, m/z 275 からの m/z 86 の選択イオンは, 5MeO-DPT にのみ観測され, 保持時間と共に薬物の同定に役立つものと考えられた。次に前処理法について検討したところ, メタノール/5M塩酸 (20/1) 溶液による抽出後, 固相抽出をおこなうことで, 毛髪中の 5MeO-DIPT 及び 5MeO-DPT とともに精度良く分析できることが判明した。また, 血漿中からは, 緩衝液で希釈して, 固

相抽出により精製する方法で精度良く分析することが明らかとなった。次に、薬物投与ラットの毛髪中及び血漿中薬物濃度より、従来から薬物の毛髪への移行性の指標とされている血中濃度時間曲線下面積 (AUC) 値に対する毛髪中薬物濃度の比 [Hair]/AUC値 (ICR値) を算出した。その結果5MeO-DIPT及び5MeO-DPTの値はそれぞれ0.40及び0.35と比較的高い値を示し、血中から毛髪への移行性が高いことが示された。よって、5MeO-DIPT及び5MeO-DPT使用歴を推定するための手段として毛髪分析は適しており、本法により、ヒト試料においても、麻薬である5MeO-DIPTと5MeO-DPTの摂取識別が可能であると考えられた。

C.6 麻薬クエン酸フェンタニル及びその代謝物ノルフェンタニルの生体試料からの分析

近年、医療従事者による違法な摂取が報道された麻薬クエン酸フェンタニル及びその代謝物であるノルフェンタニルの UPLC-MS/MS を用いたラット毛髪中の分析法を検討した。超音波抽出下酵素消化法の緩衝液、抽出温度、抽出時間を最適化することにより、クエン酸フェンタニル及びノルフェンタニルの毛髪中の分析法として、迅速な分析が可能となった。また、メタノール/5M 塩酸 (20/1) 溶液による抽出後、固相抽出により精製する方法で、毛髪中のフェンタニル及びノルフェンタニルともに精度良く分析することができた。さらに、酵素消化法による抽出でも同様に精度良く分析することができた。薬物投与 DA ラット (1mg/kg を 10 日間連続して腹腔内投与したもの) の毛髪中より、フェンタニル 50.9 - 67.1 ng/mg hair 及びノルフェンタニル 1.81 - 4.12 ng/mg hair 検出された。また、低濃度薬物投与 (0.1mg/kg) ラットの毛髪中より、フェンタニル 3.72 - 6.58 ng/mg hair, 及びノルフェンタニル 0.15 - 0.37

ng/mg hair 検出された。さらに、血漿試料についても毛髪試料と同一の精製法を適応し、精度良く分析できることが確認された。薬物投与ラットの毛髪中及び血漿中薬物濃度より、従来から薬物の毛髪への移行性の指標としていた ICR 値 (薬物毛髪中濃度/薬物血中濃度) をクエン酸フェンタニルについて算出したところ、値は 0.22 ± 0.01 であった。代表的な乱用薬物の同値は、11-tetrahydrocannabinol-9-carboxylic acid の約 0.001 からコカインの約 3.6 まで幅広い値を示す。フェンタニルの値は、比較的大きなものであり、同化合物は毛髪分析に適した薬物であると考えられた。

C.7 デキストロメトルファン及びレボメトルファンの LC-MS/MS を用いた光学異性体分析

Chiral CD-Ph column を用いた分析において、両異性体及び各々の代謝物は 12 分以内に良好に分離し、毛髪試料 10 mg を用いた際の本分析法における各化合物の検出限界は 0.025 ng/mg であった。両異性体を投与した雄 DA ラットにおける未変化体、*O*-脱メチル体、*N*-脱メチル体、*O,N*-脱メチル体の血漿中濃度及び AUC 値、尿中排泄量、毛髪中濃度を測定した結果、*O*-グルクロン酸抱合体を酵素処理してフリーの状態にした場合、両異性体投与で *O*-脱メチル体と *N*-脱メチル体の濃度比が大きく異なり、光学選択的な代謝が考えられた。Dextrometorphan 投与 DA ラット毛髪中では、未変化体、*O*-脱メチル体、*N*-脱メチル体、*O,N*-脱メチル体の濃度はそれぞれ 63.4, 2.70, 25.1, 0.70 ng/mg (100:4:40:1) であったが、levomethorphan 投与 DA ラットでは 24.5, 24.6, 2.57, 0.49 ng/mg (100:100:10:2) であり、光学異性体分析を行わなくても代謝物比から両異性体の摂取識別が検討できる可能性も考えられた。

C.8 覚せい剤中毒患者頭髪中薬物分析

医療機関で採取された覚せい剤乱用患者の頭髪試料について、1 cm ごとに分画し、メタンフェタミン (MA) 及び代謝物アンフェタミン (AP) 濃度を測定して、頭髪中の薬物の分布状態を検討した。その結果、頭髪試料の根元から 2-3 cm の画分をピークとして、主に 1-6 cm の画分を中心に覚せい剤 MA 及び代謝物 AP が検出された。個人差や採取部位の差、また各頭髪の成長段階の差等があるが、通常、頭髪は 1 ヶ月に 1.1 cm 程度成長することが報告されている。頭髪試料が患者の頭皮より 5 mm 程度の部位から採取されたことを考慮すると (さらに頭皮より毛根の先端までは 5 mm 程度)、試料採取の 3-4 ヶ月前頃をピークとして、主に 2~6 ヶ月前に覚せい剤に接していた可能性が考えられた。

C.9 オリパビン (oripavine) の分析法の確立

平成 19 年 10 月 20 日麻薬となった本化合物について、呈色反応、TLC、UV、IR、HPLC 及び GC-MS の分析データを示した。また、他の代表的なアヘンアルカロイド化合物 (morphine, codeine, thebaine, noscapine, papaverine) との識別法を示した。なお、本結果をもとにした分析法が、向精神薬分析マニュアルの一環として、平成 19 年度、ケタミン (ketamine) と合わせて監視指導麻薬対策課に提出された。

C.10 2C-I 投与ラットにおける血漿、尿及び毛髪中の薬物

2C-I 投与ラットにおける GC-MS を用いた生体試料中薬物分析法及び生体内挙動 (血中、尿中、毛髪中) を検討した。その結果、2C-I はラット毛髪中から高濃度 (58.7 ± 9.4 ng/mg) 検出され、ICR 値も他化合物と比較すると極めて高い値 (9.8) を示した。よって、2C-I の毛髪への移行性は極めて高いことが明らかとなった。従って、ヒト試料の場合でも毛髪分析

を行うことで 2C-I の使用歴を推定することができるものと考えられた。動物実験モデルを用いた検討より、我々は、アンフェタミン構造のベンゼン環にメチレンジオキシ基やメトキシ基が導入された化合物は、アンフェタミン (ICR 値=0.10) と比較して、高い ICR 値を示す傾向があることを報告している。今回極めて高い値を示した 2C-I はフェネチルアミン構造のベンゼン環に 2 つのメトキシ基をもち、これまでの知見を良く支持している。本化合物にはメトキシ基の他にも 4 位にハロゲンが導入されているが、このハロゲンも ICR 値にポジティブな影響を及ぼしている可能性も考えられる。今後さらに同様の骨格に臭素が導入された 2C-B や 2,5-dimethoxyamphetamine (DMA) 等、他の構造類似麻薬についても引き続き検討を行うことで、ICR 値と構造の関係がより明確になるものと推定される。

C.11 *N*-hydroxy-MDMA (*N*-OH MDMA) の分析法について

平成 20 年度に新しく麻薬に指定された化合物 *N*-OH MDMA について、呈色反応、TLC、IR、HPLC (LC-MS) 及び GC-MS の分析データを示し、構造類似麻薬である MDMA、MDA、*N*-OH MDA との識別法を示した。MDMA 及び MDA の *N*-水酸化体は、GC-MS 分析において、熱等により分解し、脱 *N*-水酸化体、脱 *N*-メチル体である MDMA や MDA が主に検出されるので注意が必要である。また、中性から塩基性の緩衝溶液中では極めて安定性が悪く、試験溶液を塩基性にして有機溶媒で液-液抽出する方法では効率よく抽出することが困難であると考えられた。また、弱塩基性である尿中におけるこれら化合物の安定性も悪いことが予想され、尿試料保管には酸性下低温条件が必要と考えられた。さらに、MDMA 及び MDA の *N*-水酸化体は、生体内では速やか

に代謝されて主に脱 *N*-水酸化体として検出されるため、MDMA や MDA 摂取と混同されやすく、分析鑑定には注意が必要だと思われた。

C.12 沖縄県自生きのこの基原種鑑別

シロシン、シロシピンを含有する可能性のある沖縄県自生きのこについて、DNA を抽出精製し、ITS 及び LS 領域を用い、基原種鑑別を行ったところ、概ね、採取者の形態観察による同定と一致した(ヒカゲタケ、ミナミシビレダケ)。一方、アイゾメヒカゲダケ (*Copelandia* (*Panaeolus*) *cyanescens*) と形態観察から推定された試料は、同種である可能性も完全には否定できないが、*Panaeolus cambodginiensis* であると考えられた。データベースに報告されていない種 (ツヤマグソタケ *Anellaria antillarum* を形態観察から本種と同定) に関しては、明確な判定を示すことができなかった。また、同一配列が 3 種で報告されている点や、1 箇所配列領域のみを報告している種など、また、データベースに不十分な点が多くみられることが判明した。従って、今後、きのこの塩基配列による種鑑別を行う際は、データベースの更なる充実が必須であるものと考えられた。

C.13 カチノン及びエフェドリン類の合成と分析

当初計画したカチノンの合成ルートは、ベンゼン環に *L*-アラニンから由来するキラルなアミノケトン部分をフリーデル-クラフツ反応により導入するものであった。しかし、この反応は、不活性なベンゼンに対しては容易には進まず、望むような収率ではカチノン保護体を得ることが出来なかった。そこで、市販品が容易に入手可能なノルエフェドリンを用いる合成ルートへ変更した結果、ある程度の収率でカチノン塩酸塩を得ることが可能となった。一方関連する全エフェドリン類は、ノルエフェドリンを

全ての開始物質とすることで、問題なく合成することが出来た。次に、エフェドリン類について、検出器として LC/MS よりも安価な荷電化粒子検出器 (CAD) を用いた HPLC 分析の条件を検討した。CAD は、分析成分を球状微粒子とし、コロナ電極により荷電化されたプラスの窒素イオンと衝突させることで分析成分粒子をプラスに帯電させ、この電荷量を電流値として測定することを原理としている。そのため、その化学構造や性質に関わらず不揮発性成分の検出が可能となる。分析には、揮発性イオンペア試薬として、トリフルオロ酢酸 (TFA)、ペンタフルオロプロピオン酸 (PFPA)、およびヘptaフルオロ酪酸 (HFBA) を用いた。移動相は、揮発性イオンペア試薬をそれぞれ 5, 10, 20 mM に調製した水性溶離液とアセトニトリルとの混合溶液を用いた。また、一般的な ODS カラムにて分離を行った。その結果、フルオロカーボン側鎖が一番長い HFBA を用いたときエフェドラルアルカロイドの保持が一番強く、イオンペア試薬として TFA を用いた場合に、6 本のピークとして検出できることが判明した。また、水性溶離液の割合が大きいほど、検出感度が下がる傾向が見られた。15 mM TFA を用いた場合に分離が最適となった。また、簡易な分析条件として、0.1% TFA を用いた場合、エフェドラアルカロイド検出限界は 16.7 pmol (2.5~3 ng) であった。次に、揮発性イオンペア試薬を添加した移動相による逆相 HPLC でのエフェドラアルカロイド一斉分析の条件を用いカートの分析を行ったところ、HPLC-CAD においては、他の成分との重なりのためにカチノンの検出が困難であることが判明した。UPLC-MS においては、MS による成分の判別が可能となったものの、この条件下でのカチノンの存在が確認できなかった。今後、本当にカチノンが存在しな

いのか確認するため、より感度の良い条件の設定を検討する予定である。

C.14 幻覚成分含有サボテンの鑑定分析法の検討

柱状サボテンから麻薬を抽出しようとする麻薬及び向精神薬取締法違反事犯に対応するため、生鮮状態のサボテン中のメスカリンを迅速に分析する方法を検討した。その結果、1%酢酸を抽出溶媒として用いることで、効率よく容易にメスカリンを抽出することができ、HPLCによる定量結果も良好である事が判明した。また、当該抽出溶液を、酢酸エチルで、液-液抽出することでGC/MSによる定性分析においても良好な結果を得ることができた。本法を用いて、パチャノイ、烏羽玉、銀冠玉と称して販売されていたサボテン中のメスカリンを定量したところ、パチャノイ：0.3～0.9 mg/g、烏羽玉：1.9 mg/gであり、銀冠玉からメスカリンは検出されなかった。

C.15 幻覚性植物の標準試料の系統保存

幻覚性植物の標準試料の確保を目的に、インターネット上の販売店より4種の種子を購入し、発芽試験を行った。発芽した2種のマメ科植物のうち、1種は、形態学的特徴及びDNA配列解析の結果から、販売店の記載通り、*Mimosa hostilis* であると同定された。残る1種もDNA配列解析の結果から、販売店の記載通り、*Desmanthus* 属植物であると推定されたが、種の同定には、至らなかった。

C.16 幻覚性サボテンの基原種と mescaline の有無について

園芸市場に流通する *Lophophora* 属植物について、葉緑体 DNA, *trnL-F* 領域の塩基配列解析を行い、基原種を検討した。その結果、主に4つの遺伝子型に大別され、それぞれが、microsatellite 領域の繰り返し塩基数の違い

に基づき、さらに細分類された。さらに LC-MS 分析により、mescaline の含有の有無について調べたところ、*L. diffusa* 及び *L. williamsii* var. *decipiens* 型の遺伝子型を持つものは、mescaline を含有しないことが判明した。一方で、*L. williamsii* 型の遺伝子型を持つものでも、一部の個体には、mescaline を検出出来ないものが認められた。これまで、形態学的に *L. williamsii* と考えられていた植物(烏羽玉)は、mescaline を含有すると信じられていた。しかしながら、同領域の特徴で *L. williamsii* 型と判断される植物では、遺伝子型と幻覚性成分の成分型に、必ずしも相関関係がある結論づけることは出来なかった。そこで、次に核 DNA, GBSSI 領域の塩基配列を行い、本遺伝子領域の幻覚性サボテンの鑑別に対する有用性を評価した。その結果、調査を行った試料の多くで、複数の遺伝子型が検出された。また、得られた塩基配列の一部を用いて分子系統解析を行ったところ、葉緑体 DNA, *trnL-F* 領域の塩基配列から判断された基原植物との相関性は見られず、GBSSI 領域の塩基配列は、種の鑑別の目的には不向きであると考えられた。しかしながら、単一個体の塩基配列が、多数の遺伝子型で構成されていることから、その遺伝子型の構成を調査することで、薬物事犯の際の事故品のトレーサビリティ(追跡可能性)の向上に寄与すると思われた。

C.17 麻薬の前駆体である myristicin, safrole 及び elemicin を含む ニクズク科 (*Myristicaceae*) 植物の調査研究

向精神作用を期待しての乱用が問題となっているナツメグ (*Myristica fragrans* Houtt.) の主成分である芳香族化合物の safrole, myristicin, elemicin について、これら成分を含有するニクズク科 (*Myristicaceae*) 植物

について文献調査を行った。その結果, safrole は 4 種の植物 (*M. fragrans*, *M. succedanea*, *M. argentea*, *M. muelleri*) に, myristicin は前 3 種に, elemicin は前 2 種に含まれていることが明らかとなった。

C. 18 大麻種子の発芽能力鑑定法の確立

近年, 大麻事犯は増加の一途をたどり, 特に大麻栽培による検挙者の増加も顕著である。そこで発芽試験に代わる簡便で迅速な発芽能力鑑別法としてテトラゾリウム塩 (2, 3, 5-Triphenyl-2*H*-tetrazolium chloride: TTC) を用いた呈色反応による判別法の確立を試みた。種子の発芽能力を検討する方法としては, その種子が最低限, 生きていのかどうかを確認することが必要となる。そこで細胞中に存在する呼吸系還元酵素の活性の有無を指標とした。細胞の生死判別を指示薬による呈色反応で検査する方法は多数存在しているが, 簡便性と正確性においてテトラゾリウム塩類が優れていると考えられる。本反応は生きた細胞や組織が有する酵素による還元力を利用 (二次反応) したものである。そこで, この酵素反応の至適条件を検討するために, 反応温度, 時間および pH について検討した。その結果, 温度は 40~50℃の間で最大活性が得られることがわかった。また, pH 8~9 付近で活性は最大となり, pH 9.0, 45℃の条件では, 20 分で種子の発芽能力が十分に確認できる事が明らかとなった。試験研究機関以外の場所での, 目視による迅速簡易鑑別という点では, 反応指示液そのものが無色透明であること, その反応 (判定) 産物が水に不溶であること, 陽性, 陰性の差が色の違いではなく有無であること, 誤判定を回避するために, 反応産物の色が植物本来の組織の色と異なること等があげられる。これらの点を踏まえると, 今回用いた TTC は大麻種子判定試験において最

も有効な試薬の一つであると考えられた。また, これまでに, 栽培用大麻種子以外の大麻種子の追試及び確認試験として, 生薬「マシニン」および商業用輸入大麻種子においても同様の実験を行ったが, 明確な判定結果を得られている。なお, 近年の大麻所持犯の検挙の増加から, 本研究成果は, TV 等のマスコミの注目を浴び, 何件かの取材を受けている。また, 麻薬取締部の鑑定官研修等で具体的な手法について説明を行った。

C. 19 ケシ属植物種子の発芽能力鑑定法の確立

次に, 前項で確立したテトラゾリウム塩による発芽能力鑑定法が, ケシ属植物種子にも応用可能か検討した。各種テトラゾリウム塩類試薬を用い検討したが, TTC がケシ属植物種子においても誤判定の危険性が少なく判定できるものと考えられた。最適化された方法は以下の通りである。前処理として 45℃30 分の加温, 種子を押しつぶし胚組織を露出させ, 2% TTC 溶液 (pH8.0), 45℃, 40 分の加温し, 試薬による種子の発色を観測する。

C. 20 遺伝子情報を利用したケシ属植物の識別法の開発

ヒナゲシとアツミゲシ由来の 4' OMTg クローンの塩基配列情報の詳細解析の結果, 両植物種の識別に利用可能と考えられる塩基配列の相違点が見出された。そこで, 各植物種由来のクローンに特異的にアニールするプライマーを設計し, 両植物の PCR 識別を試みた。その結果アツミゲシ特異的なプライマーではアツミゲシより抽出したゲノム DNA を鋳型としたときのみ, また, ヒナゲシ特異的プライマーではヒナゲシより抽出したゲノム DNA を鋳型としたときのみ, 増幅産物を与え, すなわち, PCR 法による識別が可能であることが明らかとなった。

次いで、簡易識別法として、FTA カードを利用した識別法について検討した。FTA カード吸着 DNA を鋳型とし、PCR 反応を阻害する狭雑物の影響に耐性が高いとされる PCR 用バッファ Ampdirect Plus を使用して PCR を行ったところ、ヒナゲシ特異的プライマーセットではヒナゲシの特異的な識別はできなかったが、アツミゲシ特異的プライマーセットでは、アツミゲシを鋳型とした場合のみに特異的増幅産物を与え、両植物の識別が可能であることが示された。さらに、ここで用いたアツミゲシ特異的プライマーの塩基配列は、ケシにも存在することが明らかになったため、本手法により、栽培規制対象であるアツミゲシ及びケシを、一般栽培可能なヒナゲシと識別することが可能であることが判明した。

次に、ケシとアツミゲシの遺伝子判別について検討した。その結果、134-10r 特異的なプライマーセットを用いることで、ケシの 4 種を PCR の鋳型とした場合は増幅産物が認められず、アツミゲシの 3 種を鋳型とした場合のみ、特異的増幅産物が得られることが判明し、両者の遺伝子識別が可能であることが明らかとなった。

C.21 Salvinorin A に対するモノクローナル抗体の作成

Salvinorin A の認識を目的とするモノクローナル抗体の作製を行ったが、得られた二種の抗体は同化合物と良好な特異的反応性を示さず、同化合物を含むタンパク質構造を認識することが判明した。今後、抗体がどのような構造を認識しているのかを解明するとともに、同化合物特異的な反応性を示す抗体の作製を引き続き検討する予定である。

C.22 近赤外分光光度計を用いる乱用薬物の分析法の検討

近赤外分光光度計は他の光学機器より振動に

強く、車での移動に耐えるので現場試験に適している。また、透過度が高いので非破壊検査法として、サイズの大きな試料でもそのまま測定できる利点を有する。本研究では主に薬物の標準品を試料としたが、スペクトル目視とクラスター分析の併用により NIR 吸収スペクトルによる違法薬物識別の可能性が示唆された。

C.23 GC-MS における質量スペクトルの機種間再現性の検討

異なる分析機関間で GC-MS の質量スペクトルデータを相互利用するための基礎的検討を行った。代表的な 3 社の四重極型質量分析計 8 台を使用して同一試料の質量スペクトルを測定し、同一機種内及び異なる機種間でのスペクトルパターンと個々のイオン強度比の比較を行った。さらに、特異的なデータを示した例に対し、イオン源の洗浄（装置のメンテナンス）の影響についても調べた。その結果、装置のメンテナンス状態が機種間の差以上にスペクトルに影響を与えることが明らかとなった。また、ライブラリ検索との関係を調べたところ、ライブラリサーチにおいては相対的に小さな多数のピークが結果に影響しやすいことが判明した。従って、未知化合物のライブラリ検索においては、できる限りベースラインの影響を受けない高めの濃度でのデータを使用しなければ検索結果が不正確になるものと考えられた。

C.24 LC-MS/MS 及びデータベース検索ソフトを用いる尿中薬物スクリーニング法の検討

16 種の化合物の混合標準溶液を用いて検出状況を調べた結果、検出下限濃度が化合物により大きく変動（1 ng/mL 以下から 500 ng/mL）することが判明した。また、2 検体の健常者の尿に添加した場合も類似の検出下限値となり、尿成分の影響は小さいことが明らかとなった。次に、鑑定囑託された尿 60 検体を用いて本法

の実用性を検討したところ、クロマトグラムの目視または GC-MS による測定で薬物が確認されたにもかかわらず、データベース検索では不検出となる場合があり、今後鑑定において実用に供するためには、前処理法や検索パラメータの再検討を行って検出下限を引き上げることが必要と考えられた。

C. 25 LC-MS/MS を用いた尿中薬物鑑定の迅速省力化

タンデム質量分析計による検出方法としては何通りかの方法があるが、一回の測定で感度高く特異的なスペクトルデータの得られる MRM の EPI モードを採用した。LC-MS/MS は感度が高い反面、覚せい剤メタンフェタミンを高濃度に含む試料を測定すると汚染が問題になることが明らかとなった。そこで、日常の鑑定で汚染を避けて LC-MS/MS を使用するため、たとえ囑託事項が大麻代謝物であってもかならず簡易試験で覚せい剤の含有の可能性を調べ、含有が疑われる尿は必ず 1000 倍に希釈し覚せい剤を確認するとともに、大麻関連成分の場合には THCCOOH 用試料液を調製し、LC-MS/MS 装置に注入するスキームとした。

C. 26 尿中フェネチルアミン系薬物の鑑定試験法の検討

尿中のフェネチルアミン系麻薬・覚せい剤 21 種について鑑定試験法を検討した。このうち 18 種は 4-(4,5-diphenyl-1*H*-imidazol-2-yl) benzoyl chloride (DIB-Cl) により誘導体化して蛍光検出器付 HPLC で検出することができた。また、尿をアセトニトリルで希釈しメンブランフィルターでろ過することにより誘導体化反応の回収率が向上した。尿に添加した薬物 (1 μ g/mL) の回収率は MDEA が 39.5%、その他は 87.5~104.1% であり、検出下限値は尿中濃度として 0.01~0.1 μ g/mL であった

(S/N>3)。次に、21 薬物について GC による迅速な試験法を検討した結果、尿に添加した薬物 (1 μ g/mL) の回収率は 18.4~74.4% であり、検出下限値は尿中濃度として 0.02~0.1 μ g/mL であった (S/N>3)。MDEA は 18 種の薬物の中で例外的に添加回収率が低かった。これは尿の成分によって他の薬物以上に強く反応が阻害されるためと考えられる。MDEA はアミノ基にエチル基が付加しているのに対し、他の薬物はすべてメチル基が付加しているかまたは 1 級アミンである。従ってアミノ基の置換基の大きさにより、尿成分による反応妨害の程度が影響を受ける可能性が示唆された。

鑑定試験においては迅速さが求められ、また試験過程での汚染の可能性を極力減らす必要がある一方で、定量性はさほど厳密に求められない。本報告で検討した GC 用試料液調製法は回収率 18.4~74.4% であり、定量の目的には適さないが、約 20~30 分で試料液調製を完了でき、エバポレータを用いないため汚染の機会も非常に少ないことから、鑑定試験法として適すると考えられた。ただしメスカリン及びカチノンについては回収率向上の余地があると考えられ、今後検討すべきものと考えられた。

C. 27 蛍光誘導体化試薬を用いる尿中薬物の迅速確認法の検討

前項で行った、尿中薬物を DIB-Cl と反応させて蛍光検出器付 HPLC で分析する方法を、新規指定麻薬 7 化合物に適用した。その結果、尿に添加した薬物 (1 μ g/mL) の回収率は 69.6~119.4% であり、検出下限値は尿中濃度として 0.01~0.2 μ g/mL であった。フェネチルアミン系薬物のみでなく、ピペラジン系薬物である TFMPP 等及びトリプタミン系薬物である AMT にも適用可能であることが明らかになった。本法においては、試薬由来と考えられる妨害ピーク

が多数出現する。大きなものは保持時間 10 分以前に集中しているが、その後にもいくつかの妨害ピークが現れる。一方、覚せい剤及びMDA・MDMA の鑑定では、長年の経験から、妨害ピークの出現する位置及び大きさが把握されており妨害ピークの大きさは常に一定範囲内にあることが判明している。今後、鑑定嘱託例の少ない薬物にまで本法を適用するためには、より幅広い保持時間範囲にわたって妨害ピークの状態のデータを蓄積する必要があるものと考えられた。

C. 28 DART-TOF/MS を用いた生体試料中の薬物スクリーニング法

DART™ (Direct Analysis in Real Time)-TOF/MS により薬物添加尿試料を直接測定したところ、尿中尿素による目的化合物のイオン化抑制が認められ、検出感度が大幅に低下した。そこで、尿素除去のための簡易前処理法を検討した結果、溶出液にジクロロメタン/イソプロパノール混液を用いたマイクロ固相抽出用ピペットチップで 0.25 $\mu\text{g/mL}$ 、ヘキサン/ジクロロメタン混液を用いた液-液抽出法では、0.5 $\mu\text{g/mL}$ までの尿中薬物測定が DART-TOFMS により可能であった。なお、これら抽出法における各薬物の抽出効率を GC-MS 分析により確認した結果、両抽出法とも尿中薬物の回収率が 70% 以上となり、0.5-5 $\mu\text{g/mL}$ の濃度範囲で直線性 $R^2 > 0.990$ であった。通常、簡易検査キットで使用されている尿中 MA 及び MDMA のスクリーニング分析のカットオフ値が 0.5 $\mu\text{g/mL}$ であることを考慮すると、本法は、これら化合物のスクリーニング法の一手段となる可能性が考えられた。

C. 29 違法ドラッグ製品から検出された大麻成分及び合成カンナビノイド等の分析

本製品の LC-MS 分析の結果、9 種の化合物

normacromerine, macromerine, mescaline, harmaline, harmine, cannabidiol, cannabinol, cannabicyclohexanol, Δ^9 -tetrahydrocannabinol に由来する擬分子イオンピーク $[M+H]^+$ が認められた。これらは、各々の標品と UV スペクトル、保持時間、及びマススペクトルを比較することにより同定した。得られた検量線から算出した試料中の成分含量は、それぞれ、0.16, 0.04, 0.02, 0.33, 0.13, 0.02, 0.03, 0.54, 0.13 mg/g product であった。これらの化合物のうち、大麻の主活性成分である 3 種のカンナビノイド (cannabidiol, cannabinol, Δ^9 -tetrahydrocannabinol) が検出されており、本製品には大麻、またはその加工品が混入することが強く示唆された。また、合成カンナビノイドである cannabicyclohexanol は、近年、主に“スパイス”という名称で流通する植物系違法ドラッグ製品及びその関連製品において検出例が増大したため、平成 21 年 11 月より指定薬物制度において規制対象となった化合物である。さらに、フェネチルアミン化合物である normacromerine, macromerine は、幻覚性サボテンとして知られている *Coryphantha macromeris* (サボテン科) の含有成分であることが知られている。近年、他の違法ドラッグ製品からも、本サボテンが検出された事例が報告されている。化合物 harmaline, harmine は、違法ドラッグ市場において汎用される植物であるハルマラ (*Peganum harmala*) 等の含有成分として知られており、モノアミンオキシダーゼの阻害作用をもつため、normacromerine, macromerine, mescaline, との同時摂取により幻覚作用が高まる可能性がある。なお、定量分析の結果、各分析対象化合物は、合成カンナビノイド cannabicyclohexanol が 0.54 mg/g と最も高い値を示したが、その他成分は製品 1g 中

0.5 mg 未満であり，大麻主活性成分 Δ^9 -tetrahydrocannabinol の含有量は 0.01% 程度であった。

D. 結論

本研究は，厚生労働省の乱用薬物行政と乱用薬物取締りに直接貢献することを目的に遂行される。麻薬指定される化合物は，本研究で事前に分析法が確立されることで，指定後の迅速な取締りが行われることになる。また，代謝物の合成と生体試料からの分析が遂行されることで，使用罪に対し始めて対応することが可能となる。さらに，今後対応が必要とされる植物系乱用薬物について，本研究で事前にその規制の範囲が検討され，分析，鑑定法が確立されることで，適切な規制を行うことが出来る。また，大麻や麻薬含有植物では，栽培事犯が増加しているが，本研究の結果，簡便正確な鑑定法が確立することで，迅速な取締りが行われることになり，国民の危機リスクを低減させることになる。例えば，本研究により，既に大麻種子の生死の迅速判別法の確立が行われ，発芽させなくても発芽能力を確認することが可能となっており，本法が利用されることで，種子の段階で破棄させることが可能となり，ネット環境下で現在年々増加している大麻栽培事犯を未然に押さえこめることになった。また，容易にケシ，アツミゲシとヒナゲシを区別できることになり，種を間違えて観賞用に法規制植物であるアツミゲシが大量に栽培される事例を減らすことが可能になるものと考えられる。さらに，本研究では，乱用薬物の取締りの現場で迅速に規制化合物を同定する手法について，具体的な方法論の改良が図られており，今後の乱用薬物取締りに直接貢献するものと考えられる。

E. 健康危機情報

特になし

F. 研究発表

論文発表等

- 1) Kikura-Hanajiri, R., Kawamura, M., Saisho, K., Kodama, Y., Goda, Y., The disposition into hair of a new designer drug; methylone, MBDB, methcathinone. *Journal of Chromatography B*, **855**, 121-126 (2007).
- 2) Matsumoto, T., Urano, Y., Makino, Y., Kikura-Hanajiri, R., Kawahara, N., Goda, Y., Nagano, T., Evaluation of characteristic deuterium distributions of ephedrine and methamphetamines by NMR spectroscopy for drug profiling. *Analytical Chemistry* **80**, 1176-1181 (2008).
- 3) Ogata J., Kikura-Hanajiri R., Yoshimatsu K., Kiuchi F., Goda Y. Detection method for the ability of hemp (*Cannabis sativa* L.) seed germination by the use of 2,3,5-Triphenyl-2H-tetrazolium chloride (TTC) *Yakugaku Zasshi* **128**, 1707-1711 (2008).
- 4) Shoda, T., Fukuhara, K., Goda, Y., Okuda, H., 4-Hydroxy-3-methoxymethamphetamine glucuronide as a Phase II metabolite of MDMA: Enzyme-assisted synthesis and involvement of human hepatic UGT2B15 in the glucuronidation. *Chem Pharm. Bull.* **57**, 472-475 (2009).
- 5) 花尻瑠理，毛髪を中心とした代替生体試料中薬物分析，*ぶんせき*，**2**，76-81 (2009)。

- 6) Kawamura, M., Kikura-Hanajiri, R., Goda, Y., Simple and rapid screening for psychotropic natural products using Direct Analysis in Real Time (DART)-TOFMS. *Yakugaku Zasshi* **129**, 719-725 (2009).
- 7) Matsushima, Y., Shirota, O., Kikura-Hanajiri, R., Goda, Y., Eguchi, F., Effects of *Psilocybe argenteipes* on marble-burying behavior in mice. *Biosci. Biotech. Biochem.* **73**, 1866-1868 (2009).
- 8) Kikura-Hanajiri, R., Simple and rapid screening method using Direct Analysis in Real Time (DART)-MS. *FFI Journal* **215** (2), 137-143 (2010).
- 9) Shirota, O., Charged Aerosol Detection (CAD): A new universal approach for HPLC. *FFI Journal* **215** (2), 144-153 (2010).
- 10) Kikura-Hanajiri, R., Kawamura, M., Miyajima, A., Sunouchi, M., Goda, Y. Determination of a new designer drug, N-hydroxy-3,4-methylenedioxymethamphetamine and its metabolites in rats using ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Forensic Science International*, on-line available, (2010).
- 3) 正田卓司, 福原 潔, 奥田晴宏: 乱用薬物代謝物の合成に関する検討. 日本薬学会日本薬学会第 128 年会 (2008 年 3 月, 横浜).
- 4) 花尻 (木倉) 瑠理, 児玉幸夫, 合田幸広: アルコール併用メチルフェニデート (リタリン) 投与ラットにおける毛髪中薬物の UPLC-MS/MS を用いた高感度迅速分析法の開発. 日本法中毒学会大 27 年会 (2008 年 6 月, 東京).
- 5) 最所和宏, 花尻 (木倉) 瑠理, 合田幸広: 麻薬 5MeO-DIPT 及び指定薬物 5MeO-DPT の LC/MS/MS を用いたラット毛髪中及び血漿中薬物の高感度迅速分析法. 日本法中毒学会大 27 年会 (2008 年 6 月, 東京).
- 6) 正田卓司, 福原潔, 合田幸広, 奥田晴宏, 肝ミクロゾームによる MDMA 代謝物の合成とヒト UGT の同定, 日本分析化学会第 57 年会 (2008 年 9 月, 福岡).
- 7) 緒方潤, 花尻瑠理, 吉松嘉代, 木内文之, 合田幸広, 大麻種子の迅速発芽能力鑑別法, 日本生薬学会第 55 回年会 (長崎, 2008 年 9 月).
- 8) 代田 修, 安藤広和, 関田節子. 荷電化粒子検出器を用いたエフェドラアルカロイド一斉分析の検討, 日本生薬学会第 55 回年会, (2008 年 9 月, 長崎).
- 9) 代田 修, 永松久実, 関田節子. シロシングルクロン酸抱合体の合成. 日本生薬学会第 55 回年会, (2008 年 9 月, 長崎).
- 10) Shirota, O., Research On The Terpenoid Constituents of Some Medicinal Plants. 2008' Shanghai International Symposium for Pharmaceutical Sciences, Dec 19-20, 2008, Shanghai, China.
- 11) 花尻 (木倉) 瑠理, 河村麻衣子, 内山奈穂

学会発表等

- 1) 代田 修, 木下史子, 酒井暢子, 関田節子. カチノンおよびサルビノリン A をモチーフにしたハプテンの合成. 日本生薬学会第 54 年会, (2007 年 9 月, 名古屋).
- 2) 玉那覇康二, 佐久側さつき, 合田幸広, 丸山卓郎: 沖縄県に生息する幻覚性きのこの実態調査について. 第 44 回全国衛生化学

- 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 (2009 年 3 月, 京都) .
- 12) 河村麻衣子, 花尻(木倉)瑠理, 合田幸広, DART-TOF/MS を用いた尿中覚せい剤及び MDMA の迅速スクリーニング法の検討, 日本薬学会第 129 年会 (2009 年 3 月, 京都).
- 13) 正田卓司, 福原潔, 合田幸広, 奥田晴宏, シロシン代謝物の合成に関する検討, 日本薬学会第 129 年会 (2009 年 3 月, 京都) .
- 14) 河野徳昭, 薬用植物資源の高度利用を目指して, 日本生薬学会第 56 回年会若手企画シンポジウム「これからの生薬 - 6 年制教育のもたらす変革を意識して-」(2009 年 10 月, 京都) .
- 15) 久保泰裕, 蓮田知代, 山崎 朗, 青柳 裕, 代田 修, 関田節子, 竹谷孝一, 幻覚性ジテルペン salvinorin A に対するモノクローナル抗体の作製及びその応用, 日本薬学会第 130 年会, (2010 年 3 月, 岡山) .
- 16) 河村麻衣子, 花尻(木倉)瑠理, 合田幸広, 毛髪を中心としたラット生体試料 dextromethorphan 及び levomethorphan の LC-MS/MS を用いた光学異性体分析について, 日本薬学会第 130 年会 (2010 年 3 月, 岡山) .
- 17) 緒方 潤, 内山奈穂子, 菊地博之, 徳本廣子, 花尻(木倉)瑠理, 合田幸広, 植物系違法ドラッグ製品いわゆる“ブレンドハーブ”の基原植物について, 日本薬学会第 130 年会 (2010 年 3 月, 岡山) .
- 18) 正田卓司, 福原潔, 合田幸広, 奥田晴宏, 覚せい剤の代謝経路に関与するUDP-グルクロン酸転移酵素の同定, 日本薬学会第

130年会 (2010年3月, 岡山), 本発表はハイライトポスターに選ばれた.