

図1 試料とした錠剤の外観一覧

No.	写真	刻印名	No.	写真	刻印名	No.	写真	刻印名
1-1		三角形	1-22		ミッキーマウス (一部)	3-10		蝶
1-2		?	1-23		D&G	4-1		三菱
1-3		ロレックス	1-24		トヨタ	4-2		ミッキーマウス
1-4		アルマーニ	1-25		WY	4-3		ディズニー
1-5		ヴェルサーチ ヘッド	1-26		007	4-4		クロムハーツ
1-6		メールマーク	1-30		うお座	4-5		りんご
1-8		WY	1-32		女性のシル エット	4-6		太陽
1-10		アルマーニ	1-33		ミッキーマウス	5-1		シャネル
1-11		ディズニー	1-35		X	5-2		チューリップ
1-12		ダブルハート	1-37		瓢箪	5-3		r
1-13		ダブルハート	1-38		モトローラ	5-4		きのこの傘部 分
1-14		S	2-3		T	6-1紫		ダブルハート
1-15		音符	3-1		ルイ・ヴィトン	6-1赤		ダブルハート
1-16		サジタリウス	3-2		ヴェルサーチ ヘッド	6-2		スズキ
1-17		ヴェルサーチ ヘッド	3-3		ミイラ	6-3		W
1-19		きのこ	3-4		ユーロ	6-4		ダブルハート
1-20		クローバー	3-5		ミッキーマウス	6-5		ミニーマウス
1-21		プーマ	3-7		ダブルハート	6-6		太陽

刻印名は識別のために著者らが任意に付けた。

図1 試料とした錠剤の外観一覧(続き)

No.	写真	刻印名	No.	写真	刻印名	No.	写真	刻印名
6-7		ルイ・ヴィトン	9-14		54	14-1		ミッキーマウス
6-8		ルイ・ヴィトン	9-15		アルマーニ	14-3		D&G
6-9		アルマーニ	10-1		シャネル	14-5		T
6-12		(刻印なし)	11-1		ミッキーマウス	14-6		ダイヤモンド
6-14		鳩	11-2		CK	14-7		ダイヤモンド
8-1		スマイル	11-3		シャネル	14-8		C
8-2		ダブルハート	11-4		sky	14-9		ローリングストーンズ
8-3		シャネル	11-5		うお座	14-10		ローリングストーンズ
8-4		R☆	12-1		R☆	15-1		TT
9-1		クロス	12-2		(刻印なし)	15-2		JK
9-2		ピースマーク	12-3 紫		アルマーニ			
9-3		DO	12-3 肌		(刻印なし)			
9-5		太極図	12-4		ベンツ			
9-7		いるか	12-5		ベンツ			
9-8		Vサイン	12-6		NIKE			
9-9		(刻印なし)	12-7		WY			
9-10		トリプルX	13-11		WY			
9-12		ミッキーマウス	13-12		うお座			

表1 各検体中の麻薬・覚せい剤・指定薬物成分の1錠当たり含有量(mg)及びその他の成分の検出状況
 「その他の成分」の欄の○は検出、◎は麻薬・覚せい剤成分より面積の大きなピークを与えたことを示す。

番号	重量 (mg)	麻薬・覚せい剤・指定薬物(塩として換算した含有量)											その他の成分(定性のみ)				
		BZP	メチロン	アンフェ タミン	MDA	メタンフェ タミン	MDMA	MDEA	ケタミン	3CPP	2C-B	2C-I	TFMPP	ブチロン	カフェイン (GC-MS)	不明 (GC-MS)	不明 (HPLC)
1-1	232.9					94.7											
1-2	295.4					49.5											
1-3	215.0					43.8								○			○
1-4	290.2					164											
1-5	197.0					134											
1-6	254.7					119											
1-8	148.8									9.9							
1-10	207.8					127											
1-11	277.7					132											
1-12	289.5				8.4	5.0	83.5			5.0							
1-13	267.0					8.2		49.5						○			○
1-14	281.1											15.4					
1-15	296.2				8.4	4.8	84.8			4.8							
1-16	187.8					1.1	68.6								○		
1-17	209.3						121										
1-19	278.4					3.2	63.2			2.0							
1-20	117.1									4.4					○		
1-21	248.2						58.3										
1-22	273.6						111										
1-23	205.2						122										
1-24	247.8						146										
1-25	149.6									12.2							
1-26	271.1			12.0										○	○		
1-30	249.2						96.1							○			○
1-32	270.0						39.3										
1-33	145.1									8.3							
1-35	135.2						73.2										
1-37	281.5					3.1	59.6			3.5							
1-38	152.0						54.5	6.2									○
2-3	250.7						141	4.7							○		

表1 各検体中の麻薬・覚せい剤・指定薬物成分の1錠当たり含有量 (mg) 及びその他の成分の検出状況(続き)

番号	重量 (mg)	麻薬・覚せい剤・指定薬物(塩として換算した含有量)												その他の成分(定性のみ)			
		BZP	メチロン	アンフェ タミン	MDA	メタンフェ タミン	MDMA	MDEA	ケタミン	3CPP	2C-B	2C-I	TFMPP	ブチロン	カフェイン (GC-MS)	不明 (GC-MS)	不明 (HPLC)
3-1	275.5									133							
3-2	296.3									59.0							
3-3	371.1									48.7							
3-4	292.7									159							
3-5	231.7									125							○
3-7	210.5									137							○
3-10	333.0									136				○			○
4-1	343.0									84.7							
4-2	149.5											9.5					
4-3	235.4					1.7	1.4		0.5					○			
4-4	236.1									112							
4-5	258.5									86.5				◎			
4-6	306.0		4.5										110				
5-1	250.0									132		5.2					
5-2	290.9									146							
5-3	296.4									10.3						○	
5-4	338.1					214	7.4										○
6-1紫	282.4								2.0					◎	○		
6-1赤	282.8								8.9					◎	○		
6-2	273.4								2.0					◎	○		◎
6-3	288.4								2.1					◎	○		◎
6-4	278.0								2.4					◎	○		◎
6-5	264.9									115							○
6-6	256.1									16.7						○	○
6-7	214.5					3.3			1.8								
6-8	261.3					16.2			5.4							○	
6-9	203.5					8.9			4.6								
6-12	1590.3	108											52.4				
6-14	288.5		2.3											133			
8-1	307.2								44.8							○	○

表1 各検体中の麻薬・覚せい剤・指定薬物成分の1錠当たり含有量(mg)及びその他の成分の検出状況(続き)

番号	重量 (mg)	麻薬・覚せい剤・指定薬物(塩として換算した含有量)											その他の成分(定性のみ)			
		BZP	メチロン	アンフェ タミン	MDA	メタンフェ タミン	MDMA	MDEA	ケタミン	3CPP	2C-B	2C-I	TFMPP	ブチロン	カフェイン (GC-MS)	不明 (GC-MS)
8-2	286.1											87.1			○	○
8-3	253.7								125							
8-4	226.7								13.4					○		
9-1	224.6								146							
9-2	268.9								145							
9-3	244.1				57.2											
9-5	270.2								168							○
9-7	203.2								121							
9-8	130.4								80.0							
9-9	299.3								95.1							
9-10	254.7								126							
9-12	138.3										8.8					
9-14	465.6								21.2					◎		○
9-15	362.9					1.7			111	1.9					○	○
10-1	245.9								123							○
11-1	153.6										5.5					
11-2	287.4					12.0			41.5		103			○	○	
11-3	219.5								145							
11-4	254.2								178							
11-5	235.3										2.8		44.4			○
12-1	440.7								36.3					◎		○
12-2	291.0								13.1					◎		○
12-3紫	257.2								158							
12-3肌	216.0								62.8					○		
12-4	306.0	52.5											91.8	◎		
12-5	277.9	45.8											81.0	◎		
12-6	287.8	49.9											77.4	○		
12-7	149.0										8.8					
13-11	148.0										12.6					
13-12	227.8									26.2			36.9			○

表1 各検体中の麻薬・覚せい剤・指定薬物成分の1錠当たり含有量(mg)及びその他の成分の検出状況(続き)

番号	重量 (mg)	麻薬・覚せい剤・指定薬物(塩として換算した含有量)											その他の成分(定性のみ)				
		BZP	メチロン	アンフェ タミン	MDA	メタンフェ タミン	MDMA	MDEA	ケタミン	3CPP	2C-B	2C-I	TFMPP	ブチロン	カフェイン (GC-MS)	不明 (GC-MS)	不明 (HPLC)
14-1	176.2									83.5							
14-3	164.4				40.7												○
14-5	303.4									80.6						○	
14-6	170.9								56.3								
14-7	189.7								71.8								
14-8	305.0												105			◎	
14-9	300.4					2.2										○	○
14-10	301.7															○	○
15-1	289.8								139								
15-2	267.9								171								

表2 錠剤中成分含有量(mg)集計

薬物名	BZP	メチロン	アンフェ タミン	MDA	メタンフェ タミン	MDMA	MDEA	ケタミン	3CPP	2C-B	2C-I	TFMPP	ブチロン
含有検体数	4	2	1	4	14	64	3	16	3	13	1	8	2
最大値(mg)	108	4.5	12.0	57.2	214	178	56.3	103	44.8	12.6	15.4	105	133
最小値(mg)	45.8	2.3	12.0	8.4	1.1	1.4	1.9	0.5	2.8	2.0	15.4	36.9	110
中央値(mg)	51.2	3.4	12.0	24.6	4.1	104	6.2	5.0	26.2	8.3	15.4	79.2	122
平均(mg)	64.0	3.4	12.0	28.7	20.3	96.1	21.5	19.3	24.6	7.3	15.4	72.1	122
標準偏差(mg)	29.3			24.4	55.8	47.2	30.2	28.1	21.1	3.4		24.6	
CV(%)	45.8			84.9	274.1	49.1	140.9	145.4	85.7	45.7		34.1	

図2 同一錠剤に含まれる薬物成分数ごとの検体数比率(%)
100検体の集計結果

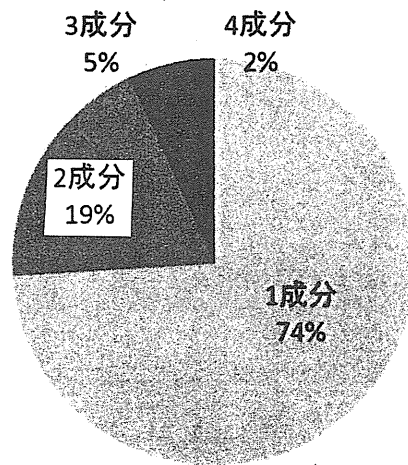
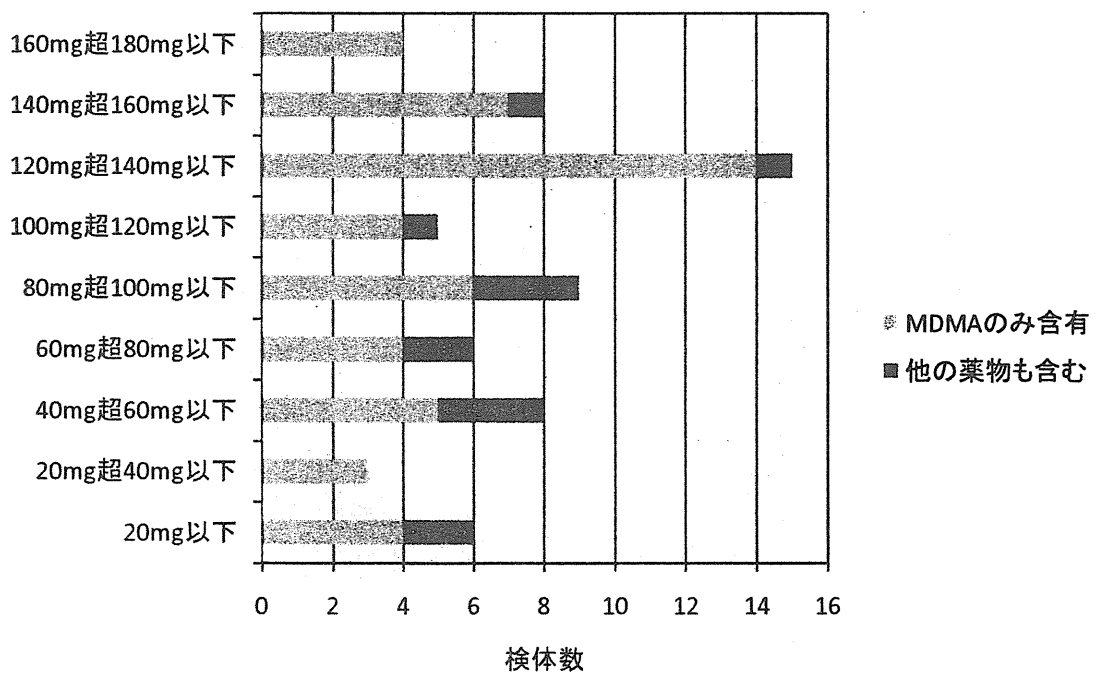


図3 MDMAが検出された検体中の含有量分布
64検体の集計結果



分担研究報告書

分担研究課題 法規制薬物の代謝と分析及び鑑別に関する研究
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

いわゆる「脱法ハーブ」使用者生体試料からの薬物分析

研究要旨 近年、いわゆる“脱法ハーブ”による健康危害の拡大が社会問題となっている。今年度は、脱法ハーブが関与したと考えられる死亡1事例において、生体試料中薬物の検討を行った。被害者が死亡時所持していた脱法ハーブ3製品(乾燥植物細片)いずれからもMAM-2201(73.5-81.7 mg/g)が検出され、さらに1製品からはMAM-2201とともにJWH-122 *N*-(4-pentenyl)analog(6.1 mg/g)及びJWH-122 *N*-5OH(6.4 mg/g)が検出された。生体試料においては、上記3化合物に加えて、MAM-2201の推定3代謝物(MAM-2201 *N*-4OH, JWH-122 *N*-5OH, JWH-122 *N*-pentatonic acid)、処方薬sulpiride, brotizolam, ethyl loflazepateを分析対象とし、LC-MS/MS MRMモードで定量分析を行った。その結果、頭髪洗浄液からはMAM-2201(0.39 ng/mg)、JWH-122 *N*-5OH(0.08 ng/mg)及びsulpiride(1.1 ng/mg)が、頭髪アルカリ可溶化抽出物からはMAM-2201(0.15 ng/mg)が検出された。救急搬送時等の薬物スクリーニング分析において、喫煙で摂取した場合、頭髪洗浄液は直前の使用薬物を推測するのに有用な試料と考えられた。また、搬送時及び解剖時の血液と血清試料からは、処方量が多いsulpirideが高濃度検出され、次いで濃度順にJWH-122 *N*-5OH, MAM-2201, brotizolam, JWH-122 pentatonic acidが検出された。解剖時尿試料からは、濃度順にsulpiride, JWH-122 *N*-5OH, MAM-2201, JWH-122 pentatonic acidが検出された。本研究においては、生体試料中から未変化体MAM-2201は検出されたが、その特異的代謝物であるMAM-2201 *N*-4OHは検出されなかった。*N*-Alkyl側鎖末端がハロゲンに置換された化合物においては、 ω 1-酸化が進みにくいことが予想される。これらの結果を考慮すると、すでに麻薬として規制されているJWH-122とMAM-2201の摂取識別においては、主代謝物 ω -酸化体JWH-122 *N*-5OH及びJWH-122 pentatonic acidが同一であるため、未変化体もしくはJWH-122摂取においては主代謝物のひとつと推測される ω 1-酸化体JWH-122 *N*-(4-hydroxy)metaboliteを検出する必要があると考えられた。その他薬物についてLC-QTOFによりスクリーニング分析を行った結果、頭髪のアルカリ可溶化抽出物からzolpidemが検出された。本研究は国立衛研及び聖マリアンナ医大の研究倫理審査委員会の承認を得て行った。

研究協力者

河村麻衣子 国立医薬品食品衛生研究所 生薬部
菅野さな枝, 永井智紀, 高田女里, 向井敏二
聖マリアンナ医科大学 法医学教室

A. 研究目的

平成19年に薬事法下に指定薬物制度が施行され、路上やインターネット等における違法ドラッグ販売数

は一時期表面上減少した。しかし、近年、医薬品開発途上でメディス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高い活性を有する化合物が違法ドラッグ市場に次から次へと新たに登場している。特に、カンナビノイド受容体に強い活性を示す合成カンナビノイド類を乾燥植物細片に混合した、大麻と類似の作用を標榜して販売されるいわゆる“脱法ハーブ”や、“バスソルト”“アロマリキッド”等として

販売される興奮性アミン類(カチノン誘導体)含有製品による健康被害が急増して深刻な社会問題となっている。警察庁のまとめでは、いわゆる「脱法ドラッグ」に絡み、平成24年の1年間で112人が検挙され、脱法ドラッグの影響による交通事故が22件、うち人身事故は17件で1人が死亡、34人が重軽傷を負ったことを報告している。さらに、少なくともこれら交通事故の数件に、合成カンナビノイド MAM-2201 が関わっていることが明らかになっている。

MAM-2201は、2012年初頭に初めて日本国内において流通が認められたが、その後急速に流通が全国に広がった。我々の違法ドラッグ製品買上調査では、2012年に違法ドラッグ製品から最も数多く検出された化合物のひとつである¹⁾。JWH-018 (2009年11月20日より指定薬物、2012年8月3日より麻薬として規制)やAM-2201 (2011年10月20日より指定薬物として規制)、JWH-122 (2011年5月14日より指定薬物、2013年3月1日より麻薬として規制)と類似の構造を有する (Fig. 1)。我々の研究において、MAM-2201のカンナビノイドCB₁受容体への結合性は、JWH-018の約13倍、JWH-122の約9倍と、極めて強いことが明らかとなっている²⁾。日本国内だけではなく海外においても、MAM-2201による被害は広がっている³⁾。

JWH-018は、摂取すると ω -酸化体であるJWH-018 *N*-(5-hydroxy) metabolite, JWH-018 pentanoic acid, さらに ω 1-酸化体であるJWH-018 *N*-(4-hydroxy)metaboliteの各グルクロン酸抱合体がヒト尿中に主に排泄されることが報告されている⁴⁾⁻⁶⁾。また、K. C. Chimalakondaらは、JWH-018の*N*-alkyl側鎖末端にフルオロ基を有するAM-2201について、ヒト肝ミクロゾーム、リコンビナントP450s, ヒト尿中の代謝物を検討している⁶⁾。その結果、酸化的脱ハロゲン化体であるJWH-018 *N*-(5-hydroxy) metabolite及びJWH-018 pentanoic acidが主代謝物として検出され、 ω 1-酸化体であるAM-2201 *N*-(4-hydroxy)metaboliteはマイナー代謝物として検出されることを明らかにしている (Fig. 1)。AM-2201の酸化的脱ハロゲン

化体は、JWH-018の主代謝物と同じ構造であることから、各化合物に特異的な ω 1-酸化体AM-2201 *N*-(4-hydroxy)metabolite及びJWH-018 *N*-(4-hydroxy)metaboliteが摂取識別のマーカになると考えられている。これらの結果を考慮すると、JWH-018及びAM-2201の4-methylnaphthyl体であるJWH-122及びMAM-2201についても、同様の代謝物がヒト生体試料中から検出されることが予想される (Fig. 1)。

本研究において我々は、MAM-2201を含有する「脱法ハーブ」製品を喫煙後に死亡した男性について、司法解剖を行った聖マリアンナ大学法医学教室の依頼により、死亡男性が所持していた違法ドラッグ製品及び死亡男性の生体試料(血液、血清、尿、頭髪)中の薬物分析を行ったので報告する。(倫理面の配慮)

本研究は、国立医薬品食品衛生研究所及び聖マリアンナ大学研究倫理審査委員会の承認を経て、各委員会の定める規定に則り、遵守すべき規準に従って実施した。

B. 研究方法

1. ヒト試料

いわゆる脱法ハーブを吸煙し、嘔吐・意識不明となり救急搬送され、その後死亡が確認された男性について、聖マリアンナ大学法医学教室より下記の生体試料及び死亡時所持していた脱法ハーブ製品を得た。

生体試料

救急搬送時：血液 約2 mL, 血清 約1 mL

司法解剖時(死亡から3日後)：心臓内血液 約10 mL, 血清 約3 mL, 尿(白濁) 約1.5 mL, 毛根付き頭髪 約50本

製品

小アルミパッケージ内に乾燥植物細片が入っている3製品(A, B, C)。

2. 試薬

MAM-2201, JWH-122 *N*-(4-pentenyl)analog, MAM-2201 *N*-(4-hydroxypentyl)metabolite

[MAM-2201 N-4OH], JWH-122

N-(5-hydroxypentyl)metabolite [JWH-122 N-5OH],

JWH-122 N-pentanoic acid 及び内標準物質

JWH-007-d9 体は Cayman 社製を使用した。

(±)-Sulpiride は Sigma 社製を, Brotizolam 及び Ethyl loflazepate は和光純薬社製を使用した。分析対象化合物の各構造を Fig. 2 に示す。各標準化合物の 0.1 mg/mL メタノール溶液を標準溶液として作成し、適宜メタノールで希釈して測定に用いた。

β-グルクロニダーゼ (*Helix pomatia*, 77000 U) は和光純薬から購入し、膜ろ過用フィルター

(Ultra Free-MC, 0.45µm) は Millipore 社製を使用した。アセトニトリル及び 0.1%ギ酸は HPLC 用を、その他抽出試薬等は特級品を用いた。

3. 測定法

(1) UPLC-MS/MS

機器 : UPLC-MS/MS (Waters Aquity-Quattro Premier XE)

UPLC 条件

カラム : ACQUITY UPLC BEH C18 カラム (2.1×100 mm, 1.7 µm, Waters 社製), ガードカラム : BEH C18 Vanguard Pre column (2.1×5 mm, 1.7 µm, Waters 社製), カラム温度 40°C, 移動相 : A 0.1%ギ酸, B 0.1%ギ酸/アセトニトリル, A/B 95/5 – 10/90 (13 min, 4 min hold), 流速 : 0.3mL/min, 注入量 : 2 µL
MS 条件

ESI, Capillary: 2.5 kv, Source temp. 120 °C, Desolvation temp. 350°C, Cone gas flow 50L/hr, Desolvation gas flow 700L/hr

MRM 条件 : Collision gas flow 0.25 mL/min, その他条件は Table 1 参照。

(2) UPLC-QTOF

機器 : UPLC-QTOF (Waters Xevo QTof MS)

UPLC 条件

カラム : ACQUITY UPLC HSS C18 カラム (2.1×150 mm, 1.8 µm, Waters 社製), カラム温度 40°C, 移動相 : A 5 mM ギ酸アンモニウム pH 3.0, B 0.1%ギ酸/アセトニトリル, A/B 87/13 (0.5 min hold) – 50/50 (10 min) – 10/90 (15 min, 3 min hold), 流速 : 0.3mL/min, 注入量 : 2 µL

MS 条件

ESI, Positive, Capillary: 3.0 kv, Cone voltage 30 V, Source temp. 120 °C, Desolvation temp. 400°C, Cone gas flow 50L/hr, Desolvation gas flow 800L/hr, Collision energy 27.0 V

4. 試料の抽出方法

(1) 製品からの薬物の抽出法

乾燥植物細片試料をフィンガーマッシャーで粉末化して 10 mg をとり、メタノール 1 mL を加え、超音波下 5 分間抽出を行った。抽出液について膜ろ過を行い、不溶物を取り除き、必要に応じて適宜希釈して GC-MS 及び LC-MS 測定用溶液とした。測定方法は、平成 24 年 11 月 6 日発薬食監麻発 1106 第 2 号厚生労働省医薬食品局監視指導・麻薬対策課長通知に従った。定量は、粉末化した試料 10 mg をとり、試験試料に内標準物質吉相酸ベタメタゾン 0.1 mg/mL を含むメタノール 1 mL を加え同様に抽出操作を行い、HPLC により測定した。分離は LC-MS と同じ条件で行い、検出は、内標準物質は UV 240 nm, 合成カンナビノイド類は UV 314 nm で行った。

(2) 血液及び血清からの薬物の抽出法

内標準物質 JWH-007-d9 を一定量含有するメタノール : アセトニトリル (1:1) 溶液を試料の 3 倍量加えてボルテックスミキサーで震盪し、4°C, 13000 rpm で 10 分間、遠心分離を行った。上清を窒素気流下で乾個し、メタノール 100 µL に溶解し、膜ろ過を行い、LC-MS/MS 測定用溶液とした。

(3) 試料から薬物の抽出法の検討

違法ドラッグ成分 MAM-2201, JWH-122 N-(5-pentenyl)analog, JWH-122 N-5OH 及び処方薬 sulpiride, brotizolam, ethyl loflazepate のメタノール溶液を最終濃度 50 ng/mL となるように水に添加し、液性を pH 10 に調製して、酢酸エチルエステル, ジエチルエーテル/クロロホルム (95/5), クロロホルム, *t*-ブチルメチルエーテルの各溶媒で液-液抽出を行い、各化合物の回収率を検討した。

(4) 尿からの薬物の抽出法

尿試料 500 µL をとり、内標準物質 JWH-007-d9

を一定量含有する等量の 0.1M リン酸緩衝液 (pH 10) を加えた後、*t*-ブチルメチルエーテル 1 mL で液-液抽出を行った。液性を中性にした後、再度 *t*-ブチルメチルエーテル 1 mL で液-液抽出を行い、抽出液をあわせ、窒素気流下で乾固した。乾固物メタノール 100 μ L に溶解し、膜ろ過を行い、LC-MS/MS 測定用溶液とした。 β -グルクロニダーゼ処理は、尿試料 50 μ L をとり、内標準物質 JWH-007-d9 を一定量含有する等量の 0.1M リン酸緩衝液 (pH 5)、 β -グルクロニダーゼ溶液 50 μ L (400 u) を加え、37°C で 2 時間震盪した。処理した尿試料の液性を pH 10 とし、上述した未処理尿試料と同様に抽出操作を行った。

(5) 頭髪の洗浄法及び抽出法

頭髪試料 10 mg に浸る程度のメタノールを加えボルテックスミキサーを用いて 10 秒程度震盪して (2 回)、洗浄液をあわせて窒素気流下で乾固した。乾固物を内標準物質 JWH-007-d9 を含有したメタノール 100 μ L に溶解して膜ろ過を行い、LC-MS/MS 測定用溶液とした。

上記と同様に洗浄した毛髪試料を細片化して 10 mg を量り取り、1 M 水酸化ナトリウム溶液 1 mL 及び 0.5 ng/mg hair に相当する内標準物質 JWH-007-d9 を加え、40°C で 2 時間震盪した。アルカリ可溶化した試料について、*t*-ブチルメチルエーテル 1 mL で液-液抽出を行った。液性を中性にした後、再度 *t*-ブチルメチルエーテル 1 mL で液-液抽出を行い、抽出液をあわせ、窒素気流下で乾固した。乾固物について、メタノール 100 μ L に溶解して膜ろ過を行い、LC-MS/MS 測定用溶液とした。

5. 各試料の分析における検出限界、定量限界、検量線範囲、精度及び真度

今回分析対象とした化合物の HPLC もしくは LC-MS/MS 分析における検出限界及び定量限界は下記の通り求めた。製品中合成カンナビノイド類 3 化合物、血液・血清中の合成カンナビノイド類及びその推定代謝物、処方薬については、薬物を含有しないコントロール試料が入手不可であつ

たため、各化合物のメタノール溶液について、それぞれ前述した方法に従い抽出操作を行った。製品中薬物については HPLC 分析、血液・血清中薬物については UPLC-MS/MS MRM 分析においてクロマトグラム上、それぞれピークが S/N>3 及び S/N>10 となる最小試料濃度を検出限界及び定量限界とした。尿試料及び頭髪試料においては、薬物を含有しないヒトコントロール試料に分析対象化合物の標準溶液を添加し、前述した方法に従い抽出操作を行い、同様にして検出限界及び定量限界を求めた。

検量線は、Table 2~7 に示した濃度範囲で、標準化合物各 8 濃度の測定を行い、内標準物質に対する各化合物のピーク面積比から作成した。製品中及び血液・血清中の分析対象化合物については各化合物を含有するメタノール溶液を用いて、尿試料及び頭髪試料においては、薬物を含有しないヒトコントロール試料に分析対象化合物の標準溶液を添加した試料を用いた。製品中薬物分析用には内標純物質の吉相酸ベタメタゾン (0.1 mg/mL) を加え、その他試料には JWH-007-d9 を加え、前述した通り抽出操作を行い、HPLC もしくは LC-MS/MS 分析を行った。精度 (相対標準偏差) 及び真度は、Table 2~7 に示した各濃度において、分析法の全操作を各濃度 3 回ずつ繰り返し測定した結果から評価した。真度は抽出操作における回収率と添加した各化合物の量の差として算出した。

C. 研究結果及び考察

1. 分析法について

各試料の分析における検出限界、定量限界、検量線範囲、精度及び真度を Table 2 から Table 7 に示した。なお、sulpiride 及び ethyl loflazepate は頭髪のアルカリ可溶化溶液中 (強塩基性条件、40°C、2 時間震盪) 及び尿試料の β -グルクロニダーゼ処理溶液 (弱酸性条件、37°C、2 時間震盪) からは検出できなかった。

所持していた製品から検出された 3 薬物及び医者から処方されていた 3 薬物 sulpiride, brotizolam,

ethyl loflazepate について、溶液試料を酢酸エチルエステル、ジエチルエーテル/クロロホルム (95/5)、クロロホルム、*t*-ブチルメチルエーテルの各溶媒で液-液抽出を行い、各化合物の回収率を検討した。その結果を Fig. 3 に示した。検討した溶媒において、すべての化合物が最も回収率良く抽出することが可能な溶媒は *t*-ブチルメチルエーテルであり、sulpiride 以外の化合物においてはその回収率は 89%以上であった。しかし、sulpiride は pH 10 の条件下では回収率が 35%と低かった。そのため、pH 10 で抽出を行った後、液性を中性付近に調整し、再度抽出し抽出液をあわせて測定したところ、回収率は上昇した。

2. 違法ドラッグ製品から検出された化合物

死亡した男性が所持していた違法ドラッグ 3 製品中から検出された違法ドラッグ成分の測定結果を Table 8 に示した。3 製品からいずれも MAM-2201 が 74-88 mg/g (7.4 - 8.8 %) 検出され、そのうち 1 製品からは MAM-2201 の 1/10 程度の量の JWH-122 N-(5-pentenyl)analog (6.1 mg/g) 及び JWH-122 N-5OH (6.4 mg/g) が検出された。

4. 死亡男性生体試料から検出された薬物

被害者の救急搬送時及び解剖時の血液と血清試料、解剖時尿試料 (液-液抽出物)、解剖時頭髪試料 (メタノール洗浄液及びアルカリ可溶化液-液抽出物) を LC-MS/MS で分析した結果を Table 9 に示した。また、救急搬送時血清試料抽出物、解剖時尿試料 (β -グルクロニダーゼ未処理)、頭髪アルカリ可溶化抽出物の LC-MS/MS MRM クロマトグラムをそれぞれ Fig. 4, 5, 6 に示した。

救急搬送時及び解剖時の血液と血清試料からは、もともと一回使用量が多い sulpiride (うつ病治療として 1 日投与量 150-300 mg, 統合失調症治療薬として 1 日投与量 300-600 mg) が 1 μ g/mL 程度と、他検出薬物と比較すると高濃度検出された。次いで濃度順に MAM-2201 の酸化的脱ハロゲン化代謝物 JWH-122 N-5OH, 未変化体 MAM-2201, 処方薬 brotizolam (不眠症治療薬として 1 回 0.25 mg 投与), そして酸化的脱ハロゲン化代謝物

JWH-122 pentatonic acid が検出された。救急搬送時と解剖時の試料中濃度を比較すると、MAM-2201 及び JWH-122 N-5OH 濃度が、解剖時試料は大きく減少していた。救急搬送時に試料を採取した後、死亡までの時間、また死亡後解剖までの時間で代謝・分解が進んだと考えられる。今回は血液及び血清試料について β -グルクロニダーゼ処理は行っていないが、処理を行うことにより、JWH-122 N-5OH 濃度はさらに増加することが予想される。

解剖時尿試料 (β -グルクロニダーゼ処理) からは、濃度順に sulpiride, JWH-122 N-5OH, MAM-2201, JWH-122 pentatonic acid が検出された。特に sulpiride については、15.5 μ g/mL と高濃度検出され、未変化体 MAM-2201 も 0.46 ng/mL 検出された。また、尿試料においては、水酸基の位置は特定できないが、MAM-2201 の *N*-脱アルキル 1 水酸化インドール体と推定されるピークも検出された (*m/z* 302 > *m/z* 169) (Fig. 5)。 β -グルクロニダーゼ処理の尿試料においては、JWH-122 N-5OH の濃度が未処理試料濃度の 3 倍近くまで上昇したが、sulpiride については、酵素処理中 (弱酸性条件) に分解するため、検出することはできなかった。

頭髪洗浄液からは MAM-2201 (0.39 ng/mg), JWH-122 N-5OH (0.08 ng/mg) 及び sulpiride (1.1 ng/mg) が、頭髪アルカリ可溶化抽出物からは MAM-2201 (0.15 ng/mg) が検出された。洗浄液中から検出される薬物は、喫煙中に気化成分が頭髪外部に付着したものと、汗、皮脂を通じて付着したものが考えられた。また、特に今回は、毛根付き頭髪試料であることから、血中から毛根部分に移行していた薬物である可能性も考えられた。救急搬送時の薬物スクリーニング分析において、特に喫煙で摂取した場合、頭髪洗浄液は直前の使用薬物を推測するのに有用な試料と考えられた。頭髪アルカリ可溶化抽出物から MAM-2201 が検出されたが、別途、頭髪 25 本を根元より 1 cm ずつ分画して、各画分中の MAM-2201 濃度を測定したところ、どの画分においても同程度の濃度であつ

た。従って、これはメタノールによる洗浄が十分ではなかったため、外部に付着していた薬物が洗浄しきれいでいなかった可能性が高いと考えられた。

今回、いずれの試料からも、MAM-2201の特異的な代謝物と推定される MAM-2201 *N*-4OH は検出されなかった。K. C. Chimalakonda らは、過去の論文において、MAM-2201 と同様に Naphthoylindole 骨格を有し、*N*-alkyl 側鎖末端にフルオロ基を有する AM-2201 のヒト肝マイクロゾーム、リコンビナント P450s、ヒト尿中の代謝物をフルオロ基を有しない構造類似化合物 JWH-018 と比較している^{5, 6)}。報告によると、フルオロ基がない JWH-018 においては ω -酸化体 (JWH-018 *N*-(5-hydroxy)metabolite 及び JWH-018 pentatonic acid) と共に、 ω 1-酸化体 JWH-018 *N*-(4-hydroxy)metabolite が主代謝物として検出されている。一方、AM-2201 においては、酸化的脱ハロゲン化体である JWH-018 *N*-(5-hydroxy)metabolite 及び JWH-018 pentatonic acid は主代謝物として検出されたが、 ω 1-酸化体 AM-2201 *N*-(4-hydroxy)metabolite はマイナー代謝物であった。*N*-alkyl 側鎖末端がハロゲンに置換された化合物においては、 ω 1-酸化が進みにくいことが予想される。今回、ヒト生体試料中から、未変化体 MAM-2201 とともに、JWH-122 *N*-5OH 及び JWH-122 pentatonic acid は検出されたが、MAM-2201 *N*-4OH が検出されなかったことは、上述した論文の結果と矛盾していない。以上の結果を考慮すると、すでに麻薬として規制されている JWH-122 と MAM-2201 の摂取識別においては、両化合物の主代謝物 ω -酸化体 JWH-122 *N*-5OH 及び JWH-122 pentatonic acid が同一であるため、それぞれの未変化体、もしくは JWH-122 摂取においては主代謝物のひとつと推測される ω 1-酸化体 JWH-122 *N*-(4-hydroxy)metabolite を検出する必要があると考えられた。

なお、本研究とは別に、MAM-2201 が関与した救急搬送 2 例の生体試料中薬物分析を行った。その結果、JWH-122 *N*-5OH が血清試料 (104.0 ng/mL) 及びグルクロニダーゼ処理済尿試料 (230.1

ng/mL) から高濃度検出された 1 例において、MAM-2201 *N*-4OH も検出された (それぞれの試料中 0.29 ng/mL 及び 2.15 ng/mL) (Data were not shown)。

5. その他生体試料から検出された薬物

それぞれの生体試料の抽出物について、UPLC-QTOF による分析を行い、Waters 社から供与された麻薬・向精神薬ライブラリー (約 880 化合物の保持時間と分子関連イオン及びプロダクトイオン (フラグメントイオン) の精密質量が登録) を用いて含有薬物の検索を行った。その結果、Fig. 7 に示した通り、頭髪アルカリ可溶化抽出物において、向精神薬 zolpidem が高い確率でヒットした。そこで、zolpidem の標準溶液について、UPLC-QTOF 及び UPLC-MS/MS (MRM モード、 m/z 308 > m/z 236, 分離分析カラム及び移動相組成が UPLC-QTOF とは異なる) 分析を行った結果、頭髪抽出物中のピークと zolpidem のピークは完全に一致した。本研究において定量分析は行っていないが、標準溶液とのピーク面積比を考慮すると、頭髪中 zolpidem 濃度は 15 ng/mg 程度であることが推測された。

D. 結論

“脱法ハーブ” が関与したと考えられる死亡 1 事例において、生体試料中含有薬物の検討を行った。死亡男性が所持していた 3 製品 (乾燥植物細片) いずれからも MAM-2201 (73.5-81.7 mg/g) が検出され、さらに 1 製品からは MAM-2201 とともに JWH-122 *N*-(4-pentenyl)analog (6.1 mg/g) 及び JWH-122 *N*-5OH (6.4 mg/g) が検出された。生体試料においては、上記 3 化合物に加えて、MAM-2201 の推定 3 代謝物 (MAM-2201 *N*-4OH, JWH-122 *N*-5OH, JWH-122 pentatonic acid), 処方薬 sulpiride, brotizolam, ethyl loflazepate を分析対象とし、LC-MS/MS MRM モードで定量分析を行った。その結果、頭髪洗浄液からは MAM-2201 (0.39 ng/mg), JWH-122 *N*-5OH (0.08 ng/mg) 及び sulpiride (1.1 ng/mg) が、頭髪アルカリ可溶化抽出物からは MAM-2201 (0.15 ng/mg) が検出された。救急

搬送時の薬物スクリーニング分析において、喫煙で摂取した場合、頭髮洗浄液は直前の使用薬物を推測するのに有用な試料と考えられた。また、搬送時及び解剖時の血液と血清試料からは、処方量が多い sulpiride が高濃度検出され、次いで濃度順に JWH-122 N-5OH, MAM-2201, brotizolam, JWH-122 pentatonic acid が検出された。解剖時尿試料からは、濃度順に sulpiride, JWH-122 N-5OH, MAM-2201, JWH-122 pentatonic acid が検出された。本研究においては、生体試料中から未変化体 MAM-2201 は検出されたが、その特異的代謝物である MAM-2201 N-4OH は検出されなかった。JWH-122 と MAM-2201 の摂取識別においては、主代謝物 ω -酸化体 JWH-122 N-5OH 及び JWH-122 pentatonic acid が同一であるため、未変化体、もしくは JWH-122 摂取において主代謝物のひとつと推測される JWH-122 N-(4-hydroxy)metabolite を検出する必要があると考えられた。その他薬物について LC-QTOF によりスクリーニング分析を行った結果、頭髮のアルカリ可溶化抽出物から zolpidem が検出された。

今回の分析において生体試料から検出された MAM-2201 及びその代謝物濃度を考慮すると、本化合物が直接の死亡原因と結論することは困難であるが、MAM-2201 は麻薬である JWH-018 や JWH-122 よりもカンナビノイド CB₁ 受容体に対し強い結合性を有する²⁾。また、naphthoylindole 構造を有する合成カンナビノイドは脂溶性が高く、水酸化代謝物も強い活性を維持していることが報告されており⁶⁾、薬物が長時間活性を維持したまま体内に貯留している可能性も考えられる。使用者の健康状況、他の薬物使用状況などによっては、大きな健康被害を与える可能性があると考えられた。

なお、MAM-2201 は 2012 年 10 月 17 日 (11 月 16 日施行) に指定薬物に、さらに現在 (2013 年 2 月 27 日～3 月 28 日まで)、麻薬指定のためのパブリックコメントが募集されている (2013 年 4 月 26 日麻薬指定公布、5 月 26 日施行)。

F. 参考文献

- 1) 厚生労働科学研究補助金 (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) 「違法ドラッグに関する分析情報の収集及び危害影響予測に関する研究」(H24-医薬一般-009) 平成 24 年度研究分担報告「平成 24 年度買い上げ違法ドラッグ製品の流通実態調査」(内山奈穂子)。
- 2) 厚生労働科学研究補助金 (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) 「違法ドラッグに関する分析情報の収集及び危害影響予測に関する研究」(H24-医薬一般-009) 平成 24 年度研究分担報告「新規流通違法ドラッグの *in vitro* 活性評価について」(花尻 (木倉) 瑠理)。
- 3) A. Derungs, A. E. Schwaninger, G. Mansella, R. Bingisser, T. Kraemer, M. E. Liechti: Symptoms, toxicities, and analytical results for a patient after smoking herbs containing the novel synthetic cannabinoid MAM-2201. *Forensic Toxicol* (2013) 31:164–171.
- 4) C. L. Moran, V. H. Le, K. C. Chimalakonda, A. L. Smedley, F. D. Lackey, S. N. Owen, P. D. Kennedy, G. W. Endres, F. L. Ciske, J. B. Kramer, A. M. Kornilov, L. D. Bratton, P. J. Dobrowolski, W. D. Wessinger, W. E. Fantegrossi, P. L. Prather, L. P. James, A. Radomska-Pandya, J. H. Moran: Quantitative measurement of JWH-018 and JWH-073 metabolites excreted in human urine. *Anal Chem.* (2011) 83(11):4228-4236.
- 5) K. C. Chimalakonda, C. L. Moran, P. D. Kennedy, G. W. Endres, A. Uzieblo, P. J. Dobrowolski, E. K. Fifer, J. Lapoint, L. S. Nelson, R. S. Hoffman, L. P. James, A. Radomska-Pandya, J. H. Moran: Solid-phase extraction and quantitative measurement of omega and omega-1 metabolites of JWH-018 and JWH-073 in human urine. *Anal Chem.* (2011) 83(16):6381-6388.
- 6) K. C. Chimalakonda, K. A. Seely, S. M. Bratton, L. K. Brents, C. L. Moran, G. W. Endres, L. P. James, P. F. Hollenberg, P. L. Prather, A. Radomska-Pandya, J. H. Moran: Cytochrome P450-Mediated Oxidative Metabolism of Abused Synthetic Cannabinoids Found

in K2/Spice: Identification of Novel Cannabinoid
Receptor Ligands. *Drug Metab Dispos* (2013)
40:2174–2184.

G 健康危機情報

いわゆる脱法ハーブ製品が関与した死亡例において、被害者が搬送される直前に摂取していた脱法ハーブ製品及び被害者の血液、血清、尿、頭髮から、合成カンナビノイド MAM-2201 を検出した。本化合物がヒトに対し重篤な健康危害を与える可能性が危惧される。

H. 研究発表

1. 学会発表

花尻（木倉）瑠理，河村麻衣子，菅野さな枝，永井智紀、高田女里，向井敏二，合田幸広：いわゆる「脱法ハーブ」使用者生体試料からの薬物分析例，日本薬学会第 133 年会（2013.3，横浜）

2. 論文発表

特になし。

I. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

特になし。

2. 実用新案登録

特になし。

Table 1 Analytical condition of UPLC-MS/MS

Compounds		Retention time (min)	Product ions	Cone voltage (V)	Collision voltage (V)
Compounds detected in the products	MAM-2201	12.4	374 > 169	25	30
	JWH-122 N-5OH ^{*1}	10.9	372 > 169	25	30
	JWH-122 N-(4-pentenyl)analog	12.9	354 > 169	25	30
Metabolites of MAM-2201	MAM-2201 N-4OH	10.8	390 > 169	25	30
	JWH-122 N-5OH ^{*1}	10.9	372 > 169	25	30
	JWH-122 N-pentanoic acid metabolite	10.7	386 > 169	25	30
	MAM-2201 monohydroxy N-alkyl or indole metabolite		390 > 169	25	30
	MAM-2201 dihydroxy N-alkyl or indole metabolite		406 > 169	25	30
	MAM-2201 monohydroxy naphthyl metabolite	Putative	390 > 185	25	30
	MAM-2201 dihydroxy naphthyl metabolite		406 > 185	25	30
	MAM-2201 N-dealkyl monohydroxy indole metabolite		302 > 169	25	30
Prescription medicines	Sulpiride ^{*2}	3.8	342 > 112	25	30
	Brotizolam	9.0	395 > 314	25	30
	Ethyl Loflazepam	10.0	361 > 259	25	25
IS	JWH-007-d9	13.2	365 > 155	25	30

*1 Same compounds

*2 Sulpiride and the other compounds were analyzed separately because of its high concentration in biological samples.

Table 2 Validation of results of the HPLC analyses of MAM-2201, JWH-122 N-(4-pentenyl)analog and JWH-122 N-(5-hydroxypentyl)analog (JWH-122 N-5OH) in the products

	LOD (µg/mL)	Linear range (µg/mL)	Linearity (r^2)	Precision (%)			Accuracy (%)		
				25 µg/mL	100 µg/mL	200 µg/mL	25 µg/mL	100 µg/mL	200 µg/mL
MAM-2201	0.1	25-200	0.998	3.4	1.3	0.3	5.9	-	12.0
				5 µg/mL	20 µg/mL	40 µg/mL	5 µg/mL	20 µg/mL	40 µg/mL
JWH-122 N-(4-pentenyl)analog	0.2	5-40	0.996	5.0	0.2	3.1	-6.6	-8.5	-21.0
JWH-122 N-5OH	0.05	5-40	0.999	1.4	0.9	1.9	-9.9	10.1	-19.2

Table 3 Validation of results of the LC-MS/MS analyses of targeted compounds in blood and serum samples

	LOD (ng/mL)	LOQ (ng/mL)	Linear range (ng/mL)	Linearity (r^2) (weigh 1/x)	Precision (%)					Accuracy (%)				
					0.2 ng/mL	0.5 ng/mL	1 ng/mL	10 ng/mL	100 ng/mL	0.2 ng/mL	0.5 mg/mL	1 ng/mL	10 ng/mL	100 ng/mL
MAM-2201	0.05	0.2	0.2-100.0	0.983	3.1	-	8.5	3.6	4.1	-9.0	-	6.5	4.2	2.9
JWH-122 N-(4-pentenyl)analog	0.05	0.2	0.2-100.0	0.987	12.4	-	8.5	7.4	2.8	1.0	-	-4.4	-6.4	4.2
JWH-122 N-5OH	0.05	0.5	0.5-100.0	0.995	-	14.3	1.5	1.1	2.2	-	26.8	14.1	-5.1	8.8
JWH-122 N-pentanoic acid	0.1	0.2	0.2-100.0	0.995	7.4	-	6.9	12.1	2.7	5.7	-	4.8	0.3	11.5
MAM-2201 N-4OH	0.1	0.2	0.2-10.0	0.979	11.6	-	2.5	3.5	-	7.5	-	2.0	15.2	-
Brotizolam	0.2	1.0	1.0-100.0	0.987	-	-	23.4	11.0	6.8	-	-	12.6	5.5	-0.2
Ethyl Loflazepam	0.2	0.5	0.5-100.0	0.991	-	10.8	13.4	15.7	7.0	-	16.0	-7.6	-7.2	9.8
Sulpiride (x 20 MeOH)	2.0	10.0	10.0-1000.0	0.996	10.0 ng/mL 3.6	50.0 ng/mL 15.7	100.0 ng/mL 6.4	1000 ng/mL 4.8	-	10.0 ng/mL -3.3	50.0 ng/mL -5.9	100.0 ng/mL -2.7	1000 ng/mL -0.8	-

Table 4 Validation of results of the LC-MS/MS analyses of targeted compounds in urine samples

	LOD (ng/mL)	LOQ (ng/mL)	Linear range (ng/mL)	Linearity (r^2) (weigh 1/x)	Precision (%)				Accuracy (%)			
					0.05 ng/mL	0.1 ng/mL	2 ng/mL	20 ng/mL	0.05 ng/mL	0.1 ng/mL	2 ng/mL	20 ng/mL
MAM-2201	0.01	0.05	0.05-50	0.987	12.8	12.1	8.2	5.1	-10.8	27.7	5.7	-5.5
JWH-122 N-(4-pentenyl)analog	0.01	0.05	0.05-50	0.997	13.6	4.7	8.7	3.6	32.9	23.7	-13.8	-12.2
JWH-122 N-5OH	0.02	0.05	0.05-50	0.996	20.2	14.4	11.1	7.2	-3.2	19.2	-15.4	-8.5
JWH-122 N-pentanoic acid	0.01	0.05	0.05-50	0.994	23.7	8.3	12.8	5.1	24.5	18.1	-0.1	-11.1
MAM-2201 N-4OH	0.02	0.1	0.1-50	0.979	-	27.0	9.4	5.7	-	15.7	13.3	2.9
Brotizolam	0.02	0.1	0.1-50	0.992	-	24.1	11.0	1.4	-	16.3	-15.8	-15.0
Ethyl Loflazepam	0.01	0.1	0.1-50	0.993	-	7.7	12.0	6.7	-	25.9	-9.6	-13.9
Sulpiride(x 20 MeOH)	$\mu\text{g/mL}$ 0.02	$\mu\text{g/mL}$ 0.2	$\mu\text{g/mL}$ 0.2-10	0.983	0.2 $\mu\text{g/mL}$ 7.9	1 $\mu\text{g/mL}$ 9.4	10 $\mu\text{g/mL}$ 11.7	-	0.2 $\mu\text{g/mL}$ 17.8	1 $\mu\text{g/mL}$ 27.7	10 $\mu\text{g/mL}$ -12.2	-

Table 5 Validation of results of the LC-MS/MS analyses of targeted compounds in urine samples after treatment with β -glucuronidase

	LOD (ng/mL)	LOQ (ng/mL)	Linear range (ng/mL)	Linearity (r^2) (weigh 1/x)	Precision (%)				Accuracy (%)			
					0.5 ng/mL	1 ng/mL	20 ng/mL	200 ng/mL	0.5 ng/mL	1 ng/mL	20 ng/mL	200 ng/mL
MAM-2201	0.1	1	1.0-200	0.992	-	8.2	12	2.7	-	9.8	9.5	1.7
JWH-122 N-(4-pentenyl)analog	0.1	1	1.0-200	0.994	-	4.3	9.7	4.1	-	16.3	5.8	-0.1
JWH-122 N-5OH	0.1	0.5	0.5-1000	0.994	6.9	11.8	17.3	11.4	-16.8	23.1	-6.2	-8.6
JWH-122 N-pentanoic acid	0.1	1	1.0-200	0.991	-	23.4	17.8	7.6	-	21.5	-0.4	-2.7
MAM-2201 N-4OH	0.1	0.5	0.5-100	0.997	29.1	26.9	26.3	18.4 (100 ng/mL)	-27.9	14.9	-8.0	-11.6 (100 ng/mL)

Table 6 Validation of results of the LC/MS/MS analyses of targeted compounds in wash solvents of hair samples

	LOD (ng/mg)	LOQ (mg/mg)	Linear range (ng/mg)	Linearity (r^2) (weigh 1/x)	Precision (%)			Accuracy (%)		
					0.1 ng/mg	1.0 ng/mg	10.0 ng/mg	0.1 ng/mg	1.0 ng/mg	10.0 ng/mg
MAM-2201	0.002	0.1	0.1-10.0	0.997	22.5	12.4	1.6	18.5	20.7	-2.1
JWH-122 N-(4-pentenyl)analog	0.002	0.01	0.01-10.0	0.999	21.2 (0.01 ng/mg)	18.1	5.4	30.0 (0.01 ng/mg)	19.7	-6
JWH-122 N-5OH	0.002	0.1	0.1-10.0	0.998	19.2	10.8	2.1	12.8	20.2	-3.1
JWH-122 N-pentanoic acid	0.005	0.1	0.1-10.0	0.999	9.1	8.9	1.7	9.7	23.2	-1.7
MAM-2201 N-4OH	0.005	0.1	0.1-10.0	0.999	19.4	15.3	5.5	-5	18.9	-4
Brotizolam	0.02	0.1	0.1-10.0	0.998	23.4	20.1	5.4	-20.6	17.1	-8.8
Ethyl Loflazepam	0.005	0.1	0.1-10.0	0.998	24.8	17.4	4.8	5.5	29.1	-7.7
Sulpiride	0.5	0.1	0.1-10.0	0.997	20.1	9.6	6	-0.7	23.9	-9.7

Table 7 Validation of results of the LC/MS/MS analyses of targeted compounds in hair samples

	LOD (ng/mg)	LOQ (ng/mg)	Linear range (ng/mg)	Linearity (r^2) (weigh 1/x)	Precision (%)			Accuracy (%)				
					0.05 ng/mg	0.1 ng/mg	0.5 ng/mg	5 ng/mg	0.05 ng/mg	0.1 ng/mg	0.5 ng/mg	5 ng/mg
MAM-2201	0.01	0.1	0.1-5.00	0.974	-	15.6	5.9	10.7	-	-1.6	28.7	10.4
JWH-122 N-(4-pentenyl)analog	0.01	0.05	0.05-5.00	0.987	17.4	-	9.6	11.5	-6.6	-	13.3	7.9
JWH-122 N-5OH	0.01	0.05	0.05-5.00	0.996	10.6	-	11.7	14.1	-23.4	-	9.4	6.6
JWH-122 N-pentanoic acid	0.01	0.05	0.05-5.00	0.983	24.8	-	14.4	10.2	-10.6	-	25.6	12.5
MAM-2201N-4OH	0.05	0.1	0.1-5.00	0.972	-	29.1	16.8	14.4	-	23.5	5.8	19.7
Brotizolam	0.02	0.1	0.1-5.00	0.995	-	14.2	19.1	13.7	-	24.3	14.1	11.3

Table 8 Quantitative analyses of psychotropic substances detected in the three products

Products	Forms	Compounds	Amounts (mg/g)
A	Dried cutting leaves	MAM-2201	87.7 ± 1.3
B	Dried cutting leaves	MAM-2201	81.7 ± 5.9
C	Dried cutting leaves	MAM-2201	73.5 ± 3.6
		JWH-122 N-(4-pentenyl)analog	6.1 ± 0.3
		JWH-122 N-5OH	6.4 ± 0.3

Table 9 Quantitative analyses of the psychotropic substances, their putative metabolites and the prescription medicines found in the biological samples taken from an emergency admission to hospital after an intake of an herbal product or products.

		Compounds (ng/mL)							
		MAM-2201	JWH-122 N-(4-pentenyl)amalog	JWH-122 N-5OH	JWH-122 N-pentanoic acid	MAM-2201 N-4OH	Sulpiride (µg/mL)	Brotizolam	Ethyl Loflazepate
Emergency medical treatment	Blood	4.42 ± 1.00	ND	45.33 ± 7.70	0.21 ± 0.00	ND	1.10 ± 0.02	2.50 ± 0.30	ND
	Serum	5.46 ± 0.20	ND	100.43 ± 18.20	0.58 ± 0.10	ND	0.92 ± 0.03	4.98 ± 1.00	ND
Postmortem examination	Blood	0.20 ± 0.01	ND	1.38 ± 0.13	0.27 ± 0.05	ND	0.75 ± 0.17	0.65 ± 0.05	ND
	Serum	0.32 ± 0.00	ND	3.36 ± 0.20	0.85 ± 0.10	ND	1.67 ± 0.20	1.06 ± 0.20	ND
	Urine (n=1)	0.46	ND	1.16	0.14	ND	15.5	ND	ND
	Urine (glucuronidase)	0.55 ± 0.10	ND	3.37 ± 0.30	ND	ND	—	ND	ND
	Hair/ wash solvent	0.39 ± 0.18	TR	0.08 ± 0.05	ND	ND	1.08 ± 0.25	ND	ND
Hair/ alkali digestion	0.15 ± 0.01	ND	ND	ND	ND	-	ND	ND	

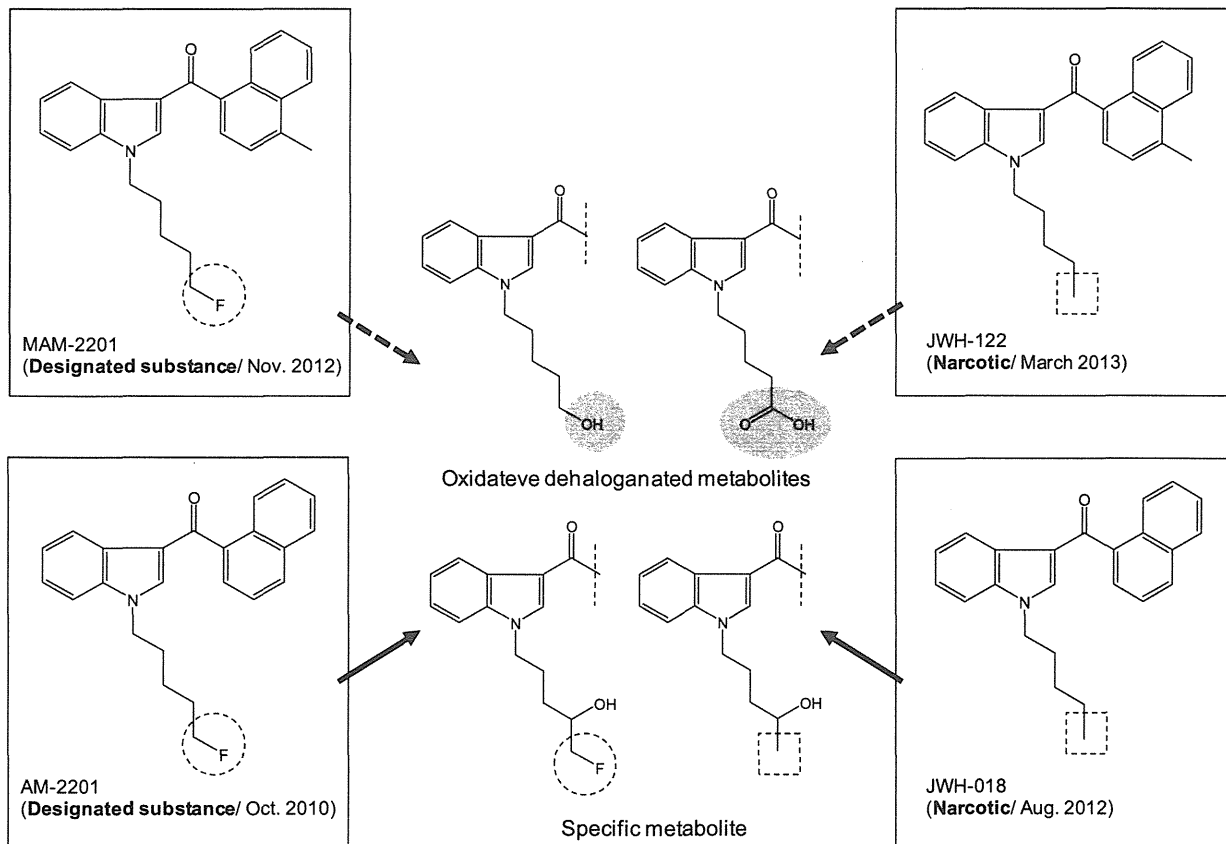


Fig. 1 *N*-Alkyl oxidative metabolites of JWH-018, AM-2201 and their 4-methylnaphthyl compounds JWH-122 and MAM-2201