

201427014A

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

政策研究事業

乱用薬物の鑑別法に関する研究

平成 26 年度 総括・分担研究報告書

(H25-医薬-一般-019)

研究代表者 内山 奈穂子

平成 27 (2015) 年 3 月

平成 26 年度 総括・分担研究報告書

乱用薬物の鑑別法に関する研究

## 目 次

I. 総括研究報告書		
乱用薬物の鑑別法に関する研究		
内山 奈穂子	.....	1
II. 分担研究報告書		
1. 法規制薬物(植物を含む)の分析と鑑別に関する研究		
内山 奈穂子		
法規制薬物の TLC 及び呈色試薬による識別法		
内山 奈穂子	.....	11
薬物簡易スクリーニングキットを用いた法規制薬物の識別法の検討		
内山 奈穂子	.....	21
2. 法規制薬物の代謝と分析及び鑑別に関する研究		
花尻(木倉) 瑠理		
LC-MS/MS を用いたヒト生体試料中危険ドラッグ成分の定量分析		
花尻(木倉) 瑠理	.....	37
固相分散抽出-GC/MS 法によるヒト血清中合成カンナビノイドの分析法の検討		
阿久津 守	.....	47
尿中指定薬物の鑑定試験法に関する検討		
津村 ゆかり	.....	57
3. コンピュータモデリングによる法規制薬物の代謝物予測に関する研究		
出水 庸介		
コンピュータモデリングによる合成カンナビノイドの代謝物予測に関する研究(2)		
出水 庸介	.....	69
4. DNA を用いた法規制植物の識別法に関する研究		
緒方 潤		
法規制植物の LAMP 法を用いた簡易検出法の詳細検討		
緒方 潤	.....	87
大麻種子 1 粒からのマイクロサテライトマーカーを用いた識別法の検討(2)		
緒方 潤	.....	95

5. 遺伝子情報を利用したケシ属植物の鑑別に関する研究  
河野 徳昭

ケシ属植物の遺伝子鑑別法の開発に関する研究 河野 徳昭	.....	101
研究成果の刊行に関する一覧表	.....	111

## 乱用薬物の鑑別法に関する研究

研究代表者:内山 奈穂子 国立医薬品食品衛生研究所生薬部 主任研究官

研究要旨:近年、「指定薬物」から積極的な「麻薬」への指定が進み、平成24年度から平成26年8月までに、指定薬物のうち合成カンナビノイド及びカチノン系化合物を含む16化合物が新たに麻薬として規制された。従って、麻薬など法規制薬物とその他未規制化合物を迅速且つ正確に識別することは司法的な観点からも非常に重要である。また、大麻やケシ等の法規制植物に関しては、各植物における種や栽培品種の簡便で厳密な鑑別法の確立が、有効な規制を行うために重要な課題となっている。本研究では、法規制薬物の中で、麻薬・向精神薬取締法及びあへん法など関連4法で厳しく規制される薬物及び植物、さらに今後これらの法律により規制される可能性の高い薬物及び植物について、迅速かつ効果的な分析と鑑別を目的として、以下の研究を行った。

法規制薬物の分析に関しては、法規制薬物及びその構造類似化合物として、PCP 類、フェンタニル類、ケタミン類及び MDMA 類、計 51 化合物を対象として、TLC 分析を行い、Rf 値及び呈色試薬による発色を確認した。その結果、TLC 分析により各化合物群内においては概ね良好に分離した。また、各化合物群により、特徴的な呈色がみられる事例や、一斉検出に適する呈色試薬が異なることが示された。従って、両分析は、法規制薬物等を識別する際の簡易且つ迅速な予試験法として有用であることが示唆された。さらに、5 種類の法規制薬物(フェンタニル、ケタミン、PCP、メタンフェタミン、MDMA)それぞれを検出対象薬物とした簡易薬物スクリーニングキットを用いて法規制薬物及び未規制薬物、計 78 化合物を対象として検出法を評価した結果、複数薬物同時検出可能な 2 種のキットを含め、各検出キットにおいて、例外はあるものの、各対象薬物の一置換体(ハロゲンやメチル基など)が概ね陽性の結果となった。また、危険ドラッグ製品について検討したところ、対象薬物含有製品のみが陽性であったことから、製品自体への応用も可能であると考えられた。今回検討を行ったキットでは、法規制薬物及び未規制薬物を区別することは困難であった。しかし、新たな流通が危惧されるフェンタニル、ケタミン、PCP 等の構造類似体の簡易検出法の一つとして有用であると考えられた。

法規制薬物の生体試料分析に関しては、危険ドラッグが関与すると考えられている死亡事例を分析した結果、4 事例のうち、1 事例においては 1 種類の合成カンナビノイド及びその代謝物 5 化合物が検出され、残りの 3 事例からは、薬理作用が異なる複数の危険ドラッグ成分が同一試料から検出された。特に 2 事例からは、それぞれ 11 種類の化合物(及び代謝物)が検出され、乱用者の危険な使用実態が明らかになった。麻薬に指定された合成カンナビノイド 7 化合物について、固相分散抽出法-GC/MS 法により、血清中の検出法の検討を行った。同法は、簡便かつ迅速な抽出法であり、ほぼ閉鎖系で抽出を行うため、実験者への感染を回避し易い安全な前処理法であった。従って、合成カンナビノイドの血中未変化体の確認試験法として有用であることが示唆された。また、指定薬物 10 物質について LC-TOF-MS による尿からのスクリーニング分析を検討した結果、正確な保持時間情報が無くても 2.5~50 ng/mL の濃度(尿中)まで検出できた。よって、尿中の指定薬物を幅広くスクリーニング

できる鑑定法としての可能性が示唆された。

さらに、法規制薬物の鑑別法におけるコンピュータシミュレーションの妥当性について検証することを目的し、ホモロジーモデリングにより立体構造を構築したカンナビノイド CB1 受容体と様々な CB1 リガンド(合成カンナビノイドおよび  $\Delta^9$ -THC, 計 69 種類)のドッキングシミュレーションを行った。その結果、これらのリガンドは CB1 リガンド結合領域中に存在する広い疎水性空間において疎水性相互作用することで安定化していることが示唆された。さらに、それぞれのリガンドの受容体に対する結合エネルギーと活性の相関関係評価を行った。

植物関係では、LAMP法を用いた法規制植物由来DNAの目視判定法の検討を行った。本法は光学機器を使用せず、全工程3時間程度で検出が可能で、試料中5%程度の植物片の含有もしくは、DNA単独であれば0.5 ng程度で分析が可能であった。また、判定指示薬としてHNB, BTが使用可能で、両指示薬の併用は誤判定回避に繋がると考えられた。本法は簡易短時間目視判定スクリーニングの有効な手段であると示唆された。また、大麻の産地識別法を目的として、マイクロサテライトマーカー17種を用い、大麻32種の遺伝子型判定を行った。得られた遺伝子型を基に系統樹を作成し、系統間比較を行った結果、系統識別に有効であることが示唆された。さらに、ケシ属のモルヒナンアルカロイド類の生合成機構に関する情報整備を目的として、オリパビンの生合成、とくにテバイン以降の変換に関わると推定される酵素遺伝子の配列16種を取得した。このうち、オニゲシにおいて発現量が高い遺伝子4種について特異的プライマーを設計しPCR増幅を試みところ、3遺伝子でオニゲシ特異的に増幅産物が得られた。これらのプライマーセットはオニゲシ他ケシ属植物の遺伝子鑑別に使用できる可能性が高いと考えられた。

以上、本研究は、厚生労働省の法規制薬物行政と取り締まりに直接的に貢献する内容であり、ひいては、国民の健康・危機リスクを軽減させるものと考えられる。

#### 【分担研究者】

花尻(木倉) 瑠理:国立医薬品食品衛生研究所  
生薬部室長

緒方 潤:国立医薬品食品衛生研究所  
生薬部主任研究官

出水 庸介:国立医薬品食品衛生研究所  
有機化学部室長

河野 徳昭: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筑波研究部  
主任研究員

#### 【協力研究者】

阿久津 守:関東信越厚生局麻薬取締部  
鑑定課鑑定課長

杉江 謙一:関東信越厚生局麻薬取締部  
厚生労働技官

津村 ゆかり:近畿厚生局麻薬取締部

#### 鑑定官

城 克己:近畿厚生局麻薬取締部  
厚生労働技官

吉松 嘉代: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筑波研究部  
育種生理研究室長

河村 麻衣子:国立医薬品食品衛生研究所  
生薬部

#### A. 研究目的

近年、依存性等の中樞毒性が認められた「指定薬物」について積極的な「麻薬」への指定が進み、平成24年度から平成26年8月までに、指定薬物のうち合成カンナビノイド及びカチノン系化合物を含む16化合物が新たに麻薬として規制された。従って、麻薬など法規制薬物とその他未

規制化合物を迅速且つ正確に識別することは司法的な観点からも非常に重要である。分析的な面で考えると、麻薬や覚せい剤の使用罪に対応するため、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確に分析できることが重要となる。また、法規制薬物の場合、現場では様々な使用形態があるため、それぞれの使用形態に対応した分析法が重要となる。法規制植物に関しては、大麻では栽培品種により含有成分が大きく異なることが知られている。ケシ属植物では、一般的に植物の鑑定は難しいため、鑑賞用に誤って違法けしを栽培してしまう事例もある。従って、各植物における種や栽培品種の、簡便で厳密な鑑別法の確立が有効な規制を行うために重要な課題となっている。

研究代表者らは、これまで継続的に法規制薬物及びその代謝物に関する研究を行っており、生体試料(尿、毛髪等)分析による麻薬化合物の摂取識別法を明らかにしてきた。また、植物の鑑別に関する研究では、大麻種子の発芽能力の迅速鑑別法を確立し、鑑定官に対する研修指導を行うなど、取り締まりの現場に直接貢献する研究を行っている。この様に、本研究は、現在厳しく法規制されている薬物及び今後同様に法規制される可能性の高い薬物について、監視・指導麻薬対策課、地方厚生局麻薬取締部等と連絡を取り合いながら現場の諸問題に対応できるように、実態に即した研究を行う点に特徴があり、日本の法規制薬物行政に直接的に貢献することを目的としている。

そこで、本研究では、以下の検討を行った。

麻薬など法規制薬物と未規制化合物との識別のために、各薬物について、呈色試験、TLC、薬物簡易スクリーニングキット(イムノアッセイ法)等により基礎的科学データの収集・整備を行った。また、法規制薬物や今後規制される可能性の高い薬物およびその代謝物を利用した生体試料中の迅速識別法の確立を目的として、危険ドラッグ等の薬物摂取が原因と考えられる死亡事例につ

いて、LC-MS/MS を用いた血清および尿試料中薬物分析の検討を行った。さらに、麻薬取締部の協力のもと、麻薬成分のうち、合成カンナビノイドの生体試料中の迅速検出を目的として、固相分散抽出-GC-MS 法によるヒト血清中の合成カンナビノイドの分析法を検討した。また、2014 年 4 月に使用罪が新設された指定薬物について、尿中の指定薬物を幅広くスクリーニングできる鑑定法が求められていることから、LC-TOF-MS を用いて精密質量から尿中の指定薬物をスクリーニングする方法を検討した。さらに、乱用薬物と特異的受容体との結合様式予測と活性との相関評価、また、その薬物の代謝酵素とのコンピュータモデリングによる代謝物予測を目的として、カンナビノイド CB1 受容体およびそのリガンド(合成カンナビノイドおよび  $\Delta^9$ -THC, 69 種類)について検討を行った。

植物関係では、法規制植物の簡便な鑑別法のひとつとして、法規制植物由来 DNA の Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) を用いた目視判定法の検討を行った。また、アサ(大麻)の DNA 多型に基づいた産地識別法を目的として、マイクロサテライトマーカーによる国内栽培種の大麻の遺伝子型判定を行い、系統識別の有効性を調査した。さらに、法規制植物ケシ属植物について、遺伝子情報を利用した植物種間、品種間、系統間の迅速鑑別法の確立を試みた。

## B. 研究方法

### 1. 法規制薬物(植物を含む)の分析と鑑別に関する研究

#### 1-1. 法規制薬物の TLC 及び呈色試薬による識別法

麻薬など法規制薬物及びその構造類似化合物として、PCP 類及び関連化合物(麻薬 4 化合物, 向精神薬 1 化合物, 指定薬物 9 化合物, 未規制 4 化合物), フェンタニル類(麻薬 1 化合物, 指定薬物 1 化合物, 未規制 5 化合物), ケタミン類(麻薬 1 化合物, 指定薬物 1 化合物, 未規制 4

化合物)及び MDMA 類(麻薬 7 化合物, 指定薬物 2 化合物, 未規制 11 化合物)の計 51 化合物を対象とし, 2 種の展開溶媒を用いて TLC 分析を行い, 各 Rf 値を確認した. また UV 検出及び 4 種類の検出試薬(呈色試薬:ドラーゲンドルフ試薬, ヨウ化白金酸カリウム溶液, マルキス試薬, ニンヒドリン試薬)による発色を確認し, 色調の差異を検討した.

#### 1-2. 薬物簡易スクリーニングキットを用いた法規制薬物の識別法の検討

5 種類の法規制薬物(フェンタニル, ケタミン, PCP, メタンフェタミン, MDMA)それぞれを検出対象薬物とした市販の各薬物簡易スクリーニングキットを用いて, 法規制薬物及び未規制薬物(麻薬 21 化合物, 覚せい剤 2 化合物, 向精神薬 3 化合物, 指定薬物 22 化合物, 未規制 30 化合物:計 78 化合物)を対象として検出法の評価を行った. さらに, 危険ドラッグ製品についても, 検討を行った. 本キットは, 本来尿試料中の対象薬物の検出を目的として用いるが, 本研究では, 化合物本体および製品について, 各キットでの検出法を検討した.

### 2. 法規制薬物の代謝と分析及び鑑別に関する研究

#### 2-1. LC-MS/MSを用いたヒト生体試料中危険ドラッグ成分の定量分析

危険ドラッグが関与したと考えられている死亡事例 4 件(2013~2014 年前半, Case 1~Case 4)の血清及び尿試料を使用した. 我々が構築した LC-MS/MS MRM モードを用いたスクリーニング法により含有化合物の検索を行い, 計 20 種類の危険ドラッグ成分(カチノン系化合物 15 種類, 合成カンナビノイド 2 種類, フェネチルアミン系化合物 1 種類, その他 2 種類)が検出されることを報告しているが, さらに, 検出された 2 種類の合成カンナビノイドの代謝物 7 化合物を加え, 合計 27 化合物を対象として, LC-MS/MS を用いてこれら血清及び尿試料中各薬物の定量分析を実施した.

#### 2-2. 固相分散抽出-GC/MS 法によるヒト血清中合成カンナビノイドの分析法の検討

麻薬に格上げ指定された合成カンナビノイド: JWH-018, JWH-122, JWH-073, カンナビシクロヘキサノール(CCH), XLR11, AM2201, MAM-2201 の 7 化合物に着目し, 試料の前処理として固相分散抽出法(SPDE 法)法を選択し, 固相分散抽出法(SPDE 法)-GC/MS 法により, 血清合成カンナビノイド類の検出法の検討を行った.

#### 2-3. 尿中指定薬物の鑑定試験法に関する検討

本研究においては, 保持時間情報を用いず精密質量のみで尿中の指定薬物をスクリーニングする方法を検討した. 対象とした指定薬物は, 尿から未変化体の検出例が報告されていないナフトイルインドール類である包括指定の合成カンナビノイド 770 物質及び同様に尿からの検出例がほとんどない亜硝酸エステル類 6 物質を除く指定薬物(2015 年 1 月 5 日時点) 661 物質であるが, 種々の系統から 10 物資を選択した. 分析手順は, まず, 尿の除タンパクのみを行う簡単な前処理の後に LC-TOF-MS を行い, 検出された物質の精密質量から指定薬物に該当するものを検索することとした. その後に尿をアルカリ性の条件で抽出して GC-MS を行い, LC-TOF-MS で検出された指定薬物の有無を確認することとした.

#### 3. コンピュータモデリングによる法規制薬物の代謝物予測に関する研究

##### 3-1. コンピュータモデリングによる合成カンナビノイドの代謝物予測に関する研究(2)

MOE(Molecular Operating Environment; CCG 社) Site Finder を用いてカンナビノイドの特異的受容体である CB1 受容体のリガンド結合領域を検出した. さらに検出したリガンド結合領域に対して各 CB1 リガンド(合成カンナビノイドおよび  $\Delta^9$ -THC, 69 種類)とのドッキングシミュレーション(力場: MMFF94X)を行うことで, 受容体に対するリガンドの最安定構造の予測と結合様式の解析を行った.

#### 4. DNA を用いた法規制植物の識別法に関する



## 研究

### 4-1. 法規制植物の LAMP 法を用いた簡易検出法の詳細検討

実験試料は、(独)医薬基盤研究所・薬用植物資源研究センター筑波研究部から分譲された大麻種子(トチギシロ)、および“脱法ハーブ”製品(平成 24 年度分析品)から分離・同定したウスベニタチアオイ(マシュマロウ)の種子より発芽させた葉(乾燥)を使用した。等温(PCR 法は温度変化が必要)での標的 DNA の「増幅」が可能である Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) 法を用い、今年度は精度向上を目的として、HNB に代わる指示薬の検討として、Chlorophosphonazo-III (C-III), BT, XO, XB-I の 4 種の比色試薬・金属指示薬を検討した。また、DNA 量における反応性の検討として、異種植物混合試料からの DNA 抽出を行った。大麻およびウスベニタチアオイの植物片量を変え、サンプルごとに DNA を抽出し、目視判定検出限界を検討した。また、試料中の DNA 濃度も検討した。

### 4-2. 大麻種子 1 粒からのマイクロサテライトマーカーを用いた識別法の検討(2)

実験材料として、関東信越厚生局麻薬取締部より分与された大麻種子海外市場製品 16 種(異なる製品名)(CS), 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て系統保存されているメキシコ産系統種子(CSM) 8 種および日本国内繊維用栽培種トチギシロ種子(CST) 8 種を用い、各種子 1 粒を用い DNA を抽出・精製した。マイクロサテライト(SSR, STR) 分析については、酵素, PCR 反応試薬, DNA 溶液を混合し PCR 反応を行い、得られた反応溶液を解析サンプルとした。ABI Prism 3100-Avant Genetics Analyzer を使用し、GeneMapper v4.1 による SSR 解析を行った。また、新たな塩基マーカーを作製した。得られた配列は DNA データベース上の Whole genome sequences of Cannabis と同源性検索を行いマーカーとしての有用性を調査した。さらに、GeneMapper v4.1 で得られたジェノタイプングデ

ータを GENPOP ソフトウェアにて NJ 法により系統樹を作成した。

### 5. 遺伝子情報を利用したケシ属植物の鑑別に関する研究

#### 5-1. ケシ属植物の遺伝子鑑別法の開発に関する研究

平成 25 年度にケシ属植物より構築した EST ライブラリー及び取得したトランスクリプトーム情報を各種解析に用いた。また、オニゲシの *in vitro* 培養物 POL2 1-1HO より構築した EST ライブラリーより、テバインからオリバピンへの変換に関わると推定される、*2-oxoglutarate/Fe(II)-dependent dioxygenase (DIOX)* 酵素遺伝子の相同遺伝子を探索した。さらに、オニゲシ EST ライブラリー及びトランスクリプトーム情報の解析結果から、ケシと比較し、オニゲシにおいて高発現していると推定される contig を選択し、これらについてゲノム DNA を PCR 増幅するためのプライマーを設計した。これらのプライマーについてオニゲシ、ケシをはじめとするケシ属植物より調製したゲノム DNA を鋳型に PCR を行い、増幅効率、交叉反応性等を検討し、オニゲシ特異的な識別が可能か否か検討した。

## C. 研究結果・考察

### 1. 法規制薬物(植物を含む)の分析と鑑別に関する研究

#### 1-1. 法規制薬物の TLC 及び呈色試薬による識別法

今回検討した対象 51 化合物(PCP 類, フェンタニル類, ケタミン類及び MDMA 類)は、TLC 分析により、各化合物群内においては概ね良好に分離した。また、各呈色試薬により、構造類似化合物内で特徴的な呈色を示す事例もみられた。さらに、各化合物群により、一斉検出に適する呈色試薬が異なることが示された。すなわち、PCP 類および関連化合物の検出には、ヨウ化白金酸試薬及びドラーゲンドルフ試薬が第一選択試薬として有用であると思われた。さらに、

Methylphenidate 類はニンヒドリン試薬では共通して紫色に呈色した。フェンタニル類は, Fentanyl, Acetylfentanyl, Butyrylfentanyl 群と, Norfentanyl, Acetylnorfentanyl 群で, ヨウ化白金酸試薬ドラーゲンドルフ試薬及びニンヒドリン試薬による呈色結果が異なったため, これら化合物の識別に有用であった。ケタミン類は今回検討した呈色試薬による特徴的な差異が認められなかったことから, TLC の Rf 値が識別の参考となった。MDMA 類の検出には, マルクス試薬, ニンヒドリン試薬及びヨウ化白金酸試薬が呈色試薬として有用であると思われた。さらに,  $\beta$ -カルボニル基を有する化合物(bk-MDEA, Methylone, R-MMC, 3,4-EDMC)はマルクス試薬及びニンヒドリン試薬でそれぞれ共通した呈色反応を示し, 識別に有用であった。

### 1-3. 薬物簡易スクリーニングキットを用いた法規制薬物の識別法の検討

5 種類の法規制薬物(フェンタニル, ケタミン, PCP, メタンフェタミン, MDMA)それぞれを検出対象薬物とした簡易薬物スクリーニングキットを用いて評価した結果, 複数薬物同時検出可能な 2 種のキットを含め, 各検出キットにおいて, 例外はあるものの, 各対象薬物の一置換体(ハロゲンやメチル基など)が概ね陽性の結果となった。フェンタニル類は, 7 化合物中 5 化合物が陽性であり[検出限界濃度 (LOD) 1~250 ng/mL], ケタミン類は, 6 化合物中 3 化合物が陽性であった(LOD: 1~250  $\mu$ g/mL)。PCP 類は, 10 化合物中 10 化合物全てが陽性であり(LOD: 25 ng/mL~10  $\mu$ g/mL), その他 6 化合物 (Diphenidine, 2-MeO-diphenidine, MT-45, AH-7921, Methylphenidate, Ethylphenidate) はいずれも陰性であった。メタンフェタミン類は, 10 化合物中 8 化合物が陽性であった(LOD: 0.5~10  $\mu$ g/mL)。また, カチノン類は, メタンフェタミン検出キットを用いたところ, 15 化合物中メカチノンを含む 3 化合物が陽性であった(LOD: 5~10  $\mu$ g/mL)。MDMA 類は, 24 化合物中 6 化合物が陽性であった(LOD: 0.5~10  $\mu$ g/mL)。

危険ドラッグ製品については, 対象薬物含有製品のみが陽性であったことから, 製品自体への応用も可能であると考えられた。

## 2. 法規制薬物の代謝と分析及び鑑別に関する研究

### 2-1. LC-MS/MSを用いたヒト生体試料中危険ドラッグ成分の定量分析

危険ドラッグ摂取起因死亡 4 事例 (Case 1~Case 4) から得た血清及び尿試料について, 生体試料中薬物の定量分析を行った。Case 1 では血清および尿試料からカチノン系化合物 MDPPP (血清 587 ng/mL, 尿 1048 ng/mL) を高濃度検出したほか, 計 10 種類のカチノン系化合物, またオピオイド受容体アゴニスト AH-7921 (235 ng/mL) を検出した。Case 2 においては血清中から合成カンナビノイド 5F-QUPIC を微量検出し, さらに代謝物と推定される 5 化合物を検出した。尿試料からは, 未変化体は検出されず, 代謝物のみ検出可能であった。酵素処理した尿からは 5F-QUPIC の quinoline 構造が脱離した carboxyindole 体, (5F-QUPIC 3-carboxyindole 422.6 ng/mL, QIPIC-COOH 3-carboxyindole 444.2 ng/mL) を高濃度に検出した。Case 3 は血清試料のみ分析し, 3 種類のカチノン系化合物  $\alpha$ -POP, 4F- $\alpha$ -PVP,  $\alpha$ -PHP, また極微量の 5F-QUPIC とその代謝物 3 化合物を検出した。Case 4 では血清および尿試料中から, NMDA 受容体アンタゴニストの Diphenidine が最も高濃度検出された(血清 217 ng/mL, 尿 97 ng/mL)。さらに,  $\alpha$ -PHP (血清 90 ng/mL, 尿 52 ng/mL) 他カチノン系 8 化合物, 合成カンナビノイド 5F-AB-PINACA 及び代謝物 2 化合物, フェネチルアミン系化合物 5-APDB と, 作用の異なる化合物群が混在して検出された。

### 2-2. 固相分散抽出-GC/MS 法によるヒト血清中合成カンナビノイドの分析法の検討

血清を試料として前記の合成カンナビノイド類について測定を行い, 固相分散抽出法の適用性を検討した。その結果, 固相分散抽出法-GC/MS 法は, 簡便かつ迅速な抽出法であり, ほぼ閉鎖

系で抽出を行うため、実験者への感染を回避し易い安全な前処理法であった。また同法による検出限界 ( $S/N > 3$ ) は、2.5 ng/mL (JWH-018, JWH-122, CCH, XLR11, AM2201) 及び 5.0 ng/mL (JWH-073, MAM-2201) で、定量下限 ( $S/N > 10$ ) は、5.0 ng/mL (JWH-018, JWH-122, CCH, XLR11, AM2201) 及び 10.0 ng/mL (JWH-073, MAM-2201) であった。同法は迅速で安全な分析法であり、合成カンナビノイドの血中未変化体の確認試験法として有用であることが示唆された。

### 2-3. 尿中指定薬物の鑑定試験法に関する検討

LC-TOF-MS を用いて精密質量から薬物をスクリーニングし、その結果を GC-MS により確認する一連の方法の構築を試みた。種々の系統から選んだ指定薬物 10 物質について検討した結果、LC-TOF-MS においてピーク高さ 6000 count 以上、質量誤差 10 ppm 以下、安定同位体比 score 40 以上の条件を設定することで、尿中薬物濃度として 2.5~50 ng/mL の検出下限値を得ることができた。ボランティア尿 3 検体を測定した結果、この条件において得られる尿成分由来の擬陽性ピーク(一般的な尿成分と考えられるものを除く)の数は 3~10 本であり、LC における保持時間及び GC-MS による確認試験で陽性の疑いを排除できる数に留まった。本法は尿中指定薬物のスクリーニング分析に適用可能であると考えられた。

### 3. コンピュータモデリングによる法規制薬物の代謝物予測に関する研究

#### 3-1. コンピュータモデリングによる合成カンナビノイドの代謝物予測に関する研究(2)

カンナビノイド CB1 受容体に対して、Site Finder を用いたリガンド結合領域の検出を行った。その結果、CB1 受容体のリガンド結合領域は、広い疎水性空間を持っていることが示唆された。特に、多くのリガンドが CB1 の LEU360, MET363 と疎水性相互作用していることが示唆された。続いて、CB1 受容体リガンド結合領域と 69 種類の CB1 リガンドとのドッキングシミュレーション(リガ

ンドと Alpha 球との一致や、タンパク質との衝突をガウス型の確率密度分布の重なりから評価)によりスコアリングし、各リガンドの安定結合エネルギー (*E refine*) 上位 30 個の構造を抽出した。各リガンドの *E refine* を比較した結果、ほとんどが -26~-22 間に収まっていたが、これらリガンドの結合エネルギーと活性の間に顕著な相関を見出すには至っていない。

### 4. DNA を用いた法規制植物の識別法に関する研究

#### 4-1. 法規制植物の LAMP 法を用いた簡易検出法の詳細検討

各植物種特異的プライマーを用い、法規制植物の LAMP 法を用いた簡易分析法を検討した。まず、HNB に代わる反応指示薬として 4 種の比色試薬・金属指示薬を検討したところ、いずれの試薬も Mg イオンに感受性を示し、色調が変化する試薬であるが、測定 pH 領域、Mg イオン濃度に、本酵素反応の条件を満たす範囲内であるという制約があるため、すべての試薬で色調の変化が見られるという結果は得られなかった。一方で BT 試薬においては色調の変化を確認することが可能であった。しかしながら、酵素反応副産物である Mg イオン濃度に限界があるため、高濃度で BT 試薬(キレート滴定指示薬)を添加することができず、色調としては淡い(薄い)変化であった。HNB との比較では同濃度での発色能力は HNB の方が優れており、目視確認でも容易であった。両試薬を併用することにより誤判定回避が可能と考えられた。

分析試料中の法規制植物含有量における分析能力の検討として、異種植物片混合サンプルを作製し、サンプルごとに DNA を抽出し検討を行った。その結果、試料中に 5%程度の含有があれば分析可能であった。本実験の目的の1つは複数種の植物片が混入される、いわゆる“脱法ハーブ”製品中の法規制植物の検出であり、その簡易分析系として実用可能であることが示唆された。また、法規制植物単独であれば、0.5 ng 程

度のDNA量で判定が可能であり、大量の試料の簡易スクリーニングに用いる分析系として実用可能であると考えられた。

#### 4-2. 大麻種子 1 粒からのマイクロサテライトマーカーを用いた識別法の検討

今回、海外で嗜好目的として販売されている大麻種子 16 種、日本国内で、部分的に隔離栽培された系統保存用の大麻 2 種を用い、その遺伝的多様性を調査し、系統識別の可能性を検討した。用いた 17 種のマイクロサテライトマーカーによる分析において 32 種すべてで同一の多型を示すものは見られなかった。これはマイクロサテライトマーカーの特性であり、その識別の有効性を示すものであった。また、同一集団内での多型の類似性も確認された。系統樹解析において、同一集団が明確にクラスターを形成したことは本法が系統識別に有効であることを強く示唆するものであった。また、CST 集団は無毒大麻と言われ、その生体内の二次代謝産物の成分も他の 24 種と異なる系統であった系統樹でも明確に離れた位置でクラスターを形成していることは大変興味深い。また、海外の無毒大麻として存在する大麻系統との多型性の異なりは今後検討する必要があると思われる。今後は、同一集団から派生した産地の違いや、サンプル数を増やしマーカーの選択、精度向上を行う必要がある。

#### 5. 遺伝子情報を利用したケシ属植物の鑑別に関する研究

##### 5-1. ケシ属植物の遺伝子鑑別法の開発に関する研究

構築並びに解析を進めているケシ属植物の EST(expressed sequence tag)ライブラリーについて、既報のモルヒナンアルカロイド生合成経路の酵素群のうち、テバインからコデインまたはオリパビンを経て、モルヒネへの変換に関わる酵素遺伝子に着目し、オリパビンの生合成、とくにテバイン以降の変換に関わりと推定される酵素遺伝子の配列 16 種を、テバイン脱メチル化酵素(T6ODM)やコデイン脱メチル化酵素(CODM)に代表される 2-

oxoglutarate /Fe(II)-dependent dioxygenase (DIOX)との相同性解析等により取得した。これらの遺伝子の発現量の推定値をオニゲシとケシの間で比較検討し、オニゲシにおいて発現量が高い遺伝子 4 種について、それぞれの特異的プライマーを設計し PCR 増幅を試みた。その結果、オニゲシにおいては 3 遺伝子で増幅産物が得られた。これらのプライマーセットはケシにおいては増幅産物を与えず、オニゲシ他ケシ属植物の遺伝子鑑別に使用できる可能性が示唆された。

#### D. 結論

本研究は、現在厳しく法規制されている薬物及び今度同様に法規制される可能性の高い薬物の迅速かつ効果的な分析及び鑑別法に関する研究であり、厚生労働省の法規制薬物行政と取り締まりに直接貢献することを目的に以下の研究を行った。

法規制薬物の分析に関しては、法規制薬物及びその構造類似化合物として、PCP 類、フェンタニル類、ケタミン類及び MDMA 類、計 51 化合物(麻薬 13 化合物、向精神薬 1 化合物、指定薬物 13 化合物、未規制 24 化合物)について、TLC 分析、UV 検出及び 4 種類の呈色試薬による発色を確認した。その結果、今回検討した対象化合物は、TLC 分析により、各化合物群内においては概ね良好に分離した。また、各呈色試薬により、構造類似化合物内で特徴的な呈色を示す事例もみられた。さらに、各化合物群により、一斉検出に適する呈色試薬が異なることが示された。従って、TLC 及び呈色試薬による分析は、法規制薬物等を識別する際の簡易且つ迅速な予試験法として有用であることが示唆された。また、GC-MS や LC-MS の分析データとともに、TLC 分析データを包括的に蓄積、整備することは、法規制薬物等の識別法を検討する際に有用であると考えられる。

さらに、麻薬成分フェンタニル、ケタミン、PCP、メタンフェタミン、MDMA それぞれを検出対象薬

物とした簡易薬物スクリーニングキットを用いて法規制薬物及び未規制薬物、計 78 化合物を対象として検出法を評価した結果、複数薬物同時検出可能な 2 種のキットを含め、各検出キットにおいて、例外はあるものの、各対象薬物の一置換体(ハロゲンやメチル基など)が概ね陽性の結果となった。特に PCP 類は、10 化合物中 10 化合物全てが陽性であった。また、危険ドラッグ製品について検討したところ、対象薬物含有製品のみが陽性であったことから、製品自体への応用も可能であると考えられた。今回検討を行ったキットでは、法規制薬物及び未規制薬物を区別することは困難であった。しかし、新たな流通が危惧されるフェンタニル、ケタミン、PCP 等の構造類似体の簡易検出法の一つとして有用であると考えられ、今後、救急医療機関などでの活用の可能性が示唆された。

法規制薬物の生体試料分析に関しては、危険ドラッグが関与すると考えられている死亡事例を分析した結果、4 事例のうち、1 事例においては 1 種類の合成カンナビノイド及びその代謝物 5 化合物が検出され(< 444 ng/mL)、残りの 3 事例からは、薬理作用が異なる複数の危険ドラッグ成分が同一試料から検出された。特に 2 事例からは、それぞれ 11 種類の化合物(及び代謝物)が検出され(< 1048 ng/mL)、乱用者の危険な使用実態が明らかになった。

麻薬に格上げ指定された合成カンナビノイド 7 化合物について、固相分散抽出法-GC/MS 法により、血清中の検出法の検討を行った。同法は、簡便かつ迅速な抽出法であり、ほぼ閉鎖系で抽出を行うため、実験者への感染を回避し易い安全な前処理法であった。従って、合成カンナビノイドの血中未変化体の確認試験法として有用であることが示唆された。

また、指定薬物 10 物質について LC-TOF-MS による尿からのスクリーニング分析を検討した結果、正確な保持時間情報が無くても 2.5~50 ng/mL の濃度(尿中)まで検出できた。この条件

において、3 検体のボランティア尿から 11~22 本の擬陽性ピークが検出された。これらのピークのうち 13 本は一般的な尿成分であると推定され、残るピークについても、GC-MS による分析及び LC 保持時間情報により、指定薬物に該当するか否かの判定が可能であると考えられた。

さらに、法規制薬物の鑑別法におけるコンピュータシミュレーションの妥当性について検証することを目的し、本年度は、ホモロジーモデリングにより立体構造を構築した CB1 受容体と様々な CB1 リガンド(69 種類)のドッキングシミュレーションを行うことで、リガンドの受容体に対する結合様式の解析を行った。その結果、これらのリガンドは CB1 リガンド結合領域中に存在する広い疎水性空間において疎水性相互作用することで安定化していることが示唆された。さらに、それぞれのリガンドの受容体に対する結合エネルギーと活性の相関関係評価を行ったが、結合エネルギーと活性の間に顕著な相関を見出すには至っていないことから、①ホモロジーモデリングに用いる GPCR テンプレートの検討を行うことで CB1 受容体の立体構造の再構築を行う。さらに、②リガンドのドッキングシミュレーションの力場の検討を行い結合エネルギーと活性との相関関係評価を行うことで、引き続きコンピュータシミュレーションの妥当性について検証する。

植物関連では、“脱法ハーブ”製品の簡易スクリーニング法のひとつとして、法規制植物由来 DNA の LAMP を用いた目視判定法を検討した。本実験系では電気泳動やシークエンサーなどの機器を使用せず、全工程 3 時間程度で検出が可能であることが示唆され、試料中 5%程度の植物片の含有があれば目視による判定は可能であり、法規制植物由来 DNA 単独であれば 0.5 ng 程度で分析が可能であった。また、HNB に代わる指示薬としては BT も使用可能であることがわかり、両指示薬を併用することにより誤判定回避が可能であると考えられた。大麻では、産地・系統・来歴などの識別に有効とされ、ヒト DNA 鑑定にも用

いられるマイクロサテライトマーカー17種を用い、大麻32種の遺伝子型判定(ジェノタイプング)を行った。得られた遺伝子型を基に系統樹を作成し、系統間の比較を行った結果、系統識別に有効であることが示唆された。

ケシ属植物のESTライブラリーについて、既報のモルヒナンアルカロイド生合成経路の酵素群のうち、テバインからコデインまたはオリパビンを経てモルヒネへの変換に関わる酵素遺伝子に着目し、オリパビンの生合成、とくにテバイン以降の変換に関わると推定される酵素遺伝子の配列16種を取得した。このうち、オニゲシにおいて発現量が高い遺伝子4種について特異的プライマーを設計しPCR増幅を試みところ、3遺伝子でオニゲシ特異的に増幅産物が得られた。これらのプライマーセットはオニゲシ他ケシ属植物の遺伝子鑑別に使用できる可能性が高い。

以上、本研究は、厚生労働省の法規制薬物行政と取り締まりに直接的に貢献する内容であり、ひいては、国民の健康・危機リスクを軽減させるものと考えられる。

E. 健康危険情報  
特になし。

#### F. 研究発表

##### 【論文発表】

- 1) 内山奈穂子, 花尻(木倉)瑠理, 袴塚高志: 薬物簡易スクリーニングキットを用いた危険ドラッグ成分である合成カンナビノイドの識別法の検討, 薬学雑誌 135(3), 535-541 (2015).
- 2) 津村ゆかり: 危険ドラッグの分析, ぶんせき, in press (2015).

##### 【学会発表等】

- 1) 出水庸介, 三澤隆史, 内山奈穂子, 花尻瑠理, 袴塚高志, 栗原正明: 合成カンナビノイドのCB1受容体に対する結合様式解析に

関する研究, 第58回日本薬学会関東支部大会(2014.10, 東京).

- 2) R. Kikura-Hanajiri, M. Kawamura, K. Maebashi, S. Matsumoto, K. Iwadate and T. Hakamatsuka: Screening and quantitative analyses of newly-emerged psychoactive substances in 4 fatal cases using UPLC-MS/MS. TIAFT2014 (Nov. 2014, Buenos Aires)
- 3) 河村麻衣子, 花尻(木倉)瑠理, 前橋恭子, 松本紗里, 岩楯公晴, 袴塚高志: LC-MS/MSを用いたヒト生体試料中危険ドラッグ成分のスクリーニングおよび定量分析, 日本薬学会第135年会(2015.3, 神戸).
- 4) 城克己, 津村ゆかり, 高木敏之: 尿中危険ドラッグの抽出方法の検討, 日本薬学会第135年会(2015.3, 神戸).
- 5) 緒方潤, 阿久津守, 河野徳昭, 吉松嘉代, 川原信夫, 花尻(木倉)瑠理, 袴塚高志: 大麻のSSRマーカーによる系統識別, 日本薬学会第135年会, (2015.3, 神戸)
- 6) 内山奈穂子, 花尻(木倉)瑠理, 袴塚高志: 簡易薬物スクリーニングキットを用いた危険ドラッグ成分の識別法の検討 日本法中毒学会第34年会(2015.6, 福岡, 発表予定)

分担研究報告書

分担研究課題:法規制薬物(植物を含む)の分析と鑑別に関する研究  
分担研究者:内山奈穂子 国立医薬品食品衛生研究所生薬部 主任研究官

— 法規制薬物の TLC 及び呈色試薬による識別法 —

研究要旨: 最近の国内流通危険ドラッグ製品中から, 合成カンナビノイドやカチノン類の他に, 麻薬成分であるフェンシクリジン(PCP), フェンタニル, ケタミンの構造類似化合物などが検出されている。本研究では, 麻薬, 向精神薬等法規制薬物及びその構造類似化合物として, PCP 類及び関連化合物(麻薬 4 化合物, 向精神薬 1 化合物, 指定薬物 9 化合物, 未規制 4 化合物), フェンタニル類(麻薬 1 化合物, 指定薬物 1 化合物, 未規制 5 化合物), ケタミン類(麻薬 1 化合物, 指定薬物 1 化合物, 未規制 4 化合物)及び MDMA 類(麻薬 7 化合物, 指定薬物 2 化合物, 未規制 11 化合物)の 4 群, 計 51 化合物を対象とし, 2 種の展開溶媒を用いて TLC 分析を行い, 各 Rf 値を確認した。また UV 検出及び 4 種類の検出試薬(呈色試薬: ドラーゲンドルフ試薬, ヨウ化白金酸カリウム溶液, マルキス試薬, ニンヒドリン試薬)による発色を確認し, 色調の差異を検討した。その結果, 今回検討した対象化合物は, TLC 分析により, 各化合物群内においては概ね良好に分離した。また, 各呈色試薬により, 構造類似化合物内で特徴的な呈色を示す事例もみられた。さらに, 各化合物群により, 一斉検出に適する呈色試薬が異なることが示された。例えば, PCP 類はヨウ化白金酸試薬及びドラーゲンドルフ試薬, MDMA 類はマルキス試薬, ニンヒドリン試薬及びヨウ化白金酸試薬が一斉検出に適していた。従って, TLC 及び呈色試薬による分析は, 麻薬等法規制薬物を識別する際の簡易且つ迅速な予試験法として有用であると考えられる。

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

A. 研究目的

昨今, いわゆる“脱法ドラッグ”や“脱法ハーブ”と呼ばれる危険ドラッグ製品が広く流通している。また, これら危険ドラッグに起因すると考えられる健康被害や交通事故等が問題となっている。最近の傾向として, 国内流通危険ドラッグ製品中から, 合成カンナビノイド, カチノン類やフェネチルアミン類の他に, 麻薬成分であるフェンシクリジン(PCP), フェンタニル, ケタミンの構造類似化合物などが検出されている。

一般的に, 法規制薬物等を正確に分析, 同定するには, GC-MS や LC-MS などの分析機器が必要となる。しかし, 様々な現場でこれら機器が設置されているとは限らず, また一度に多量の検体を処理するには予試験法があることが望ましい。そこで, 我々は迅速かつ簡易な予試験法として, TLC 及び呈色試薬による分析を行うこととした。

これまでに我々は, 近年麻薬に指定された化合物及びその構造類似麻薬を中心に, 合成カンナビノイド類(7 化合物), カチノン類(麻薬 8 化合物, 向精神薬 2 化合物), フェネチルアミン類(覚せい剤 2 化合物, 覚せい剤原料 1 化合物, 麻薬 13 化合物), トリプタミン類(5 化合物), ピペラジン類及びその他(麻薬 4 化合物, 向精神薬 1 化

合物), 合計 43 化合物について, TLC 及び呈色試薬による分析結果を報告している [1].

本研究では, 麻薬成分である PCP, フェンタニル, ケタミン, MDMA, 及びその構造類似体, 計 51 化合物(麻薬 13 化合物, 向精神薬 1 化合物, 指定薬物 13 化合物, 未規制 24 化合物)について, TLC 分析を行い, Rf 値を確認した. また 4 種類の検出試薬(呈色試薬)による発色を確認した.

## B. 研究方法

### 1. 試料及び試薬

麻薬, 向精神薬, 指定薬物など法規制薬物及びその構造類似化合物として, PCP 類及び関連化合物(麻薬 4 化合物, 向精神薬 1 化合物, 指定薬物 9 化合物, 未規制 4 化合物), フェンタニル類(麻薬 1 化合物, 指定薬物 1 化合物, 未規制 5 化合物), ケタミン類(麻薬 1 化合物, 指定薬物 1 化合物, 未規制 4 化合物)及び MDMA 類(麻薬 7 化合物, 指定薬物 2 化合物, 未規制 11 化合物)の計 51 化合物を対象とした. 各化合物のメタノールまたはアセトニトリル溶液(1 mg/mL)を試験に使用した.

#### 1) PCP 類及び関連化合物:18 化合物

PCP, Rolicyclidine, Tenocyclidine, Etcyclidine, 3-MeO-PCP, 4-MeO-PCP, Benocyclidine, PCPr, PCMPA, PCEEA,

Diphenidine, 2-MeO-diphenidine, MT-45, AH7921, Methylphenidate, Ethylphenidate, Dichloromethylphenidate, Diclofensine

#### 2) フェンタニル類:7 化合物

Fentanyl, Norfentanyl, Acetylfentanyl, Acetylnorfentanyl, Butyryl fentanyl, W-15, W-18

#### 3) ケタミン類:6 化合物

Ketamine, 2-MeO-ketamine, 3-MeO-ketamine, Deschloro-*N*-ethyl-ketamine, Norketamine, Methoxetamine

#### 4) MDMA 類:20 化合物

MDA, MDMA (3,4-MDMA), MDEA

(3,4-MDEA), 2,3-MDA, 2,3-MDMA, N-OH-MDA, N-OH-MDMA, 2-Bromo-4,5-MDMA, 2-Chloro-4,5-MDMA, 3,4-MDPA, MDMA methylene homolog, 3,4-EDMA, N-OH-EDMA, HMDMA, MDAI (5,6-Methylenedioxy-2-aminoindane), MDAT (6,7-Methylenedioxy-2-aminotetralin), bk-MDEA, Methylone, R-MMC (3,4-Methylenedioxy-5-methylethcathinone), 3,4-EDMC (3,4-Ethylenedioxy-methcathinone).

なお, 各化合物の構造式及び規制区分は, Table 1-4 に記載した.

### 2. 呈色試薬

ドラーゲンドルフ-2 試薬は, 次硝酸ビスマス 0.85 g に水 40 mL と酢酸 10 mL を加えて溶解した溶液 (I), ヨウ化カリウム 8 g を水 20 mL に溶解した溶液 (II) を作成し, I-II-酢酸-水混合液 (1:1:4:20) を調製した. ヨウ化白金酸カリウム溶液は, 10%塩化白金酸 1 mL に 4%ヨウ化カリウム 25 mL を加え, さらに水 24 mL を加えて調整した. なお, ドラーゲンドルフ-2 試薬及びヨウ化白金酸カリウム溶液の調製法は日本薬学会編「薬毒物試験法と注解 2006」[2] に従った. マルキス試薬(関東化学), ニンヒドリン試薬スプレー(和光純薬)は市販品を用いた.

### 3. TLC 分析条件 [1]

#### 3-1. TLC プレート

シリカゲルプレートは Silica gel 60F<sub>254</sub>, 20 cm x 20 cm (Merck 社製)を用いた. シリカゲルの TLC プレートは使用前に 120°C で 30 分加熱し活性化を行った.

#### 3-2. 展開溶媒及び試験法

##### 【展開溶媒】

- ① ヘキサン:アセトン:トリエチルアミン (30:10:1)
- ② ヘキサン:酢酸エチル:トリエチルアミン (10:10:1)

##### 【試験法】

TLC プレートに各化合物溶液を約 10 µL ずつ点着(約 10 µg)し, 2 種類の展開溶媒を用いて 10



cm 展開した。各プレートを風乾した後、紫外線照射 (254 nm) により吸収を確認し、各化合物の Rf 値を求めた。なお、TLC プレートごとに、指標成分として Methcathinone を毎回展開し、各化合物の Rf 値との相対値を算出した。溶媒①で展開を行ったプレートではヨウ化白金酸カリウム溶液を噴霧し、溶媒②で展開を行ったプレートではドラージェンドルフ-2 試薬噴霧により呈色を確認した。また、プレート上に各化合物を約 10 µg ずつ点着し、溶媒による展開を行わずに風乾後、マルキス試薬添加、およびニンヒドリン試薬をスプレー後加熱してそれぞれの発色を確認した。

### C. 結果・考察

#### 1. PCP 類及び関連化合物:18 化合物

PCP 類 10 化合物及び関連 8 化合物を 2 種の展開溶媒を用いて展開し、UV と呈色試薬を用いて Rf 値を確認した。また、Methcathinone の Rf 値を指標とした相対値を併記した。結果を Table 1 に示す。

PCP 類 (No. 1-10) は、展開溶媒①では、若干 Rf 値が高いものの、概ね良好に分離した。展開溶媒②では Rf 値が高すぎるため、展開溶媒①より分離は悪くなった。UV 254 nm では、検出が可能なものと検出困難なものがあった。また、ヨウ化白金酸試薬で全て紫色に呈色した。ドラージェンドルフ試薬では、全てが橙色に呈色した。このうち、3 級アミン類は橙色が持続したが、2 級アミン類は、呈色後に直ちに退色した。マルキス試薬では、PCP が薄茶色、Bencyclidine が灰青色に呈色した。ニンヒドリン試薬では、PCP、3-MeO-PCP、Bencyclidine が薄茶色、Tenocyclidine が薄紫色、4-MeO-PCP が紫色に呈色した。

関連化合物 (No. 11-18) は、両展開溶媒①②において良好に分離した。UV 254 nm では、検出が可能なものと検出困難なものがあった。ヨウ化白金酸試薬では、全て紫色～赤紫色に呈色した。ドラージェンドルフ試薬では、全てが橙色に呈色した。また、PCP 類と同様に、3 級アミン類は橙

色が持続したが、2 級アミン類は、呈色後に直ちに退色した。マルキス試薬では、Diphenidine 及び MT-45 が薄黄色、2-MeO-diphenidine が桃色に呈色した。ニンヒドリン試薬では、Methylphenidate、Ethylphenidate 及び Dichloromethylphenidate が紫色～薄紫色に呈色した。

以上、PCP 類および関連化合物の検出には、ヨウ化白金酸試薬及びドラージェンドルフ試薬が第一選択試薬として有用であると思われた。さらに、Methylphenidate 類はニンヒドリン試薬では共通して紫色に呈色した。

#### 2. フェンタニル類:7 化合物

フェンタニル類についても、同様に TLC 及び呈色試薬により分析を行った (Table 2)。

フェンタニル類は、両展開溶媒①②において、Norfentanyl、Acetyl norfentanyl は原点付近であったが、他の 4 化合物は良好に分離した。UV 254 nm では、Fentanyl、Acetylfentanyl、Butyrylfentanyl は検出困難であったが、ドラージェンドルフ試薬では、橙色に呈色した。なお、3 級アミンのみを有する化合物 (No. 1, 3, 5-7) は全て橙色に呈色し、3 級アミンとともに 2 級アミンも有する化合物 (Norfentanyl、Acetylnorfentanyl) は陰性であった。一方、ヨウ化白金酸試薬では、Norfentanyl、Acetylnorfentanyl のみ紫色の呈色が持続し、さらに、ニンヒドリン試薬でも、両化合物のみが紫色～濃紫色に呈色した。マルキス試薬では、Acetylnorfentanyl 以外の化合物は薄黄色～薄茶色に呈色した。

以上、フェンタニル類は、Fentanyl、Acetylfentanyl、Butyrylfentanyl 群と、Norfentanyl、Acetylnorfentanyl 群で、ヨウ化白金酸試薬ドラージェンドルフ試薬及びニンヒドリン試薬による呈色結果が異なったため、これら化合物の識別に有用であった。

#### 3. ケタミン類:6 化合物

ケタミン類についても、同様に TLC 及び呈色試薬により分析を行った (Table 3)。

ケタミン類は、両展開溶媒①②において良好に分離した。UV 254 nm では、ketamine 及び Norketamine の検出が困難であった。ヨウ化白金酸試薬では、全ての化合物が紫色に呈色後、直ちに退色した。また、マルキス試薬では全ての化合物が極薄茶色に呈色した。一方、ドラージェンドルフ試薬及びニンヒドリン試薬では、全ての化合物が陰性であった。

以上、ケタミン類は今回検討した呈色試薬による特徴的な差異が認められなかったことから、TLC の Rf 値が識別の参考となった。

#### 4. MDMA 類:20 化合物

MDMA 類についても、同様に TLC 及び呈色試薬により分析を行った (Table 4)。

MDMA 類は、両展開溶媒①②において、一部原点付近の化合物もあるものの、概ね良好に分離した。UV 254 nm では、検出が可能なものと検出困難なものがあった。ドラージェンドルフ試薬では、全てが陰性であった。ヨウ化白金酸試薬では、MDA が紫色、その異性体である 2,3-MDA は紫色→橙色に呈色した。MDMA は紫色→白抜き、その異性体である 2,3-MDMA は紫色→橙色→白抜きに呈色した。その他の多くは、橙色→白抜き又は白抜きに呈色した。また、MDAI 及び MDAT は橙色の呈色が持続した。マルキス試薬では、全ての化合物が呈色した。特徴的な点として、メチレンジオキシ体またはエチレンジオキシ体のうち、 $\beta$ -カルボニル基を有する化合物 (bk-MDEA, Methylone, R-MMC, 3,4-EDMC) は、既報の通り黄色に呈色した [3]。また、2-Bromo-4,5-MDMA, 2-Chloro-4,5-MDMA, MDAI は茶色、MDAT は橙色に呈色した。その他の化合物は、赤紫色、濃紫色、濃青色に呈色した。ニンヒドリン試薬でも全ての化合物が呈色した。特に、 $\beta$ -カルボニル基を有する化合物 (bk-MDEA, Methylone, R-MMC, 3,4-EDMC) は、赤紫色～濃赤紫色に呈色した。また、MDAI は灰褐色に呈色した。

以上、MDMA 類の検出には、マルキス試薬、

ニンヒドリン試薬及びヨウ化白金酸試薬が呈色試薬として有用であると思われた。さらに、 $\beta$ -カルボニル基を有する化合物 (bk-MDEA, Methylone, R-MMC, 3,4-EDMC) はマルキス試薬及びニンヒドリン試薬でそれぞれ共通した呈色反応を示し、識別に有用であった。

#### D. 結論

本研究では、麻薬、向精神薬等法規制薬物及びその構造類似化合物として、PCP 類及び関連化合物 (麻薬 4 化合物、向精神薬 1 化合物、指定薬物 9 化合物、未規制 4 化合物)、フェンタニル類 (麻薬 1 化合物、指定薬物 1 化合物、未規制 5 化合物)、ケタミン類 (麻薬 1 化合物、指定薬物 1 化合物、未規制 4 化合物) 及び MDMA 類 (麻薬 7 化合物、指定薬物 2 化合物、未規制 11 化合物) の 4 群、計 51 化合物を対象とし、2 種の展開溶媒を用いて TLC 分析を行い、各 Rf 値を確認した。また UV 検出及び 4 種類の呈色試薬による発色を確認し、色調の差異を検討した。その結果、今回検討した対象化合物は、TLC 分析により、各化合物群内においては概ね良好に分離した。また、各呈色試薬により、構造類似化合物内で特徴的な呈色を示す事例もみられた。さらに、各化合物群により、一斉検出に適する呈色試薬が異なることが示された。従って、TLC 及び呈色試薬による分析は、法規制薬物等を識別する際の簡易且つ迅速な予試験法として有用であることが示唆された。また、GC-MS や LC-MS の分析データとともに、TLC 分析データを包括的に蓄積、整備することは、法規制薬物等の識別法を検討する際に有用であると考えられる。

#### E. 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) 「乱用薬物の鑑別法に関する研究」平成 25 年度研究分担報告「麻薬類の TLC 分析による識別法」(花尻 (木倉) 瑠理)

- 2) 日本薬学会編, 薬毒物試験法と注解 2006—  
分析・毒性・対処法—東京科学同人  
(2006).
- 3) 内山奈穂子, 河村麻衣子, 鎌倉浩之, 花尻  
(木倉)瑠理, 合田幸広. 指定薬物の分析  
Part III: 呈色試験及び TLC. 薬学雑誌, **128**,  
981-987 (2009).

F. 健康危険情報

なし.

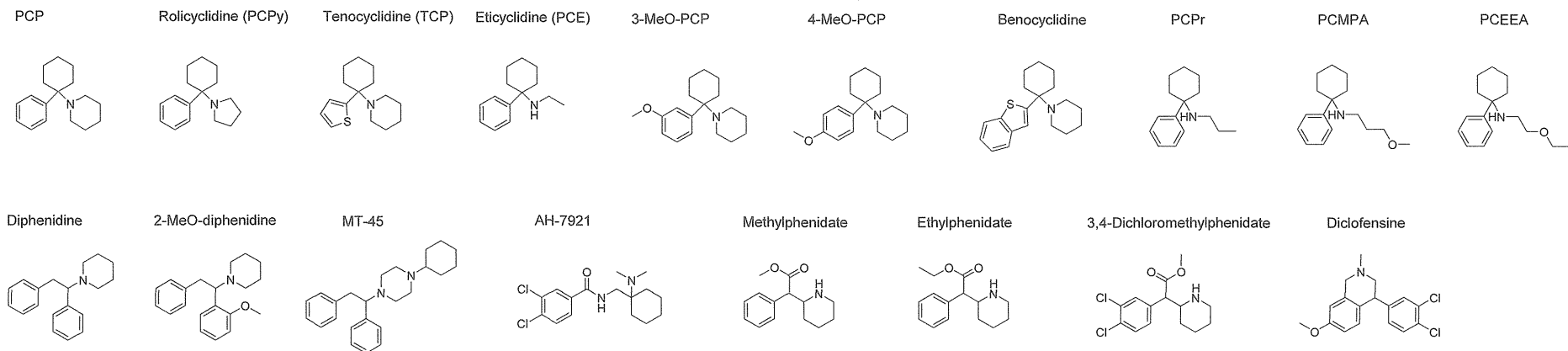
G. 研究発表

なし.

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし.

Table 1. PCP 類及び関連化合物の呈色及び TLC 分析結果



No.	PCP類	規制区分	Rf値				UV254nm	呈色試験			
			溶媒1	相対Rf値(1)	溶媒2	相対Rf値(2)		ドラージェンドルフ-2	ヨウ化白金酸カリウム	マルキス	ニンヒドリン
指標	Methcathinone	麻薬	0.12	1.00	0.18	1.00	○	n.d.	白抜き	n.d.	赤紫色
1	PCP	麻薬	0.73	6.08	0.77	4.28	△	橙色	紫色	薄茶色	薄茶色
2	Rolicyclidine	麻薬	0.52	4.33	0.56	3.11	△	橙色→退色	紫色	n.d.	n.d.
3	Tenocyclidine	麻薬	0.80	6.67	0.73	4.06	○	橙色	紫色	n.d.	薄紫色
4	Eticyclidine	麻薬	0.49	4.08	0.53	2.94	△	橙色→直ちに退色	紫色	n.d.	n.d.
5	3-MeO-PCP	指定薬物	0.66	5.50	0.74	4.11	△	橙色	紫色	n.d.	薄茶色
6	4-MeO-PCP	指定薬物	0.63	5.25	0.72	4.00	○	橙色	紫色	n.d.	紫色
7	Benocyclidine	未規制	0.72	6.00	0.76	4.22	○	橙色	紫色	灰青色	薄茶色
8	PCPr	未規制	0.61	5.08	0.70	3.89	○	橙色→直ちに退色	紫色	n.d.	n.d.
9	PCMPA	未規制	0.42	3.50	0.61	3.39	○	橙色→直ちに退色	紫色	n.d.	n.d.
10	PCEEA	未規制	0.55	4.58	0.69	3.83	○	橙色→直ちに退色	紫色	n.d.	n.d.
11	Diphenidine	指定薬物	0.64	5.33	0.73	4.06	○	橙色	紫色→白抜き	薄黄色	極薄茶色
12	2-MeO-diphenidine	指定薬物	0.57	4.75	0.71	3.94	△	橙色	紫色	桃色	薄茶色
13	MT-45	指定薬物	0.48	4.00	0.66	3.67	○	橙色	紫色	薄黄色	極薄茶色
14	AH7921	指定薬物	0.25	2.08	0.26	1.44	○	橙色→退色	赤紫色→白抜き	n.d.	n.d.
15	Methylphenidate	向精神薬	0.20	1.67	0.32	1.78	△	橙色→直ちに退色	赤紫色	n.d.	紫色
16	Ethylphenidate	指定薬物	0.27	2.26	0.41	2.28	△	橙色→直ちに退色	赤紫色	n.d.	紫色
17	Dichloromethylphenidate	指定薬物	0.19	1.58	0.19	1.06	△	橙色→直ちに退色	赤紫色	n.d.	薄紫色
18	Diclofensine	指定薬物	0.30	2.50	0.43	2.39	○	橙色	赤紫色	n.d.	n.d.

n.d.: not detected