

研究成果の刊行に関する一覧表

	発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻, 号	ページ	出版年
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	485	195-202	2015
3	Usui, K.,* Yamamoto, K., Shimizu, T., Biao, M., Okazumi, M., Demizu, Y., Kurihara, M., Suemune, H.	Synthesis and resolution of substituted [5]carbohelicenes	<i>J. Org. Chem</i>	80	6502-6508	2015
4	Yamashita, H., Demizu, Y.,* Misawa, T., Shoda, T., Kurihara, M.	Synthesis of a bis-cationic α,α -disubstituted amino acid (9-amino-bispidine-9-carboxylic acid) and its effects on the conformational properties of peptides	<i>Tetrahedron</i>	71	2241-2245	2015
5	Yamada, S., Kotake, Y., Demizu, Y., Kurihara, M., Sekino, Y., Kanda, Y.*	NAD-dependent isocitrate dehydrogenase as a novel target of tributyltin in human embryonic carcinoma cells	<i>Sci. Rep</i>	4	5952, DOI:10.1038/srep05952	2014
6	Demizu, Y.,* Nagoya, S., Shirakawa, M., Kawamura, M., Yamagata, N., Sato, Y., Doi, M., Kurihara, M.*	Development of stapled short helical peptides capable of inhibiting vitamin D receptor (VDR)-coactivator interactions	<i>Bioorg. Med. Chem. Lett</i>	23	4292-4296	2013
7	Sakakibara, N.,* Hamasaki, T., Baba, M., Demizu, Y., Kurihara, M., Irie, K., Iwai, M., Asada, R., Kato, Y., Maruyama, T.	Synthesis and evaluation of novel 3-(3,5-dimethylbenzyl)uracil analogs as potential anti-HIV-1 agents	<i>Bioorg. Med. Chem</i>	21	5900-5906	2013

学会発表に関する一覧表

	発表者氏名	発表演題名	発表学会名	発表年
1	R. Kikura-Hanajiri, M. Kawamura, S. Kanno, T. Nagai, M. Takada, T. Mukai and Y. Goda	Determination of MAM-2201 and its metabolites in a fatal case and the binding affinities of MAM-2201 at the cannabinoid CB1 and CB2 receptors.	51th Annual Meeting of the International Association of Forensic Toxicologists (TIAFT)	2013
2	S. Kanno, R. Kikura-Hanajiri, M. Sagi, T. Nagai, S. Chiba, H. Takeshita, M. Takada, M. Kawamura, Y. Goda, T. Mukai	A fatal case after smoking herb containing a synthetic cannabinoid MAM-2201	51th Annual Meeting of the International Association of Forensic Toxicologists (TIAFT)	2013
3	永井智紀, 花尻(木倉)瑠理, 菅野さな枝, 鷲盛久, 千葉正悦, 竹下裕史, 高田女里, 河村麻衣子, 合田幸広, 向井敏二	いわゆる「脱法ハーブ」吸入による急死の一部検例	日本法医学会	2013
4	河村 麻衣子, 花尻(木倉)瑠理, 内山奈穂子, 最所 和宏, 緒方潤, 合田幸広, 袴塚 高志	薬毒物試験法 II-6. 大麻試験法6・2 カンナビノイド受容体作動薬 2. アミノアルキルインドール類(ナフトイルインドール類)	日本薬学会第134 年会	2014
5	緒方 潤, 内山奈穂子, 花尻(木倉)瑠理, 合田幸広, 袴塚高志	法規制植物のLAMPを用いた簡易検出法の検討	日本薬学会第134 年会	2014
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合成カンナビノイドの識別法の検討	第36 回日本中毒学会	2014
7	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
8	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.	TIAFT	2014
9	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
10	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
11	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

	発表者氏名	発表演題名	発表学会名	発表年
12	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
13	阿久津守, 杉江謙一, 斉藤貢一	合成カンナビノイド分析における光イオン化(PI)GC/MSの有用性の検討	日本法中毒学会第34年会	2015
14	緒方潤, 花尻(木倉)瑠理, 袴塚高志	DNA情報を用いた幻覚性植物の鑑定事例	第52回 全国衛生化学技術協議会年会	2015
15	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	コンピュータシミュレーションによる合成カンナビノイドのCB1受容体への結合様式解析	第59回日本薬学会関東支部大会	2015
16	河野徳昭, 内山奈穂子, 花尻(木倉)瑠理, 鈴木秀幸, 吉松嘉代, 川原信夫	ケシ属植物の網羅的な発現遺伝子情報を利用した鑑別法の開発	日本生薬学会第62回年会	2015
17	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(3)	第30回日本中毒学会・東日本地方会	2016
18	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(4)	日本法中毒学会第35年会	2016 発表予定
19	河村麻衣子, 花尻(木倉)瑠理, 前橋恭子, 岩楯公晴, 袴塚高志	LC-IMS-Q-TOF-MSを用いた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	日本法中毒学会第35年会	2016 発表予定

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

内山奈穂子,* 花尻 (木倉) 瑠理, 袴塚高志

Evaluation of an On-site Drug-testing Device for the Detection of
Synthetic Cannabinoids in Illegal Herbal Products

Nahoko Uchiyama,* Ruri Kikura-Hanajiri, and Takashi Hakamatsuka

National Institute of Health Sciences (NIHS); 1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan.

(Received October 15, 2014; Accepted November 30, 2014; Advance publication released online January 19, 2015)

Recently, illegal herbal or liquid products containing psychoactive compounds have been a serious problem damaging human health and causing numerous traffic accidents. Reports indicate that most of those herbal products contain various types of synthetic cannabinoids. There are many on-site drug-testing devices; however, synthetic cannabinoids are not targeted compounds for such devices. In this study, we evaluated the on-site drug-testing device “K2/Spice Test” for the detection of 12 different types of 38 synthetic cannabinoids (including 13 naphthoylindole-type synthetic cannabinoids) and a natural cannabinoid (Δ^9 -tetrahydrocannabinol). Although this device is primarily used for the detection of metabolites of naphthoylindole-type synthetic cannabinoids in urine samples, we applied it to detect synthetic cannabinoids in illegal herbal products for rapid screening analyses. As a result of the on-site examination of synthetic cannabinoids, 10 naphthoylindole-type synthetic cannabinoids [five narcotics (JWH-018, JWH-073, AM-2201, MAM-2201, and JWH-122); five designated substances (JWH-015, JWH-200, AM-1220, JWH-019, and JWH-020)], and two other types of synthetic cannabinoid [designated substances (a benzoylindole AM-694 and a naphthoyl-naphthalene CB-13)] showed positive results (the limit of detection ranged from 50 to 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$). Furthermore, MeOH extracts of illegal herbal products containing naphthoylindole-type synthetic cannabinoids also showed positive results (the limit of detection ranged from 2.5 to 10 mg herbal products/mL). Therefore, we found that this device may be useful for the on-site examination of some naphthoylindole-type synthetic cannabinoids not only in urine samples but also in illegal herbal products.

Key words—synthetic cannabinoid; drug-screening device; illegal drug; naphthoylindole; immune assay; designer drug

緒 言

2009年頃から、いわゆる「脱法ハーブ」や「リキッドアロマ」などと呼ばれる危険ドラッグ（違法ドラッグ）製品の流通が増加しており、これら危険ドラッグ（いわゆる脱法ドラッグ）に起因すると考えられる健康被害や自動車事故等が問題となっている。これら危険ドラッグ中の成分として、今までに、主に合成カンナビノイド、カチノン類、フェネチルアミン類、トリプタミン類、ピペラジン類や亜硝酸エステル類などが検出されている。^{1,2)}

これら危険ドラッグのうち、特に、大麻様作用を標榜したいわゆる「脱法ハーブ」製品中から検出された“合成カンナビノイド”は、2009年以降急激に増加し、日本国内だけでもこれまでに数十種類以上が検出されている。^{1,2)}このうち、JWH-018を始めたnaphthoylindole骨格の化合物は多くのアナログが検出されているが、^{1,2)}大麻の主活性成分である麻薬 Δ^9 -tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC)と骨格が大きく異なるにもかかわらず、カンナビノイド様作用を有することが報告されている。¹⁻³⁾また、これら化合物の多くは、麻薬又は指定薬物として随時規制されており、2014年9月までに8種の合成カンナビノイド (cannabicyclohexanol, JWH-018, JWH-073, JWH-122, AM-2201, MAM-2201,

国立医薬品食品衛生研究所

*e-mail: nuchiyama@nihs.go.jp

XLR-11, 5-Fluoro-QUPIC) が麻薬として規制されている。指定薬物としては、2014年9月時点で、2013年5月に包括指定された naphthoylindole 類 759 物質を含め 828 種類の合成カンナビノイドが規制されている (指定薬物 計 1414 物質のうち)。しかし、依然として新たな化合物が次々と危険ドラッグ製品から検出されており、これら化合物の迅速な規制が必要であると考えられる。

救急医療機関等では、簡易的に乱用薬物を識別する際に、簡易薬物スクリーニングキットが使用されている。生体試料中の薬物及び代謝物を検出するために、既存のキットとして主に Triage DOA (シメックス社) や INSTANT-VIEW M-1 (TFB 社) などが使用されるが、いずれも合成カンナビノイドは対象となっていない。一方、近年、新しく、主に naphthoylindole 型合成カンナビノイド (JWH-018, JWH-073 等) の代謝物を検出対象薬物とした簡易スクリーニングキット DrugCheck[®] K2/Spice Test (Express Diagnostics 社) が市販されるようになった。本キットは、JWH-018 及び JWH-073 の主代謝物に特異的なモノクローナル抗体を用いたイムノアッセイキットであり、本来尿試料中の対象薬物の代謝物の検出を目的として使用するものである。本キットのデータシートに記載されている代謝物の検出範囲は 25–5000 ng/mL である。特に、JWH-018 及び JWH-073 の主代謝物である JWH-018 pentanoic acid 及び JWH-073 4-butanoic acid のカットオフ値は、それぞれ 50 ng/mL 及び 25 ng/mL となっているが、未変化体 JWH-018, JWH-073 またその他合成カンナビノイドについての検出限界の記述はない。そこで、本研究では、危険ドラッグ製品自体の簡易スクリーニング法に本キットが使用できないかを検討するために、12 種類の異なる骨格の合成カンナビノイド 38 化合物 (麻薬：8 化合物、指定薬物：28 化合物、未規制：2 化合物、うち naphthoylindole 型：13 化合物) 及び大麻の主活性成分 Δ^9 -THC (麻薬) の計 39 化合物を対象として本キットを用いた検出法を評価するとともに、いわゆる“脱法ハーブ”中に含まれる合成カンナビノイドの検出に応用し、その有用性を検討した。

実験方法

1. 試料及び試薬 使用した化合物は、合成カンナビノイド 38 化合物 (麻薬：8 化合物、指定薬物：28 化合物、未規制：2 化合物) 及び Δ^9 -THC の計 39 化合物である。化合物は、Cayman Chemical 社製、若しくは国立医薬品食品衛生研究所にて製造又は単離精製したものを用い、 Δ^9 -THC は Cerilliant 社製を用いた。また、危険ドラッグ製品については、インターネットを通じて入手した植物系危険ドラッグ 10 製品 (危険ドラッグ成分未検出：2 製品、合成カンナビノイド含有：8 製品) 及び、向精神活性植物として流通している「ダミアナ」1 製品を用いた。薬物スクリーニングキットは、DrugCheck[®] K2/Spice Test (Express Diagnostics 社) を用いた。

2. 試料溶液の調製

2-1. 化合物試料の調製 各化合物を MeOH に溶解した後、非イオン性界面活性剤 Emulphor[®] EL-620 (GAF Chemical, Wayne, NJ) を添加し攪拌した。さらに水を加えて試料溶液とした [10% MeOH/2% Emulphor/88% water (v/v)]。試料溶液は適宜希釈し、最終薬物濃度を 1000, 500, 250, 100, 50, 25, 10 $\mu\text{g/mL}$ とした。また、化合物未添加の溶液をブランクとして用いた。なお、高濃度 (1000, 500 又は 250 $\mu\text{g/mL}$) で陰性であったものは、より低濃度での検討は行わなかった。

2-2. 植物試料の調製 乾燥植物細片 50 mg に MeOH (500 μL) を添加し、超音波下 10 分間抽出を行った後、MeOH 抽出液 (50 μL) に Emulphor[®] (10 μL) を添加し攪拌した。さらに水 (440 μL) を加えて試料溶液とした [10% MeOH/2% Emulphor/88% water (v/v)]。危険ドラッグ成分未検出の 2 製品及び「ダミアナ」として入手した 1 製品は、JWH-018 添加又は未添加 MeOH 溶液を用いて抽出を行った。最終薬物濃度を 1000, 500, 250, 100, 50, 25 $\mu\text{g/mL}$ とした。また、JWH-018 未添加の植物試料溶液をブランクとして用いた。また、合成カンナビノイド含有危険ドラッグ製品については、最終製品濃度を 10, 5, 2.5, 1.25 mg/mL とした。

3. 簡易スクリーニングキットの操作及び薬物判定 各試料溶液 (500 μL) に、蓋を外したキットの先端を浸し溶液を展開させる。再度蓋を装着した

Table 1. Analytical Conditions of the K2/Spice Test Kit

Condition	Compound (conc.)	Solvent
1	JWH-018 (1 mg/mL)	100% MeOH
2	JWH-018 (1 mg/mL)	100% DMSO
3	JWH-018 (1 mg/mL)	50% MeOH/50% water
4	JWH-018 (1 mg/mL)	50% DMSO/50% water
5	JWH-018 (1 mg/mL)	20% MeOH/2% Emulphor/78% water
6	JWH-018 (1 mg/mL)	20% MeOH/4% Emulphor/76% water
7	JWH-018 (1 mg/mL)	10% MeOH/2% Emulphor/88% water

後、出現するバンドの有無を目視判定した。Controlバンド（上部）があらわれ、testバンド（下部）があらわれない場合を陽性と判定し、両バンドがあらわれる場合は陰性と判定した。⁴⁾ はじめに、全化合物について最終薬物濃度 1000, 500 及び 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ で検討を行った。これら濃度で陽性を示したものは、さらに 100, 50, 25 及び 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ まで検討を行い、陽性を示した最低濃度を検出限界とした。また、合成カンナビノイド含有危険ドラッグ製品については、最終製品濃度 10, 5, 2.5, 1.25 mg/mL で検討を行い、陽性を示した最低濃度を検出限界とした。

結果及び考察

1. 試料溶液の条件検討 本キットは、本来尿試料（水溶性）を対象としているが、多くの合成カンナビノイドは脂溶性が高いため、水などの極性溶媒に溶け難い。そこで、有機溶媒を用いた試料溶液が適応可能かどうかを検討した (Table 1)。各条件において、JWH-018（最終濃度：1 mg/mL）を用いた。100% MeOH 又は DMSO に溶解させた試料溶液については、試料を展開することができなかった (条件 1, 2)。次に 50% MeOH 又は DMSO 水溶液に溶解させた試料溶液については、化合物を有機溶媒で溶解後、水を添加した際に化合物が析出し、白濁した。また、試料の展開はできたが、control 及び test の 2 つのバンドがあらわれ、陰性を示した (条件 3, 4)。したがって、有機溶媒のみ、又は、有機溶媒と水のみ混合溶液は試料溶液として不適であることが分かった。そこで、脂溶性物質の可溶化に用いられる界面活性剤を添加することを試みた。今回、動物に投与する試料溶液に、合成カンナ

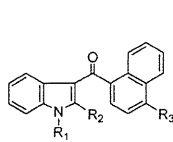
ビノイドの可溶化剤（乳化剤）としての使用が報告されている非イオン性界面活性剤 Emulphor[®] EL-620（ポリオキシシル-35 ヒマシ油）を用いて検討することとした。⁵⁾ また、既報での Emulphor の混合比率は 5% であったため、⁵⁾ 混合比率を 5% 以下として検討を行った。20% MeOH/2% Emulphor/78% water 溶液では、化合物が若干析出したものの後に溶解し、試料溶液は陽性を示した (条件 5)。また、20% MeOH/4% Emulphor/76% water 溶液では、若干 test のバンドがみられた (条件 6)。さらに、10% MeOH/2% Emulphor/88% water 溶液では、control バンドのみが鮮明にあらわれ、試料溶液は陽性を示した (条件 7)。また、同条件でブランク（化合物未添加溶液）は陰性を示すことを確認した。したがって、本キットは、各化合物の試料溶液を条件 7 で調製し、検討することとした。また、試料液量は、最低量 200 μL で測定が可能であったが、今回は 500 μL とした。判定に要する時間は 3-5 分程度であった。

2. 各化合物試料溶液を用いた検討 検討した化合物の構造式を Fig. 1 に示した。12 種類 (Group A-L) の異なる骨格の合成カンナビノイド 38 化合物（麻薬：8 化合物、指定薬物：28 化合物、未規制：2 化合物）及び Δ^9 -THC (Group M) の計 39 化合物を用いて検討を行った (Table 2: No. 1-39, Fig. 1)。

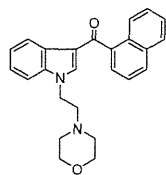
その結果、naphthoylindole 型 10 化合物、その他 2 化合物の計 12 化合物が陽性であった (検出限界濃度 50-250 $\mu\text{g}/\text{mL}$) (Table 2: No. 1-8, 12-14, 16)。

Naphthoylindole 型 (Group A) 13 化合物のうち、10 化合物が陽性であった (Table 2: No. 1-8, 12, 13)。このうち、2014 年 9 月現在麻薬である naphthoylindole 型の 5 化合物 [JWH-018, JWH-073, AM-2201, MAM-2201 (いずれも $\geq 50 \mu\text{g}/\text{mL}$), JWH-122 ($\geq 100 \mu\text{g}/\text{mL}$)] はすべて検出可能であった (Table 2: No. 1-5)。指定薬物については、naphthoylindole の置換基 R_1 がノルマルアルキル鎖である JWH-015, JWH-019 (いずれも $\geq 50 \mu\text{g}/\text{mL}$), JWH-020 ($\geq 100 \mu\text{g}/\text{mL}$), morpholinoethyl 基である JWH-200, 及び (1-methylpiperidin-2-yl) methyl 基である AM-1220 (いずれも $\geq 50 \mu\text{g}/\text{mL}$) は陽性であり、 $R_2 = \text{H}$ 又は CH_3 (JWH-015) では陽性であった (Table 2: No. 6-8, 12, 13)。一方、 R_3

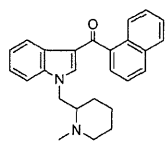
(A) Naphthoylindoles



Naphthoylindoles

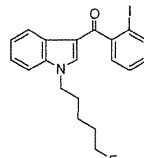


JWH-200

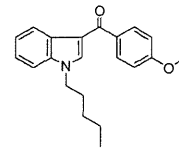


AM-1220

(B) Benzoylindoles



AM-694



RCS-4

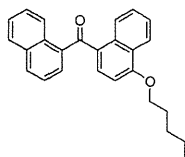
【Narcotics】

JWH-018: R₁=C₅H₁₁, R₂=H, R₃=HJWH-073: R₁=C₄H₉, R₂=H, R₃=HJWH-122: R₁=C₅H₁₁, R₂=H, R₃=CH₃AM-2201: R₁=C₆H₁₀F, R₂=H, R₃=HMAM-2201: R₁=C₆H₁₀F, R₂=H, R₃=CH₃

【Designated substances】

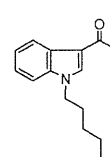
JWH-015: R₁=C₃H₇, R₂=CH₃, R₃=HJWH-200: R₁=morpholinoethyl, R₂=H, R₃=HAM-1220: R₁=1-methylpiperidin-2-yl)methyl, R₂=H, R₃=HEAM-2201: R₁=C₆H₁₀F, R₂=H, R₃=C₂H₅JWH-213: R₁=C₅H₁₁, R₂=CH₃, R₃=C₂H₅JWH-182: R₁=C₅H₁₁, R₂=H, R₃=C₃H₇JWH-019: R₁=C₆H₁₃, R₂=H, R₃=HJWH-020: R₁=C₇H₁₅, R₂=H, R₃=H

(C) Naphtho/naphthalenes

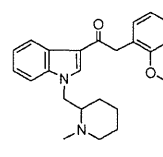


CB-13

(D) Phenylacetylindoles

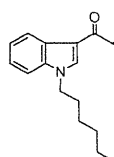


JWH-250

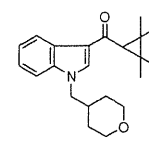


Cannabipiperidiethanone

(E) Cyclopropylindoles

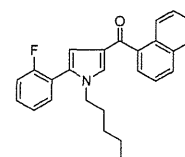


XLR-11



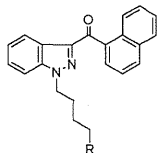
A-834,735

(F) Naphthoylpyrroles

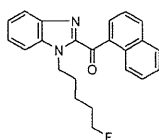


JWH-307

(G) Naphthoylindazoles

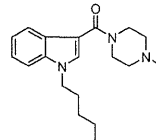
JWH-018 indazole analog (THJ-018): R = CH₃
AM-2201 indazole analog (THJ-2201): R = CH₂F

(H) Naphthoylbenzimidazoles

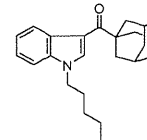


AM-2201 benzimidazole analog (FUBIMINA)

(I) Carboxyindoles

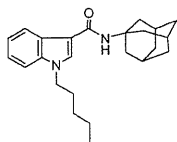


MEPIRAPIM

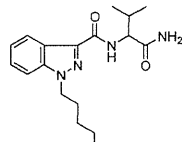


AB-001

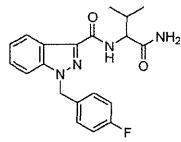
(J) Carboxamide derivatives



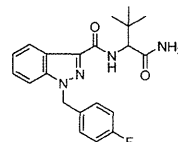
APICA



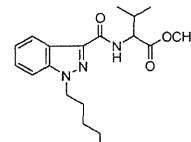
AB-PINACA



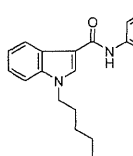
AB-FUBINACA



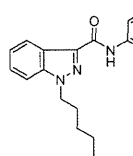
ADB-FUBINACA

AMB: R = CH₃
5Fluoro-AMB: R = CH₂F

(J) Carboxamide derivatives

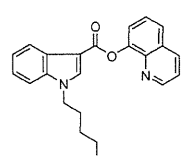
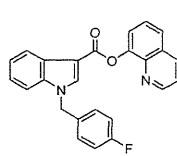


NNEI (MN-24)



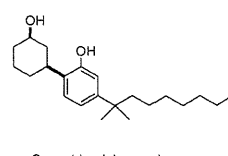
NNEI indazole analog (MN-18)

(K) Quinoliny carboxylates

QUPIC (PB-22): R = CH₃
5Fluoro-QUPIC (5Fluoro-PB-22): R = CH₂F

FUB-PB-22

(L) Cyclohexylphenols



Cannabicyclohexanol

(M) Natural cannabinoids

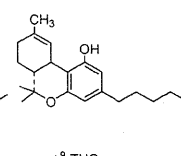
Δ⁹-THC

Fig. 1. Structures of Tested Compounds

Table 2. Screening of Synthetic and Natural Cannabinoids Using the K2/Spice Test Kit

No.	Group	Type	Legislation ^a	Compound	Limit of detected conc. ^b
1	A	Naphthoylindoles	Narcotic	JWH-018	+ (≥ 50 µg/mL)
2			Narcotic	JWH-073	+ (≥ 50 µg/mL)
3			Narcotic	JWH-122	+ (≥ 100 µg/mL)
4			Narcotic	AM-2201	+ (≥ 50 µg/mL)
5			Narcotic	MAM-2201	+ (≥ 50 µg/mL)
6			Designated substance	JWH-015	+ (≥ 50 µg/mL)
7			Designated substance	JWH-200	+ (≥ 50 µg/mL)
8			Designated substance	AM-1220	+ (≥ 50 µg/mL)
9			Designated substance	EAM-2201	− (1000 µg/mL)
10			Designated substance	JWH-213	− (1000 µg/mL)
11			Designated substance	JWH-182	− (1000 µg/mL)
12			Designated substance	JWH-019	+ (≥ 50 µg/mL)
13			Designated substance	JWH-020	+ (≥ 100 µg/mL)
14	B	Benzoylindoles	Designated substance	AM-694	+ (≥ 50 µg/mL)
15			Designated substance	RCS-4	− (1000 µg/mL)
16	C	Naphthoynaphthalenes	Designated substance	CB-13	+ (≥ 250 µg/mL)
17	D	Phenylacetylindoles	Designated substance	JWH-250	− (1000 µg/mL)
18			Designated substance	Cannabipiperidiethanone	− (1000 µg/mL)
19	E	Cyclopropylindoles	Narcotic	XLR-11	− (1000 µg/mL)
20			Designated substance	A-834735	− (1000 µg/mL)
21	F	Naphthoylpyrroles	Designated substance	JWH-307	− (1000 µg/mL)
22	G	Naphthoylindazoles	Designated substance	JWH-018 indazole analog (THJ-018)	− (1000 µg/mL)
23			Designated substance	AM-2201 indazole analog (THJ-2201)	− (1000 µg/mL)
24	H	Naphthoylbenzimidazoles	Designated substance	AM-2201 benzimidazole analog (FUBIMINA)	− (1000 µg/mL)
25	I	Carboxyindoles	—	Mepirapim	− (1000 µg/mL)
26			Designated substance	AB-001	− (1000 µg/mL)
27	J	Carboxamide derivatives	Designated substance	APICA	− (1000 µg/mL)
28			Designated substance	AB-PINACA	− (1000 µg/mL)
29			Designated substance	AB-FUBINACA	− (1000 µg/mL)
30			Designated substance	ADB-FUBINACA	− (1000 µg/mL)
31			—	AMB	− (1000 µg/mL)
32			Designated substance	5Fluoro-AMB	− (1000 µg/mL)
33			Designated substance	NNEI (MN-24)	− (1000 µg/mL)
34			Designated substance	NNEI indazole analog (MN-18)	− (1000 µg/mL)
35	K	Quinolinylnyl carboxylates	Designated substance	QUPIC (PB-22)	− (1000 µg/mL)
36			Narcotic	5Fluoro-QUPIC (5Fluoro-PB-22)	− (1000 µg/mL)
37			Designated substance	FUB-PB-22	− (1000 µg/mL)
38	L	Cyclohexylphenols	Narcotic	Cannabicyclohexanol	− (1000 µg/mL)
39	M	Natural cannabinoids	Narcotic	Δ ⁹ -THC	− (1000 µg/mL)
40			Illegal herbal product-A (no detection of any psychoactive substance)	Addition of JWH-018 (product only: negative)	+ (≥ 50 µg/mL)
41			Illegal herbal product-B (no detection of any psychoactive substance)	Addition of JWH-018 (product only: negative)	+ (≥ 50 µg/mL)
42			Illegal herbal product-C (no detection of any psychoactive substance)	Addition of JWH-018 (product only: negative)	+ (≥ 50 µg/mL)

^a As of September 2014. ^b + and − indicate positive and negative, respectively.

= C₂H₅ 以上では陰性であった (EAM-2201, JWH-213, JWH-182 (Table 2: No. 9–11)). したがって、置換基については、R₁=C₃H₇-C₇H₁₅, C₅H₁₀F, morpholinoethyl 基及び (1-methylpiperidin-2-yl) methyl 基は陽性であり、R₂ 及び R₃ は、それぞれ H 及び CH₃ まで陽性であった (Fig. 1, Table 2, Group A: No. 1–8, 12, 13)). そのほかに、benzoyl-indole 型の AM-694 は陽性であったが ($\geq 50 \mu\text{g}/\text{mL}$), 同型の RCS-4 は陰性であった (Table 2, Group B: No. 14, 15). また、naphthoynaphthalene 型の CB-13 についても陽性を示した ($\geq 250 \mu\text{g}/\text{mL}$) (Table 2, Group C: No. 16).

そのほかに検討した phenylacetylindole 型 (Group D: No. 17, 18), XLR-11 (麻薬) 等の cyclopropylindole 型 (Group E: No. 19, 20), naphthoypyrrole 型 (Group F: No. 21), carboxyamide derivative 型 [アミド型: Group J (No. 27–34)], quinolinyl carboxylate 型 [エステル型: Group K (No. 35–37)] はいずれも陰性であった. また、naphthoylindole 型 (Group A) と構造類似体の naphthoylindazole 型 (Group G): JWH-018 indazole analog (THJ-018), AM-2201 indazole analog (THJ-2201), 及び naphthoylbenzimidazole 型 (Group H): AM-2201 benzimidazole analog (FUBI-MINA) は、いずれも陰性であった (No. 22–24). Carboxyindole 型 (Group I) については、naphthyl 基 (Group A) の代わりに、piperazinyl

基や adamantyl 基が付加した AB-001 や MEPIRAPIM は陰性であった (No. 25, 26). また、cyclohexylphenol 型 (Group L: No. 38): cannabicyclohexanol (麻薬) や大麻の主活性成分である麻薬 Δ^9 -THC (Group M: No. 39) も陰性であった (Table 2).

以上の結果から、本キットを用いた一部の naphthoylindole 型合成カンナビノイドの検出は可能であることが示された. 麻薬と指定薬物の識別は難しいものの、現在麻薬として規制されている naphthoylindole 型 5 化合物についてはすべて検出可能であった. しかし、包括指定内の指定薬物の中でも、置換基の種類 (特に R₃) により検出不可の化合物があった (Fig. 1 and Table 2). また、naphthoylindole 型以外では、2 化合物 (AM-694, CB-13) が陽性であったが、アミド、エステル、アダマンチル、インダゾール、ベンズイミダゾール基を有する化合物は陰性であった (Table 2).

3. 違法ドラッグ製品試料溶液を用いた検討
植物系危険ドラッグ 2 製品 (製品 A 及び B, いずれも危険ドラッグ成分未検出) 及び向精神活性植物「ダミアナ」として入手した植物系 1 製品 (製品 C, 危険ドラッグ成分未検出) に JWH-018 を添加後、MeOH 抽出した試料溶液を検討したところ、いずれも陽性であった ($\geq 50 \mu\text{g}/\text{mL}$, 未添加ではいずれも陰性) (Table 2, No. 40–42). 本検出限界濃度 ($50 \mu\text{g}/\text{mL}$) は、製品中の JWH-018 含有量

Table 3. List of Detected Compounds in the Herbal Products^a

Product No.	Form	Cannabicyclohexanol ^a (mg/g)	JWH-018 ^a (mg/g)	JWH-250 ^a (mg/g)	JWH-073 ^a (mg/g)	JWH-015 ^a (mg/g)	JWH-200 ^a (mg/g)	Oleamide ^a (mg/g)	Other compounds ^a	Product ^c (mg/mL)
1	Dried leaf (cutting)	n.d. ^b	35.90±1.05	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+ (≥ 2.5)
2	Dried leaf (cutting)	4.11±0.12	16.37±0.75	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	α -Tocopherol	+ (≥ 10)
3	Dried leaf (cutting)	n.d.	13.54±0.50	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	141.58	α -Tocopherol	+ (≥ 10)
4	Dried leaf (cutting)	n.d.	n.d.	n.d.	37.31±3.25	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+ (≥ 2.5)
5	Dried leaf (cutting)	n.d.	n.d.	23.59±1.52	45.15±4.42	9.56±0.55	n.d.	n.d.	n.d.	+ (≥ 5.0)
6	Dried leaf (cutting)	n.d.	n.d.	41.74±0.75	n.d.	n.d.	21.65±0.47	n.d.	n.d.	+ (≥ 2.5)
7	Dried leaf (cutting)	n.d.	n.d.	56.62±0.36	n.d.	19.46±0.04	n.d.	n.d.	n.d.	+ (≥ 10)
8	Dried leaf (cutting)	n.d.	n.d.	51.47±2.88	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	– (10)

^a Data given as mean±S.D., n=3. Partial modification of Refs. 6) and 7). ^b n.d.: Not detected. ^c + and – indicate positive and negative, respectively.

0.5% (5 mg/g) に相当した。既報告では、違法ドラッグ 23 製品中の JWH-018 の含有量は、2.0–60.0 mg/g (平均 22.0 mg/g) であったことから、⁶⁾ 危険ドラッグ製品に対しても本キットによる検出が適応可能であると考えられた。次に、筆者らが既に LC-UV 分析により定量を行い、^{6,7)} 含有量が既知である合成カンナビノイド含有 8 製品について検討を行った (Table 3)。その結果、JWH-018, JWH-073, JWH-015 又は JWH-200 を含有する 7 製品は、いずれも陽性であった (Table 3: No. 1–7) (検出限界製品濃度 2.5–10 mg herbal product/mL)。一方、JWH-250 (化合物自体は陰性) のみ含有製品 (Table 3: No. 8) は陰性であった。したがって、本キットは、植物系危険ドラッグ (脱法ハーブ) 製品抽出溶液中の合成カンナビノイドの検出も可能であることが示された。

Triage DOA などのイムノアッセイ法を用いた市販の簡易スクリーニングキットは、偽陽性 (偽陰性) を示すことも報告されていることから、その性能を考慮した上で使用する必要があると考えられるが、⁸⁾ 救急医療などの現場において、“合成カンナビノイド (未変化体)” を簡易的に識別する術がない現状において、本キットは、簡易スクリーニング法の一選択肢となり得ると考えられる。

以上、本来尿試料用の本薬物スクリーニングキットを用いて、一部の naphthoylindole 型合成カンナビノイドに限定されるものの、化合物自体 (未変化体) 又は危険ドラッグ製品中の化合物の検出が可能であることを明らかにした。今後、救急医療機関などにおける薬物簡易スクリーニング法の 1 つとして、本キットの活用の可能性が示唆された。

謝辞 本研究は、厚生労働省医薬品審査等業務庁費及び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, H25-医薬-一般-019) の助成により行われたもので、関係各位に深謝する。

利益相反 開示すべき利益相反はない。

REFERENCES

- 1) Kikura-Hanajiri R., Uchiyama N., Kawamura M., Ogata J., Goda Y., *Yakugaku Zasshi*, **133**, 31–40 (2013).
- 2) Kikura-Hanajiri R., Uchiyama N., Kawamura M., Ogata J., Goda Y., *Forensic Toxicol.*, **31**, 44–53 (2013).
- 3) Huffman J. W., “The Cannabinoid Receptors,” ed. by Reggio P. H., Humana Press, New York, 2009, pp. 49–94.
- 4) Express Diagnostics Int’l Inc., DrugCheck® K2/Spice Test data sheet: http://www.drug-check.com/_images/DC236-FUO-G_K2_insert.pdf, cited 15 October, 2014.
- 5) Wiley J. L., Compton D. R., Dai D., Lainton J. A., Phillips M., Huffman J. W., Martin B. R., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **285**, 995–1004 (1998).
- 6) Uchiyama N., Kikura-Hanajiri R., Ogata J., Goda Y., *Forensic Sci. Int.*, **198**, 31–38 (2010).
- 7) Uchiyama N., Kawamura M., Kikura-Hanajiri R., Goda Y., *Forensic Toxicol.*, **29**, 25–37 (2011).
- 8) Sugimura T., Hara K., Kubo S., Nishida T., Yuge R., Ishikura H., *JJAAM*, **23**, 842–850 (2012).

危険ドラッグの分析

津村 ゆかり

1 はじめに

2014年6月24日、池袋駅西口付近の路上で、30代の男が運転する乗用車が歩行者を次々とはね、1人が死亡、6人が重軽傷を負った。男は付近の店で「脱法ハーブ」を購入して吸引していた¹⁾。この事件をきっかけに脱法ハーブ等の危険性への関心が高まり、国民からの公募により「危険ドラッグ」の名称が新たに作られた²⁾。しかし、その後も危険ドラッグによるとみられる救急搬送、死亡、交通事故等が発生している。本稿では、これらの問題にかかわる分析について解説する。なお、2008年に安田らが「違法（脱法）ドラッグの分析」として進歩総説を発表しており³⁾、本稿ではそれ以後の進展について記述する。

危険ドラッグの語が作られる以前は、厚生労働省や関係機関においては「違法ドラッグ」の語が使用されていた。これは、2005年に6回にわたり厚生労働省医薬食品局が開催した「脱法ドラッグ対策のあり方に関する検討会」⁴⁾において、「従前の『脱法ドラッグ』という呼称は、これらが薬事法（当時の名称）違反である疑いが強いにもかかわらず、法の規制が及ばないかのような誤ったメッセージを与えかねない」として定められたものである。2005年以後に日本の研究者が英語で書いた論文で illegal drugs の語が使用されている場合、「違法ドラッグ」（現在は危険ドラッグ）を意味する可能性がある⁵⁾ので注意が必要である。

最新の「薬物・銃器情勢」（警察庁）⁶⁾によれば、危険ドラッグとは、規制薬物または指定薬物に化学構造を似せて作られ、これらと同様の薬理作用を有する物品をいい、規制薬物及び指定薬物を含有しないと標榜しながらこれらを含有する物品も含むとされる。

ここでいう規制薬物とは、覚醒剤・大麻・麻薬・向精神薬・あへん及びけしがらのことであり、指定薬物とは、後述する医薬品医療機器法の指定薬物である。この定義は、実際に含まれている物質だけでなく標榜ぶりを重視するところに特徴がある。分析の結果、危険ドラ

ッグから麻薬等に指定済みの成分が検出される事例は珍しい。ない。

海外では危険ドラッグに相当する語として legal highs（合成・天然薬物）や designer drugs（合成薬物のみ）の語が長らく用いられており、近年の問題激化に伴って new（または novel）psychoactive substances（NPS）の語も使用されるようになった。これらの語がどの範囲の物質または物品を指すかは必ずしも統一されていない⁶⁾。現在では古典的な薬物と考えられている MDMA や LSD もかつては新規流通薬物であった⁶⁾。国連薬物犯罪事務所（UNODC）は物質の範囲を特定して NPS（N は new）の語を定義している。この範囲には、日本では危険ドラッグの成分として想定されにくいケタミンや 1-ベンジルピペラジン（いずれも麻薬）も含まれている⁷⁾。なお、new または novel の語は科学的に未発見であったことを必ずしも意味せず、かつて医薬品候補物質として発見され開発が中止された物質等の再発見である場合も多い⁶⁾。

本稿では、日本国内で危険ドラッグから検出された実績がある物質と今後検出される可能性がある物質を取り上げた。具体的には、①「医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律（略称：医薬品医療機器法、旧薬事法）」の「指定薬物」に指定されているもの、②指定されたことがあるもの（その後麻薬に格上げ）、③国内外で流通が報告されている未規制物質である。なお、フェネチルアミン類（2C シリーズ・TMA シリーズ・MDMA シリーズ・覚醒剤類似物）・トリプタミン類・ピペラジン類・亜硝酸エステル類・サルピノリン A の分析については安田らの総説³⁾を参照されたい。

2 分析の概要

2.1 新規物質の同定（製品）

危険ドラッグに含有される物質は次々と変化していくため、その分析は新規物質の同定から始まる。危険ドラッグの流通形態は、乾燥植物細片（ハーブ）に合成化学物質を付着または混入させたもの・粉末・液体等である。これらから人体に作用すると考えられる成分を単離

Analysis of new psychoactive substances (NPS) in Japan.

し、核磁気共鳴スペクトル測定 (NMR)・赤外分光光度法 (IR)・精密質量分析 (HR-MS) 等の分析手法を用いて化学構造を明らかにする。複数の成分を含有する危険ドラッグがあり、個々の物質の単離に困難が伴う場合がある。国際的に未報告の新規物質が日本国内において同定され発表される事例も多い^{8)~11)}。

2.2 既知物質の分析 (製品)

国内または海外で流通が確認され、中枢神経系への作用を有する蓋然性が高い等の要件を満たした物質は、医薬品医療機器法の指定薬物や都道府県の条例による知事指定薬物に指定される。指定薬物の中で有害性がより明らかになったものは麻薬及び向精神薬取締法の麻薬に格上げされる。2015年1月5日現在、医薬品医療機器法の指定薬物は1437物質及び1植物であり、その内訳は、個別に指定されているものが173物質、包括指定(後述)の合成カンナビノイドが770物質、包括指定のカチノン類が494物質、そして植物サルビアディビノラムである¹²⁾。これまでに指定薬物から麻薬に格上げされたものは、表1に示した18物質である。指定薬物及び麻薬については、所持や販売を取り締まるための分析が行われる。

指定薬物の分析法は、厚生労働省医薬食品局監視指導・麻薬対策課長通知(以下、課長通知と略)として各自治体の衛生主管部長等に通知されている。この通知は国立医薬品食品衛生研究所における検討結果に基づいて構成されており、2007年5月に初めて発出された¹³⁾。その後、新たな指定薬物の指定ごとに追加の通知が発出

されている。ただし当初の通知名は「指定薬物の分析法について」であったが、2010年9月分¹⁴⁾から「指定薬物の測定結果等について」に変更されている。

その前処理法は表2にまとめたとおりであり、メタノール溶液として調製した試料液を、ガスクロマトグラフィー質量分析 (GC-MS)、液体クロマトグラフィー質量分析 (LC-MS) または液体クロマトグラフィーフォトダイオードアレイ検出 (LC-PDA) を用いて分析する。課長通知には2007年から現在に至るまで同一の測定条件での全指定薬物(包括指定の物質については標準品が入手できたもののみ)の保持時間・マススペクトル・UVスペクトルが掲載されている。ほとんどすべての指定薬物はこの方法で検出可能であるが、唯一の例外としてBiPICANA(図1, 1)はGC-MSでピークが出現せず¹⁵⁾、課長通知にもLCの保持時間のみが記されている¹⁵⁾。

未規制物質を含む幅広い危険ドラッグ成分のスペクトルデータ等を提供する無料のウェブサイト^{16)~18)}がいくつか開設されている。また、多数の物質を同時にGC-MS¹⁰⁾、LC-MS^{10)19)~21)}、LC-PDA¹⁰⁾²¹⁾で定性・定量する方法が発表されている。危険ドラッグ成分として位置異性体の関係にある複数の物質が出回っている場合があり、これらはマススペクトルによる差異が表れにくいのに対し、UVスペクトルが顕著に異なって識別に役立つ場合がある²¹⁾。

2.3 生体試料中の危険ドラッグ関連物質の分析

生体由来の血液や尿等に含まれる危険ドラッグ成分ま

表1 指定薬物から麻薬に移行した物質 (2015年1月5日現在)

物質名 (通称)	分類	指定薬物指定日	麻薬指定日
2C-T-2	フェネチルアミン類	2007/ 2/28	2007/12/19
2C-T-4	フェネチルアミン類	2007/ 2/28	2007/12/19
2C-I	フェネチルアミン類	2007/ 2/28	2007/12/19
5-MeO-DALT	トリプタミン類	2007/ 2/28	2013/ 1/30
PMMA	フェネチルアミン類	2007/ 2/28	2013/ 1/30
bk-MDEA	合成カチノン類	2007/12/12	2013/12/20
MDPV	合成カチノン類	2008/12/17	2012/ 7/ 4
エトカチノン	合成カチノン類	2008/12/17	2013/ 1/30
JWH-018(2)	合成カンナビノイド	2009/10/21	2012/ 7/ 4
カンナビシクロヘキサノール	合成カンナビノイド	2009/10/21	2012/ 7/ 4
4-メチルメトカチノン	合成カチノン類	2009/10/21	2012/ 7/ 4
JWH-073	合成カンナビノイド	2010/ 8/25	2013/ 1/30
JWH-122	合成カンナビノイド	2011/ 4/14	2013/ 1/30
AM2201	合成カンナビノイド	2011/ 9/20	2013/ 4/26
α-PVP(14)	合成カチノン類	2012/10/17	2013/ 1/30
MAM-2201	合成カンナビノイド	2012/10/17	2013/ 4/26
XLR-11	合成カンナビノイド	2012/10/17	2013/12/20
5F-QUPIC(7b)	合成カンナビノイド	2013/10/21	2014/ 7/ 2

表2 課長通知¹³⁾における指定薬物含有製品の前処理法
(亜硝酸エステル類を除く)

形態	試料採取量及び方法	前処理法
植物細片等	乳鉢で粉末化したもの100 mg	分析試料を試験管に量り取り、メタノール2 mLを加え、5分間超音波下抽出を行う。必要であれば、膜ろ過（例えばUltrafree-MC, 0.45 µm filter unit, MILLIPORE社製等）を行い、不溶物を取り除いた抽出液を試験原液とする。この試験原液をメタノールで適宜希釈し、試験溶液とする。
植物粉末	50 mg	
植物以外の粉末	10 mg	
液体	50 µL を小試験管にとり減圧下蒸発乾固	
錠剤	乳鉢で粉碎及び均一化した試料 50 mg	
カプセル剤	内容物 50 mg	
スプレー剤	内容液を試験管内に噴射し、液体試料と同様に処理	

たはその代謝物の分析も行われている。その主要な目的は、①中毒症状を起こした患者の摂取薬物を特定して治療や死因解明に役立てる、②危険運転等の犯罪の被疑者が薬物の影響下にあったことを証明する、③指定薬物の使用罪（2014年4月に新設）を立証する、④動物実験等によって危険ドラッグ成分の代謝や薬理作用を解明する、である。

生体試料の中で分析法に関する研究事例が多いのは血液である²²⁾²³⁾。多くの場合、血液中には、摂取した薬物の未変化体及び代謝物が検出される。前処理法としては液液抽出や固相抽出が行われ、LC-MSで検出したとする報告が多い。質量分析計はタンデム型（MS/MS）を用いた報告が多いが、近年飛行時間型（TOF-MS）及び四重極-飛行時間型（QTOF-MS）の利用も増えている。危険ドラッグ成分は、人体に使用した際の経過がほとんどわかっていない物質であり、どのような代謝物が生じるか、未変化体や代謝物の血中濃度はどのようなレベルか等が分析法の検討と併行して解明される場合が多い。危険ドラッグが交通事故の原因であったか否かを判定するための分析の場合は、検出された濃度が運転に影響を与えるレベルであったか否かの評価も重要である。

尿は血液よりも採取しやすい試料であるが、合成カンナビノイドのように、尿から未変化体がほとんど検出されないものがある。これらについては代謝物の検索から始める必要がある。また、代謝物や未変化体がグルクロン酸抱合あるいは硫酸抱合されている場合がある。尿をβ-グルクロナダーゼで処理後、固相抽出で精製し、LC-TOF-MSで幅広い物質群の277物質をスクリーニングする方法が報告されている²⁴⁾。

血液・尿以外の生体試料として、毛髪^{25)~27)}、唾液²⁸⁾、ヒト肝細胞²⁹⁾も報告例がある。ヒト肝細胞は、ある薬物からどのような代謝物が生じるかを試験管内で探る初期段階の研究に用いられる。

3 危険ドラッグ成分各論

3.1 合成カンナビノイド

合成カンナビノイド³⁰⁾³¹⁾は、大麻草の成分と特異的に結合するCB1及びCB2レセプターへの結合活性を持つ合成化学物質の総称である。合成カンナビノイドの流行の初期には、JWH-018 (2)を初めとするナフトイルインドール類が多く出回った。そのため、2013年2月に、この基本骨格を有する化合物が包括指定 (3)³²⁾された。しかしナフトイルインドール類以外にも非常に幅広い構造の物質が出回っている。欧州薬物・薬物依存監視センター（EMCDDA）は合成カンナビノイドをCore, Link, Ring, Tailの4部位（図2）に分けてその組み合わせによって名称を検索できるウェブサイト³³⁾を提供している。最近日本で検出された合成カンナビノイドから5-Fluoro-AMB (4)⁹⁾及びA-836339 (5)³⁴⁾の構造式を例示した。2~8はすべて合成カンナビノイドであり、Core, Link, Ring, Tail共に多様であることがわかる。なお、1はNNE1（別名NNEI, 6）を含有する製品から検出され、NNE1の副生成物と考えられている¹¹⁾。

合成カンナビノイドは危険ドラッグ成分の中では比較的分子量が大きいため、課長通知¹³⁾では他の成分とは異なるGC及びLC条件が示されている。また、一部の合成カンナビノイドは分析操作中に分解する性質がある。例えば、Link部分がエステルであるQUPIC（別名PB-22, 7a）は、メタノールまたはエタノール溶液をGC-MSにスプリットレス注入すると熱分解するが、これは注入口温度を250℃としてガラスウールを詰めない不活性処理ライナーを使用するか、もしくはスプリット注入にすることで抑えられるとの報告がある³⁵⁾。また、Ringの部分に三員環構造を持つUR-144 (8)もGC-MSにおいて熱分解が起こる³⁶⁾。

生体試料の分析においては、血中の合成カンナビノイド46物質をLC-MS/MSで同時分析する方法が報告されている³⁷⁾。過量使用者であっても合成カンナビノイドの血中濃度は低い場合が多く、例えば死亡例における5F-QUPIC（別名5F-PB-22, 7b）の血中濃度は不検出~1.5 ng/mLであった³⁸⁾。また、尿からは合成カンナビノイドの未変化体がほとんど検出されず、代謝物が検出される。代謝物は親化合物のいずれかの位置に水酸基が付加した構造を持つもの、あるいは、さらにカルボン酸へと酸化されたもの、それらがグルクロン酸抱合されたもの等がある³⁰⁾³⁹⁾⁴⁰⁾。複数の合成カンナビノイドが共通の代謝物を生じる場合もあるため、特徴的な代謝物を分析することによって、いずれを摂取したか識別する方法が検討されている⁴¹⁾⁴²⁾。

合成カンナビノイドは植物片に混入される場合が多いが、混入時に含有量のばらつきが生じる。これが過量摂取を招く原因の一つである可能性が指摘されてい

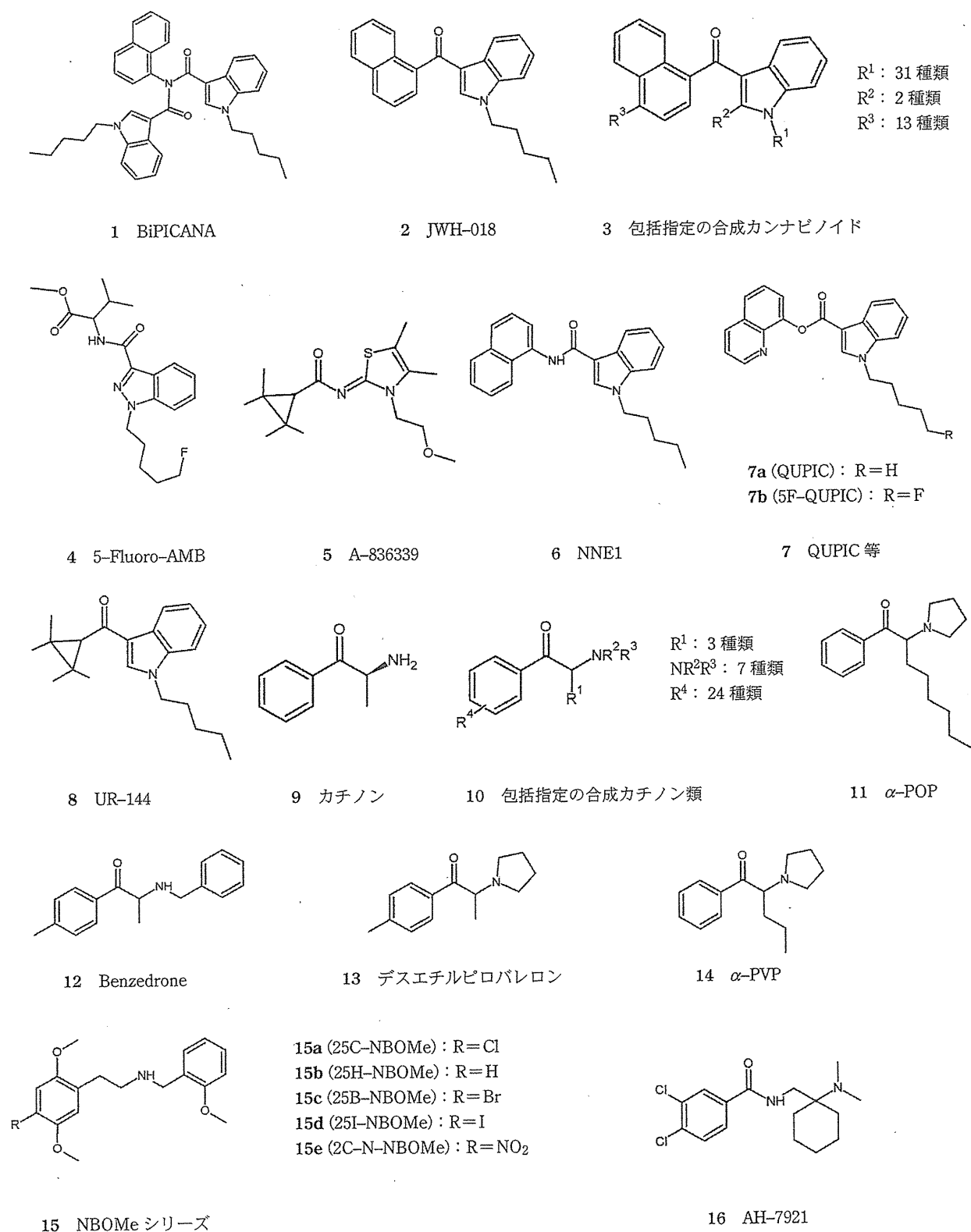


図1 各物質の構造式

る⁴³⁾。また、吸煙時の副流煙による毛髪への汚染も報告されている²⁶⁾²⁷⁾。

3・2 合成カチノン類

カチノン (9) はカートに含まれる興奮作用を有する物質であり⁴⁴⁾、麻薬に指定されている。カチノンと同

じ基本骨格を持つ合成化学物質が「バスソルト」等として出回っており、これらは合成カチノン類と呼ばれる⁴⁴⁾⁴⁵⁾。フェネチルアミンの β -位がカルボニル基に置換された β -ケトフェネチルアミン類⁴⁶⁾として命名されるものもあり、これらは bk-MBDB や bk-MDDMA 等、bk を冠した通称名を持つ。

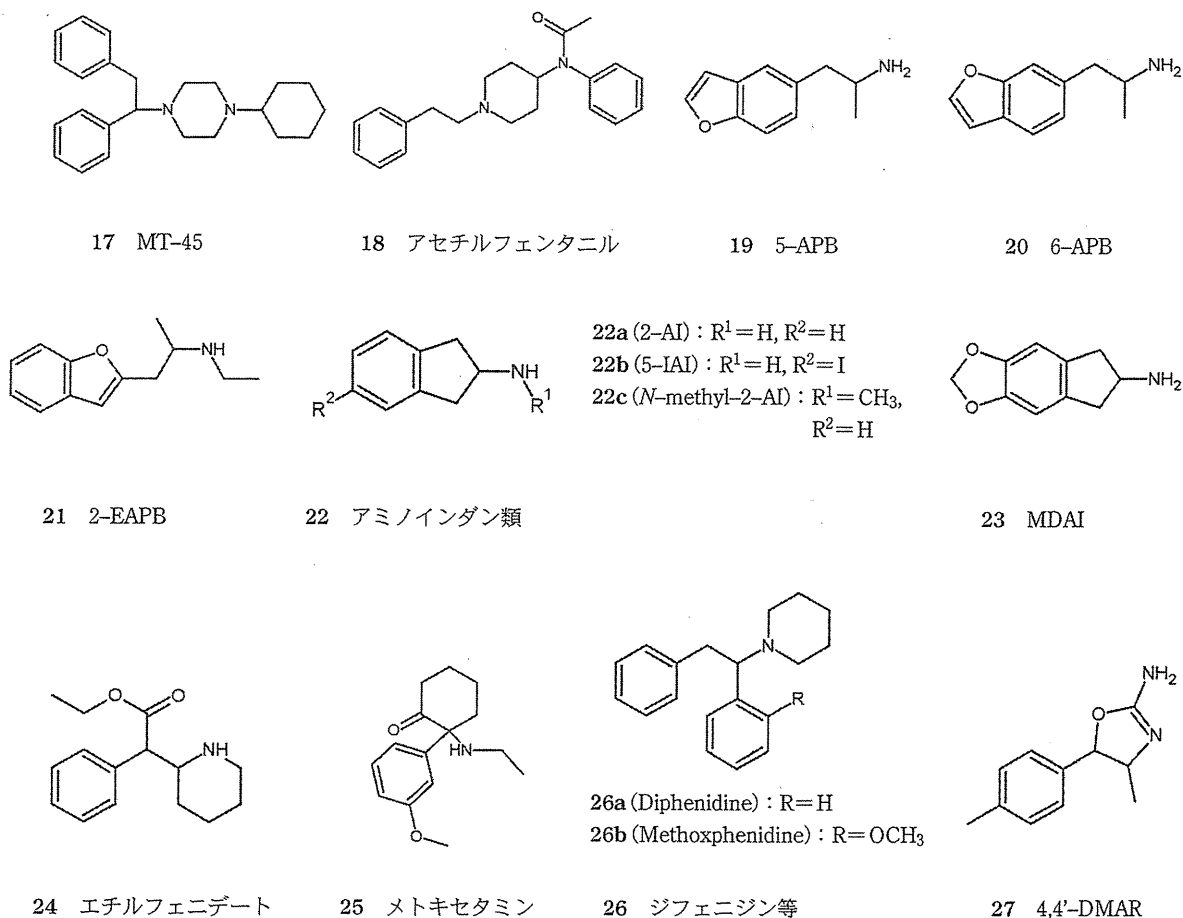


図1 (続き) 各物質の構造式

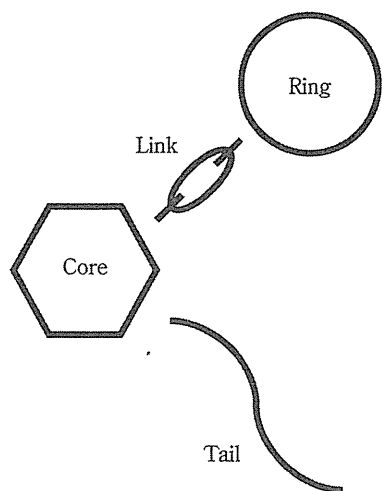


図2 EMCDDAによる合成カンナビノイドの化学構造の模式図

比較的分子量の小さい合成カチノン類については、2013年12月に包括指定(10)が行われた。包括指定の物質は、標準物質が入手できずマススペクトルも明らかでないものが多数を占める。カチノン類はEIマススペクトルにおいて特徴的なピークが少なく構造推定が難しいため、開裂パターンから構造推定法を検討した論文がいくつか出されている⁴⁷⁻⁴⁹。包括指定後には該当する構造の物質はほぼ姿を消したが、その後も包括範囲外

の新たな合成カチノン類が出現し続けている⁹。その中には α -POP (別名PV9, 11)⁵⁰のように非常に長い主鎖を持つものもある。Bazedrone (12)等16物質の呈色試験、TLC、GC-MSのデータが提供されている⁵¹。また、危険ドラッグ製品からGC-MS、LC及びフローインジェクションMS/MSによりデスエチルピロバレロン (別名4-MPPP, 13)等10物質を検出した報告がある⁵²。 α -PVP (14)のGC-MS分析において一部熱分解が起こることが報告されている⁵³。カチノン類は尿に未変化体が排泄される⁵⁴⁵⁵が、麻薬である α -PVPの代謝物については詳細な報告がある⁵⁵。

なお、合成カチノン類は不斉炭素原子を持ち、光学異性体間で異なる作用を示す⁴⁴ため、キラル分析も行われている⁵⁶。

3.3 NBOMe シリーズ

NBOMe シリーズはフェネチルアミンのアミン部分に o -メトキシベンゾイル基が結合した構造であり、特に欧米で問題になっている⁵⁷。日本では25C-NBOMe (15a), 25H-NBOMe (15b), 25B-NBOMe (15c), 25I-NBOMe (15d)が指定薬物に指定されている。極めて微量で作用し、紙片に染み込ませて流通するものもある⁵⁷⁵⁸。25C-NBOMeの1回使用量は50~200 μ g程度

であり、「合法LSD」とも呼ばれ、LSDと誤認して使用される場合もある⁵⁸⁾。NBOMeシリーズの異性体を含む33物質をGC-MS及びIRで分析した報告がある⁵⁹⁾。また、日本で流通していた製品から25H-NBOMe, 25B-NBOMe及び2C-N-NBOMe (15e)をGC-MS及びLC-MSで検出した報告⁶⁰⁾、尿中の9物質をLC-MS/MSで定量した報告がある⁶¹⁾。

3.4 合成オピオイド

AH-7921 (16)⁶²⁾⁶³⁾, MT-45 (17)⁶⁴⁾及びアセチルフェンタニル (18) はあへん系麻薬と類似する作用を示すため、合成オピオイドと呼ばれる。AH-7921摂取後に死亡した9例の血液のLC-MS/MSによる分析では未変化体とともに6種の代謝物が検出されている⁶³⁾。アセチルフェンタニルは麻薬フェンタニルの類似物質である。尿中のアセチルフェンタニル及びその代謝物アセチルノルフェンタニルをLC-MS/MSで定量した報告がある⁶⁵⁾。

3.5 ベンゾフラン類

フェネチルアミンのベンゼン環がベンゾフラン環に置換した骨格を持つ5-APB (19)^{66)~68)}, 6-APB (20)⁶⁶⁾⁶⁹⁾⁷⁰⁾, 2-EAPB (21)⁹⁾等はBenzofuryとも呼ばれる⁶⁹⁾。5-APB及びその位置異性体3化合物のGC-MS, IR, NMRデータが報告されている⁶⁶⁾。血液中の5-APBをLC-MS/MSで定量した報告⁶⁷⁾、血液・尿・組織中の5-APBをGC-MSで定量した報告⁶⁸⁾、及び尿中の6-APBをLC-HR-MSで検出した報告⁷⁰⁾がある。

3.6 アミノインダン類

アミノインダン類⁷¹⁾はインダン環の2位にアミノ基が結合した構造の化合物であり、フェネチルアミンの関連化合物とする見解もある⁵⁷⁾。2-AI (22a)が2007年、5-IAI (22b)が2012年、MDAI (23)が2013年、N-methyl-2-AI (22c)が2014年に指定薬物に指定されており、爆発的な流行は起こっていないものの、新規物質の出現は継続している。GC-MSやLC-MSによる分析⁷¹⁾のほか、アミノインダン類を含む1級及び2級アミンを蛍光誘導体化してLCで分析する方法⁷²⁾が報告されている。

3.7 その他の薬物

エチルフェニデート (24) は向精神薬メチルフェニデート (商品名リタリン等) の類似物質である。IR, GC-MS, NMRのデータ⁷³⁾及びLC-QTOF-MSによる生体試料 (血液・尿・組織)⁷⁴⁾の分析法が報告されている。

メトキセタミン (25) は麻薬ケタミンの類似物質で

ある。GC-MS及びNMRのデータが報告されている⁷⁵⁾。また、LC-PDA及びLC-MSを利用する血液・尿・硝子体液中のメトキセタミンの分析法が報告されている⁷⁵⁾。メトキセタミンの急性中毒3事例の患者の血液及び尿をGC-MSで分析した報告がある⁷⁶⁾。

ジフェニジン (26a) 及びメトキシフェニジン (26b) は麻薬フェンシクリジンに類似の構造を持つ。ハーブ製品中のジフェニジンをGC-MS及びフローインジェクション-MS/MSにより定性・定量した報告がある⁷⁷⁾。急性中毒事例で患者の血液及び尿中のメトキシフェニジンを検出した報告がある⁷⁸⁾。

4-メチル-4'-メチルアミノレクス (4,4'-DMAR, 27) は麻薬4-メチルアミノレクスの類似物質である。血液・尿・胃内容物中の4,4'-DMARをLC-QTOF-MSで定量した報告⁷⁹⁾及び欧州の複数の国で市販製品の化学構造をGC-MS, LC-MS/MS, LC-QTOF-MSを用いて解析した結果いずれも*cis*-アイソマーのラセミ体であったとする報告⁸⁰⁾がある。

4 その他の課題

ここまでは、設備の整った分析試験室における危険ドラッグ成分の定性・定量分析について述べてきた。一方で、社会的要請に^た応えるため、このほかにも多様な検討が行われている。

乱用薬物に関わる犯罪の捜査現場においては捜査官による現場簡易試験が行われている。これらは各々の薬物に特有の呈色反応を利用する試験であるが、危険ドラッグ成分についても適用可能な反応がないか検討されている⁸¹⁾。また、多岐にわたる構造のドラッグに対応するには呈色反応では限界があるため、様々な携行型の機器が検討されている。代表的な機器は、ラマン分光光度計⁴⁶⁾、近赤外分光光度計⁸²⁾、イオンモビリティ分析計⁸³⁾等である。

さらに、分析試験室における一次スクリーニングの簡易化のために、前処理なしで多数検体を迅速に処理できるリアルタイム直接分析 (DART) イオン源を接続した質量分析計の利用が検討されている⁸⁴⁾⁸⁵⁾。

ハーブ製品については、危険ドラッグ成分を付着させるベースとして使われている植物の起原も研究されている⁸⁶⁾。

また、海外では職場ドラッグテストや危険運転取締まりのために尿や唾液中の乱用薬物成分の簡易試験が広く行われている。危険ドラッグに関しては、①特定の危険ドラッグ成分を検出する⁸⁷⁾、②古典的な薬物のテストにおける誤判定を防ぐ⁸⁸⁾⁸⁹⁾、の両面からの研究が行われている。

5 まとめ

2007年4月に指定薬物制度が開始された当時、その

品目数は31物質1植物であった。当初は項目数の追加は年間1~2回程度であり、関係機関による分析法の検討は、位置異性体の識別法を詳細に検討するなど丁寧に行われていた。しかし危険ドラッグの蔓延が深刻になるにつれて新規物質の追加は加速度的に増加し、2014年には8回にわたって計78物質が新たに指定された。数だけでなく基本骨格の種類も多様化しており、関係機関は、位置異性体等の識別法にまで踏み込むいとまもなく次の物質への対応を迫られる状況である。今後も危険ドラッグに含有される物質の種類は増加すると考えられるが、短期間に多数の検体を確実に分析するため、分析法の一層の高精度化が求められる。

文 献

- 1) 2014年6月25日, 各紙朝刊
- 2) 「脱法ドラッグ」に代わる新呼称名を選定しました, 厚生労働省, (2014年7月), <http://www.mhlw.go.jp/stf/houdou/0000051607.html> (2015年1月6日, 最終確認)
- 3) 安田一郎, 高橋美佐子: ぶんせき, **2008**, 26.
- 4) 違法ドラッグ (いわゆる脱法ドラッグ) 対策のあり方について (提言), 脱法ドラッグ対策のあり方に関する検討会, 平成17年11月25日, <http://www.mhlw.go.jp/shingi/2005/11/s1125-21.html> (2015年1月6日, 最終確認)
- 5) 平成26年上半年期の薬物・銃器情勢 (暫定値), 警察庁刑事事務局組織犯罪対策部薬物銃器対策課, 平成26年9月, https://www.npa.go.jp/sosikihanzai/yakubutuyyuki/yakujyuu/yakujyuu1/h26_1_yakujyuu_jousei.pdf (2015年1月6日, 最終確認)
- 6) S. D. Brandt, L. A. King, M. Evans-Brown: *Drug Test Anal.*, **6**, 587 (2014).
- 7) UNODC Early Warning Advisory (EWA) on New Psychoactive Substances (NPS), United Nations Office on Drugs and Crime, <https://www.unodc.org/LSS/Home/NPS>, (2015年1月6日, 最終確認)
- 8) 花尻 (木倉) 瑠理, 内山奈穂子, 河村麻衣子, 緒方 潤, 合田幸広: 薬学雑誌, **133**, 31 (2013).
- 9) N. Uchiyama, Y. Shimokawa, M. Kawamura, R. Kikura-Hanajiri, T. Hakamatsuka: *Forensic Toxicol.*, **32**, 266 (2014).
- 10) 鈴木 仁: 東京都健康安全研究センター年報, **64**, 11 (2013).
- 11) J. Nakajima, M. Takahashi, N. Uemura, T. Seto, H. Fukaya, J. Suzuki, M. Yoshida, M. Kusano, H. Nakayama, K. Zaitso, A. Ishii, T. Moriyasu, D. Nakae: *Forensic Toxicol.*, **33**, 84 (2015).
- 12) 薬物乱用防止に関する情報, 指定薬物名称・構造式一覧, 厚生労働省, http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/iyakuhin/yakubuturanyou/index.html (2015年1月6日, 最終確認)
- 13) 監視指導・麻薬対策課長通知: 指定薬物の分析法について, 平成19年5月21日付け薬食監麻発第0521002号 (2007).
- 14) 監視指導・麻薬対策課長通知: 指定薬物の測定結果等について, 平成22年9月14日付け薬食監麻発第0914第5号 (2010).
- 15) 監視指導・麻薬対策課長通知: 指定薬物の測定結果等について, 平成26年8月25日付け薬食監麻発第0825第2号 (2014).
- 16) 違法ドラッグデータ閲覧システム, 国立医薬品食品衛生研究所, <http://npsdb.nihs.go.jp/Search/> (2015年1月6日, 最終確認)
- 17) SWGDRUG Mass Spectral Library, Scientific Working Group for the Analysis of Seized Drugs, <http://www.swgdrug.org/ms.htm> (2015年1月6日, 最終確認)
- 18) Cayman Spectral Library (CSL), Cayman Chemical Company, <https://www.caymanchem.com/app/template/SpectralLibrary.vm> (2015年1月6日, 最終確認)
- 19) K. G. Shanks, T. Dahn, G. Behonick, A. Terrell: *J. Anal. Toxicol.*, **36**, 360 (2012).
- 20) M. Grabenauer, W. L. Krol, J. L. Wiley, B. F. Thomas: *Anal. Chem.*, **84**, 5574 (2012).
- 21) L. Li, I. S. Lurie: *Forensic Sci. Int.*, **237**, 100 (2014).
- 22) M. Dziadosz, J.P. Weller, M. Klintschar, J. Teske: *J. Chromatogr. B, Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.*, **929**, 84 (2013).
- 23) F. Guale, S. Shahreza, J. P. Walterscheid, H. Chen, C. Arndt, A. T. Kelly, A. Mozayani: *J. Anal. Toxicol.*, **37**, 17 (2013).
- 24) M. Sundström, A. Pelander, V. Angerer, M. Hutter, S. Kneisel, I. Ojanperä: *Anal. Bioanal. Chem.*, **405**, 8463 (2013).
- 25) M. Hutter, S. Kneisel, V. Auwärter, M. A. Neukamm: *J. Chromatogr. B, Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.*, **903**, 95 (2012).
- 26) M. Hutter, B. Moosmann, V. Auwärter, M. A. Neukamm: *Forensic Toxicol.*, **33**, 69 (2015).
- 27) T. Saito, C. Sasaki, A. Namera, K. Kurihara, S. Inokuchi: *Forensic Toxicol.*, **33**, 155 (2015).
- 28) S. Kneisel, V. Auwärter, J. Kempf: *Drug Test Anal.*, **5**, 657 (2013).
- 29) T. Takayama, M. Suzuki, K. Todoroki, K. Inoue, J. Z. Min, R. Kikura-Hanajiri, Y. Goda, T. Toyo'oka: *Biomed. Chromatogr.*, **28**, 831 (2014).
- 30) M. A. Elsohly, W. Gul, A. S. Wanas, M. M. Radwan: *Life Sci.*, **97**, 78 (2014).
- 31) M. S. Castaneto, D. A. Gorelick, N. A. Desrosiers, R. L. Hartman, S. Pirard, M. A. Huestis: *Drug Alcohol Depend.*, **144**, 12 (2014).
- 32) R. Kikura-Hanajiri, N. Uchiyama, M. Kawamura, Y. Goda: *Drug Test Anal.*, **6**, 832 (2014).
- 33) Synthetic cannabinoids in Europe, European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction, <http://www.em-cdda.europa.eu/topics/pods/synthetic-cannabinoids> (2015年1月6日, 最終確認)
- 34) N. Uemura, H. Fukaya, C. Kanai, M. Yoshida, J. Nakajima, M. Takahashi, J. Suzuki, T. Moriyasu, D. Nakae: *Forensic Toxicol.*, **32**, 45 (2014).
- 35) K. Tsujikawa, T. Yamamuro, K. Kuwayama, T. Kanamori, Y. T. Iwata, H. Inoue: *Forensic Toxicol.*, **32**, 201 (2014).
- 36) P. Adamowicz, D. Zuba, K. Sekuła: *Forensic Sci. Int.*, **233**, 320 (2013).
- 37) L. M. Huppertz, S. Kneisel, V. Auwärter, J. Kempf: *J. Mass Spectrom.*, **49**, 117 (2014).
- 38) G. Behonick, K. G. Shanks, D. J. Firchau, G. Mathur, C. F. Lynch, M. Nashelsky, D. J. Jaskierny, C. Meroueh: *J. Anal. Toxicol.*, **38**, 559 (2014).
- 39) S. S. Simões, I. Silva, A. C. Ajenjo, M. J. Dias: *Forensic Sci. Int.*, **243**, 117 (2014).
- 40) 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 : *Anal. Chem.*, **83**, 6381 (2011).
- 41) M. Jang, I. Shin, W. Yang, H. Chang, H. H. Yoo, J. Lee, E. Kim : *Forensic Sci. Int.*, **244**, 85 (2014).
- 42) M. Jang, W. Yang, I. Shin, H. Choi, H. Chang, E. Kim : *Int. J. Legal Med.*, **128**, 285 (2014).
- 43) B. Moosmann, V. Angerer, V. Auwärter : *Forensic Toxicol.*, **33**, 54 (2015).
- 44) J. P. Kelly : *Drug Test Anal.*, **3**, 439 (2011).
- 45) C. L. German, A. E. Fleckenstein, G. R. Hanson : *Life Sci.*, **97**, 2 (2014).
- 46) S. P. Stewart, S. E. J. Bell, N. C. Fletcher, S. Bouazzaoui, Y. C. Ho, S. J. Speers, K. L. Peters : *Anal. Chem. Acta.*, **711**, 1 (2012).
- 47) 松田駿太郎, 片木宗弘, 西岡 裕, 鎌田寛恵, 佐々木啓子, 志摩典明, 鎌田 徹, 三木昭宏, 辰野道昭, 財津桂, 坪井健人, 土橋 均, 鈴木廣一 : 法科学技術, **19**, 77 (2014).
- 48) V. Lopez-Avila, W. Gao, R. Urdahl : *J. Pharm. Sci. Innov.*, **1**, 44 (2012).
- 49) J. D. Power, S. D. McDermott, B. Talbot, J. E. O'Brien, P. Kavanagh : *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **26**, 2601 (2012).
- 50) K. Hasegawa, A. Wurita, K. Minakata, K. Gonmori, H. Nozawa, I. Yamagishi, O. Suzuki, K. Watanabe : *Forensic Toxicol.*, **32**, 243 (2014).
- 51) N. N. Daeid, K. A. Savage, D. Ramsay, C. Holland, O. B. Sutcliffe : *Sci. Justice.*, **54**, 22 (2014).
- 52) A. M. Leffler, P. B. Smith, A. de Armas, F. L. Dorman : *Forensic Sci. Int.*, **234**, 50 (2014).
- 53) K. Tsujikawa, K. Kuwayama, T. Kanamori, Y. T. Iwata, H. Inoue : *Forensic Sci. Int.*, **231**, 296 (2013).
- 54) V. Uralets, S. Rana, S. Morgan, W. Ross : *J. Anal. Toxicol.*, **38**, 233 (2014).
- 55) N. Shima, M. Katagi, H. Kamata, S. Matsuta, K. Sasaki, T. Kamata, H. Nishioka, A. Miki, M. Tatsuno, K. Zaitzu, A. Ishii, T. Sato, H. Tsuchihashi, K. Suzuki : *Forensic Toxicol.*, **32**, 59 (2014).
- 56) S. Mohr, M. Taschwer, M. G. Schmid : *Chirality*, **24**, 486 (2012).
- 57) L. A. King : *Drug Test Anal.*, **6**, 808 (2014).
- 58) F. S. Bersani, O. Corazza, G. Albano, G. Valeriani, R. Santacroce, F. B. M. Posocco, E. Cinosi, P. Simonato, G. Martinotti, G. Bersani, F. Schifano : *Biomed. Res. Int.*, **2014**, 734749 (2014).
- 59) J. F. Casale : *Microgram J.*, **9**, 84 (2012).
- 60) N. Uchiyama, Y. Shimokawa, S. Matsuda, M. Kawamura, R. Kikura-Hanajiri, Y. Goda : *Forensic Toxicol.*, **32**, 105 (2014).
- 61) J. L. Poklis, D. J. Clay, A. Poklis : *J. Anal. Toxicol.*, **38**, 113 (2014).
- 62) N. Uchiyama, S. Matsuda, M. Kawamura, R. Kikura-Hanajiri, Y. Goda : *Forensic Toxicol.*, **31**, 223 (2013).
- 63) R. Kronstrand, G. Thelander, D. Lindstedt, M. Roman, F. C. Kugelberg : *J. Anal. Toxicol.*, **38**, 599 (2014).
- 64) N. Uchiyama, S. Matsuda, M. Kawamura, R. Kikura-Hanajiri, Y. Goda : *Forensic Toxicol.*, **32**, 9 (2014).
- 65) A. L. Patton, K. A. Seely, S. Pulla, N. J. Rusch, C. L. Moran, W. E. Fantegrossi, L. D. Knight, J. M. Marraffa, P. D. Kennedy, L. P. James, G. W. Endres, J. H. Moran : *Anal. Chem.*, **86**, 1760 (2014).
- 66) J. F. Casale, P. A. Hays : *Microgram J.*, **9**, 61 (2012).
- 67) P. Adamowicz, D. Zuba, B. Byrska : *Forensic Sci. Int.*, **245**, 126 (2014).
- 68) I. M. McIntyre, R. D. Gary, A. Trochta, S. Stolberg, R. Stabley : *J. Anal. Toxicol.*, **39**, 156 (2015).
- 69) T. C. Ayres, J. W. Bond : *BMJ Open*, **2**, e000977 (2012).
- 70) W. L. Chan, D. M. Wood, S. Hudson, P. I. Dargan : *J. Med. Toxicol.*, **9**, 278 (2013).
- 71) P. D. Sainsbury, A. T. Kicman, R. P. Archer, L. A. King, R. A. Braithwaite : *Drug Test Anal.*, **3**, 479 (2011).
- 72) J. Z. Min, S. Hatanaka, T. Toyo'oka, S. Inagaki, R. Kikura-Hanajiri, Y. Goda : *Anal. Bioanal. Chem.*, **395**, 1411 (2009).
- 73) J. F. Casale, P. A. Hays : *Microgram J.*, **8**, 58 (2011).
- 74) J. Krueger, H. Sachs, F. Musshoff, T. Dame, J. Schaeper, M. Schwerer, M. Graw, G. Roider : *Forensic Sci. Int.*, **243**, 126 (2014).
- 75) G. De Paoli, S. D. Brandt, J. Wallach, R. P. Archer, D. J. Pounder : *J. Anal. Toxicol.*, **37**, 277 (2013).
- 76) J. E. Shields, P. I. Dargan, D. M. Wood, M. Puchnarewicz, S. Davies, W. S. Waring : *Clin. Toxicol.*, **50**, 438 (2012).
- 77) A. Wurita, K. Hasegawa, K. Minakata, K. Watanabe, O. Suzuki : *Forensic Toxicol.*, **32**, 331 (2014).
- 78) K. E. Hofer, C. Degrandi, D. M. Müller, U. Zürner-Härdi, S. Wahl, C. Rauber-Lüthy, A. Ceschi : *Clin. Toxicol.*, **52**, 1288 (2014).
- 79) S. Cosbey, S. Kirk, M. McNaull, L. Peters, B. Prentice, A. Quinn, S. P. Elliott, S. D. Brandt, R. P. Archer : *J. Anal. Toxicol.*, **38**, 383 (2014).
- 80) S. D. Brandt, M. H. Baumann, J. S. Partilla, P. V. Kavanagh, J. D. Power, B. Talbot, B. Twamley, O. Mahony, J. O'Brien, S. P. Elliott, R. P. Archer, J. Patrick, K. Singh, N. M. Dempster, S. H. Cosbey : *Drug Test Anal.*, **6**, 684 (2014).
- 81) R. C. A. Isaacs : *Forensic Sci. Int.*, **242**, 135 (2014).
- 82) K. Tsujikawa, T. Yamamuro, K. Kuwayama, T. Kanamori, Y. T. Iwata, K. Miyamoto, F. Kasuya, H. Inoue : *Forensic Sci. Int.*, **242**, 162 (2014).
- 83) M. Joshi, B. Cetroni, A. Camacho, C. Krueger, A. J. Midey : *Forensic Sci. Int.*, **244**, 196 (2014).
- 84) R. A. Musah, R. B. Cody, M. A. Domin, A. D. Lesiak, A. J. Dane, J. R. E. Shepard : *Forensic Sci. Int.*, **244**, 42 (2014).
- 85) 河村麻衣子, 花尻 (木倉) 瑠理, 合田幸広 : 薬学雑誌, **129**, 719 (2009).
- 86) J. Ogata, N. Uchiyama, R. Kikura-Hanajiri, Y. Goda : *Forensic Sci. Int.*, **227**, 33 (2013).
- 87) A. Arntson, B. Ofsa, D. Lancaster, J. R. Simon, M. McMullin, B. Logan : *J. Anal. Toxicol.*, **37**, 284 (2013).
- 88) M. Nieddu, L. Burrai, C. Trignano, G. Boatto : *Forensic Toxicol.*, **32**, 132 (2014).
- 89) A. Saitman, H. D. Park, R. L. Fitzgerald : *J. Anal. Toxicol.*, **38**, 387 (2014).

● 津村ゆかり (Yukari Tsumura)

厚生労働省近畿厚生局麻薬取締部 (〒540-0008 大阪市中央区大手前4-1-76 大阪合同庁舎第4号館)。京都大学大学院薬学研究科修士課程修了。博士(薬学)。《現在の研究テーマ》覚せい剤, 大麻, 麻薬, 指定薬物等の分析。《主な著書》“図解入門 よくわかる最新分析化学の基本と仕組み”(秀和システム)。《趣味》読書。

Synthesis and Resolution of Substituted [5]Carbohelicenes

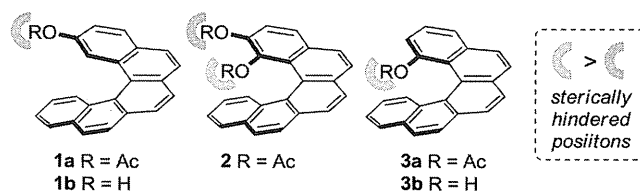
Kazuteru Usui,^{*,†} Kosuke Yamamoto,[†] Takashi Shimizu,[†] Mieko Okazumi,[†] Biao Mei,[†] Yosuke Demizu,[‡] Masaaki Kurihara,[‡] and Hiroshi Suemune^{*,†}

[†]Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University, 3-1-1 Maidashi, Higashi-ku, Fukuoka 812-8582, Japan

[‡]Japan and Division of Organic Chemistry, National Institute of Health Sciences, 1-18-1, Kamiyoga, Setagaya, Tokyo 158-8501, Japan

Supporting Information

ABSTRACT: Three types of racemic [5]helicenyl acetates (**1a**, **2**, and **3a**) were synthesized. The synthesis of **2** was achieved by regioselective oxidation using *o*-iodoxybenzoic acid. The enzymatic kinetic resolution of **1a–3a** was studied. The conversion with the highest rate and *ee* was obtained using **1a** as the substrate and lipase Amano PS-IM as the enzyme. The two enantiomers of 1-[5]helicenol **3b** were separated using (1*S*)-10-camphorsulfonyl chloride as the chiral resolving agent.



[*n*]Helicene derivatives are *ortho*-annulated aromatic rings showing helical chirality. Enantiopure [*n*]helicenes with $n \geq 6$ and [4]- and [5]-helicenes with a substituent on the interior side of the helical aromatic framework can be isolated at room temperature because of their high configurational stability.¹ Therefore, chiral-functionalized helicenes have received considerable attention for applications in chiral materials, asymmetric catalysis, and chiral recognition of biomolecules.² For these purposes, the preparation of enantiomerically pure helicenes is required.

The enzymatic transformation of organic substrates is well-known as a method for the preparation of optically active compounds. Enzymes efficiently catalyze a broad range of chemical reactions under mild and environmentally friendly conditions, often with very high enantioselectivity. Although several studies have investigated the lipase-catalyzed acylation of thiaheterohelicenes with primary alcohols,³ lipase-catalyzed direct deacylation of phenolic acetates has been reported only when [5]helicene-like 4-acetate is used as a substrate.⁴ In this context, we recently reported the synthesis of 1-functionalized [5]helicenes and the separation of the enantiomers using chiral HPLC.

In this work, we focused on the synthesis of [5]helicenes with functional groups on the sterically hindered 1- and/or 2-position of the helix and the development of protocols for their optical resolution. Herein, we report a concise synthesis of [5]helicenyl acetates (*rac*-**1a–3a**), their lipase-catalyzed kinetic resolution, and the optical resolution of (\pm)-1-[5]helicenol (**3b**) using a resolving agent. Furthermore, to gain a deeper insight into the reactivity of lipase, we conducted computational modeling studies using [5]helicenes.

Initially, (\pm)-2-[5]helicenyl acetate (*rac*-**1a**) was synthesized via the route shown in Scheme 1. Synthesis of alkyne **8**, a precursor of *rac*-**1a**, proceeded via the Vilsmeier–Haack reaction of 7-methoxy-1-tetralone **4** to afford β -chloroacrolein **5** in 91% yield.⁵ Suzuki–Miyaura cross-coupling of **5** with 1-naphthylboronic acid afforded coupling product **6** in

quantitative yield. The subsequent oxidative aromatization of **6** with dichlorodicyanobenzoquinone (DDQ) gave compound **7** in quantitative yield. Finally, the Ohira–Bestmann modification of the Seyferth–Gilbert method afforded **8** in 93% yield. Cycloisomerization of **8** with 5 mol % PtCl₂ at 85 °C in toluene resulted in the formation of (\pm)-2-methoxy[5]helicene (*rac*-**1c**) as the sole product. Its bromide, *rac*-**1d**, was characterized by X-ray crystallography to confirm its structure (Figure 1). *Rac*-**1c** was then readily converted by demethylation using BBr₃ to (\pm)-2-[5]helicenol (*rac*-**1b**) in quantitative yield. This procedure may be employed to afford *rac*-**1b** in 63% overall yield from **4**.

For the synthesis of (\pm)-1,2-[5]helicenyl diacetate (*rac*-**2**), *rac*-**1b** was treated with *o*-iodoxybenzoic acid (IBX) in DMF to afford the desired [5]helicene *o*-quinone (*rac*-**9**),⁶ which was converted to *rac*-**2** in 68% yield by a sequence of reduction and acetylation reactions (Scheme 2). The structure of *rac*-**9** was confirmed by COSY, HMBC, and NOESY spectra. A computational DFT study was performed for the regioselective IBX oxidation of *rac*-**1b** (Figure 2). Based on previous studies,⁷ *rac*-**1b** reacts with IBX to produce aryloxy- λ^5 -iodane intermediates **IM1a/1b**, which transfer oxygen to the *ortho*-site via a sigmatropic-like [2,3]-rearrangement. During this process, the iodine(V) atom is reduced to the λ^3 -iodanyl species **IM2a/2b**, forming *o*-quinone. Thus, the regioselectivity in this reaction could be determined by the transition state of the [2,3]-rearrangement process. Indeed, the DFT results show that the [2,3]-rearrangement step from **IM1a/1b** would give **IM2a/2b** via **TS1a/1b**, involving energy barriers of 2.4 and 4.0 kcal mol⁻¹, respectively. Thus, the difference in the computed free energy barriers (1.6 kcal mol⁻¹) for the internal positions of the oxidation processes is in good agreement with the experimental result.⁸

Received: April 7, 2015

Published: May 28, 2015

Scheme 1. Synthesis of 2-[5]Helicenyl Acetate 1a

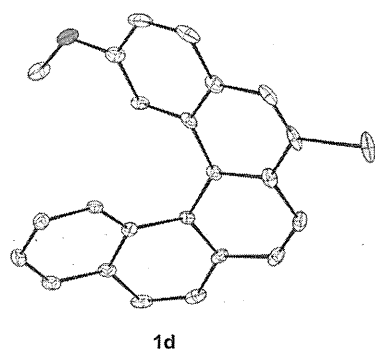
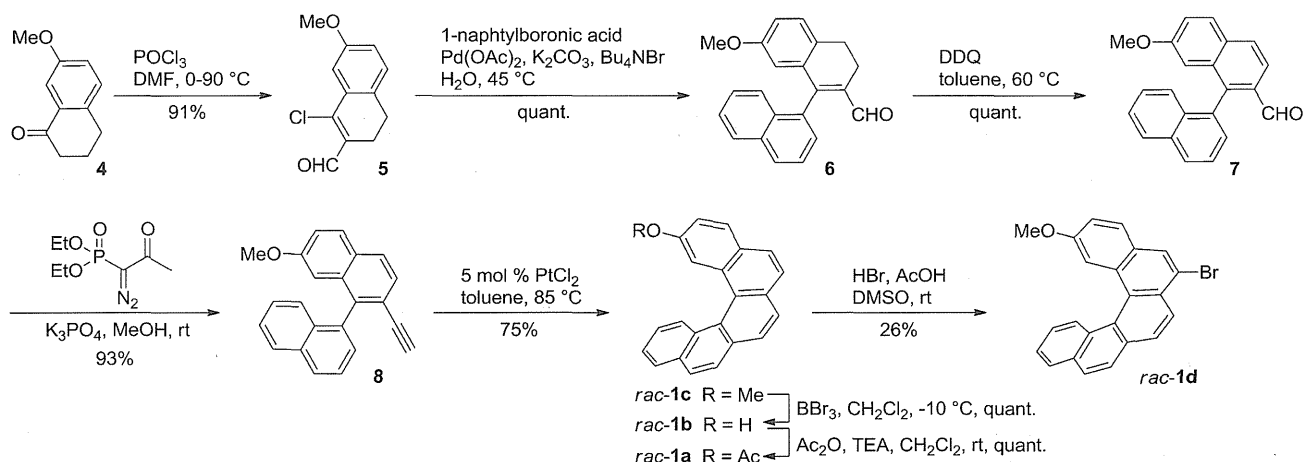
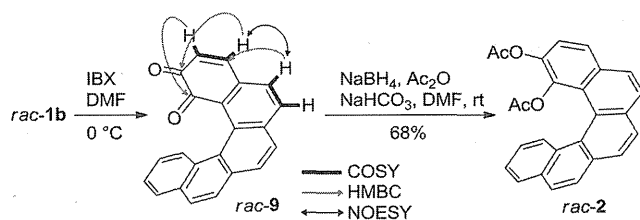


Figure 1. ORTEP drawing of 1d with 50% ellipsoid probability.

Scheme 2. Synthesis of 1,2-[5]Helicenyl Diacetate 2



(±)-1-[5]Helicenyl acetate (*rac-3a*) was synthesized by our previous procedure (see the Supporting Information).^{1a}

Next, we examined the hydrolysis of *rac-1a–3a* using several different enzymes in *tert*-butylmethyl ether (MTBE) containing water. The enzymatic hydrolysis of *rac-1a* was performed using lipases at 30 °C, and the reaction course was monitored by chiral HPLC (Daicel, Chiral IA column). The results of the kinetic resolutions are summarized in Table 1.

Hydrolysis of *rac-1a* in the presence of Amano PS proceeded to give (+)-(*P*)-**1b** with 38% *ee* in 59% yield, and (–)-(*M*)-**1a** of 35% *ee* was recovered in 41% yield (entry 1).⁹ Furthermore, Amano PS IM (where IM indicates that the lipase is immobilized on diatomaceous earth) showed higher reactivity than Amano PS. Other lipases such as Amano M, F-Ap15, CAL, Amano AK, and Amano AYS showed low reactivity and/or low enantioselectivity when *rac-1a* was used as a substrate (entries 3–7). Although *rac-1a* showed good conversion yield at 30 °C with Amano PS IM, its enantioselectivity was low (entry 2), probably because of the racemization of the product under the reaction conditions employed. In fact, the Gibbs's free energy

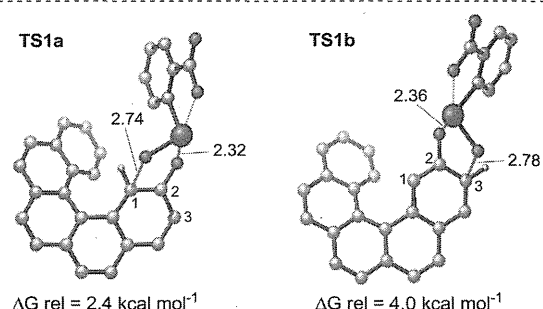
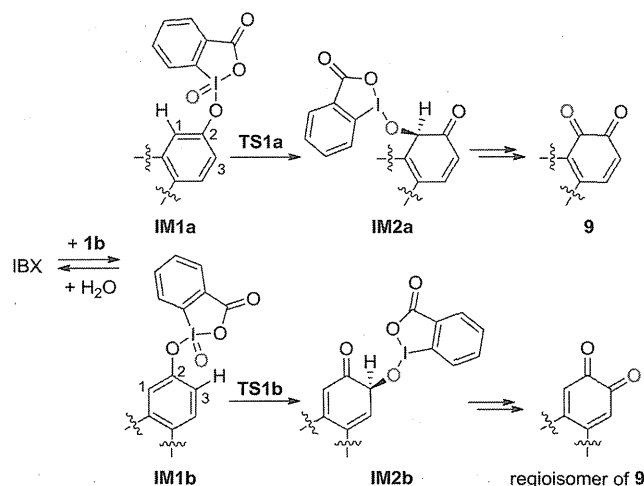


Figure 2. Computational investigation of the [2,3]rearrangement pathway. The relative free energies (kcal mol⁻¹, at 298 K) for the stationary points were calculated using B3LYP with the 6-31G* basis set for O, C, and H, and LANL2DZ for iodine. Most of the hydrogen atoms have been omitted for clarity. IM = intermediate, TS = transition state.

barriers for racemization (ΔG^\ddagger) were found to be 23.0 kcal mol⁻¹ ($k = 5.2 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$, $t_{1/2} = 133 \text{ min}$ at 303 K) and 23.2 kcal mol⁻¹ ($k = 3.5 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$, $t_{1/2} = 198 \text{ min}$ at 303 K) for **1a** and **1b**, respectively.¹⁰ In order to avoid racemization, we changed the amount of lipase used and the reaction temperature. As a result, racemization was suppressed, and **1a** and **1b** were obtained with good enantioselectivity (entries 8–10). The hydrolysis of the configurationally stable diacetate *rac-2* gave inseparable mixtures (Figure S2), and these compounds