

# 質量分析を用いた危険ドラッグの代謝物構造推定および代謝経路の特定

## Determination of Main Metabolic Pathways of Designer Drugs by Mass Spectrometry

財津 桂

Kei ZAITSU

名古屋大学大学院医学系研究科 法医生命倫理学

〒466-8550 名古屋市昭和区鶴舞町 65

E-mail: kzaitsu@med.nagoya-u.ac.jp

### 1. はじめに

薬物による急性中毒事故が発生した場合、法中毒学的には中毒の原因となる薬物や毒物の特定が不可欠となる。中毒原因物質を特定するために有用な生体試料としては、血液および尿が挙げられる。一般に、血液試料からは摂取された薬物本体（未変化体）が検出される場合も多いが、血中半減期の短い薬物の場合は、血中から未変化体を検出することが難しい場合がある。一方、尿試料から中毒の原因となる薬物を特定しようとする場合、尿試料からは未変化体が検出されないこともあるため、その場合には代謝物を分析する必要がある。

特に近年乱用が拡大している「危険ドラッグ（いわゆる脱法ドラッグ）」は次々と新しい構造の薬物が流通することから、代謝に関する情報が十分ではない場合も多く、このような場合、中毒事故が生じた際に、中毒の原因となる違法ドラッグの特定は極めて困難となる。よって、動物実験による代謝経路の推定や中毒事例における危険ドラッグの代謝物を推定することが極めて重要であり、そのためには質量分析が不可欠である。特に、四重極・飛行時間型質量分析計（Q-TOFMS）は精密質量測定による代謝物のスクリーニングや代謝物の構造推定に極めて有用なツールである。

本発表では、危険ドラッグのラットにおける代謝経路の推定や、実際の中毒事例を中心に、質量分析を用いた危険ドラッグの代謝物構造推定および代謝経路の特定について概説する。

### 2. 合成カンナビノイドのラット尿中代謝物の分析

いわゆる「脱法ハーブ」に添加されている合成カンナビノイド類（カンナビノイド受容体アゴニスト）は、世界的に乱用が拡大し、わが国においても深刻な社会問題となっている。近年の法規制強化に伴い、昨年からは薬事法における「指定薬物」についても使用行為への罰則が適用されるようになり、合成カンナビノイド類の摂取証明を行うためには、代謝経路の特定が重要となっている。そこで我々は、合成カンナビノイドをラットに投与し、ラット尿中代謝物の構造推定法を検討した。

#### ① QTRAP 型 LC-MS/MS による合成カンナビノイドのラット尿中代謝物の構造推定

6 週齢の Wistar 系雄性ラットに合成カンナビノイド JWH-073 を腹腔内投与し、24 時間蓄尿した。酵素加水分解後の尿についてメタノール除タンパクを行い、遠心分離後の上清を乾固した後、残渣を初期移動相に再溶解したものを試料とした。装置は Sciex 社製 QTRAP 型 LC/MS/MS system を使用した。

尿からは未変化体は検出されず、JWH-073 は未変化体が尿中排泄されにくいものと考えられた。そこで、水酸化代謝物を効率的に探索・構造推定するため、JWH-073 のプロダクトイオンスペクトルを解析し、水酸基の数と位置によって構造特異的に観察される MS<sup>2</sup> のトランジションを設定して分析した。その結果、インドール環、ナフタレン環等の水酸化体が推定された。さらに、Q3 のイオントラップ機能を用いた MS<sup>3</sup> により、インドール環と N アルキル基の水酸化体を識別することが可能であった。

## ② LC-Q-TOFMS による合成カンナビノイドのラット尿中代謝物の構造推定

6 週齢の Wistar 系雄性ラットに 合成カンナビノイド MAM-2201 を腹腔内投与し、48 時間蓄尿した。酵素加水分解後の尿試料について、メタノール除タンパクを行い、蒸発乾固した後、初期移動相に再溶解したものを分析試料とした。装置は島津製作所製 NexeraX2 および Sciex 製 TripleTOF5600 system を使用した。

その結果、尿から未変化体である MAM-2201 およびその N-脱アルキル化体である 3-(4-methyl-1-naphthoyl)indole は検出されなかった。LC-Q-TOFMS による精密質量測定および精密質量プロダクトイオンスキャンによる代謝物の探索を行ったところ、MAM-2201 の脱フッ素化・水酸化体 (M1)、脱フッ素化・カルボン酸体 (M2)、モノヒドロキシ体、ジヒドロキシ体、M2 モノヒドロキシ体および 3-(4-methyl-1-naphthoyl)indole モノヒドロキシ体と推定される代謝物が検出された。

さらに、加水分解前の尿試料を用いて、これら推定代謝物の抱合体の探索を行った結果、一部の水酸化代謝物のグルクロン酸抱合体が検出された。以上の結果から、ラットにおける MAM-2201 の代謝経路が以下のように推定された (図)。

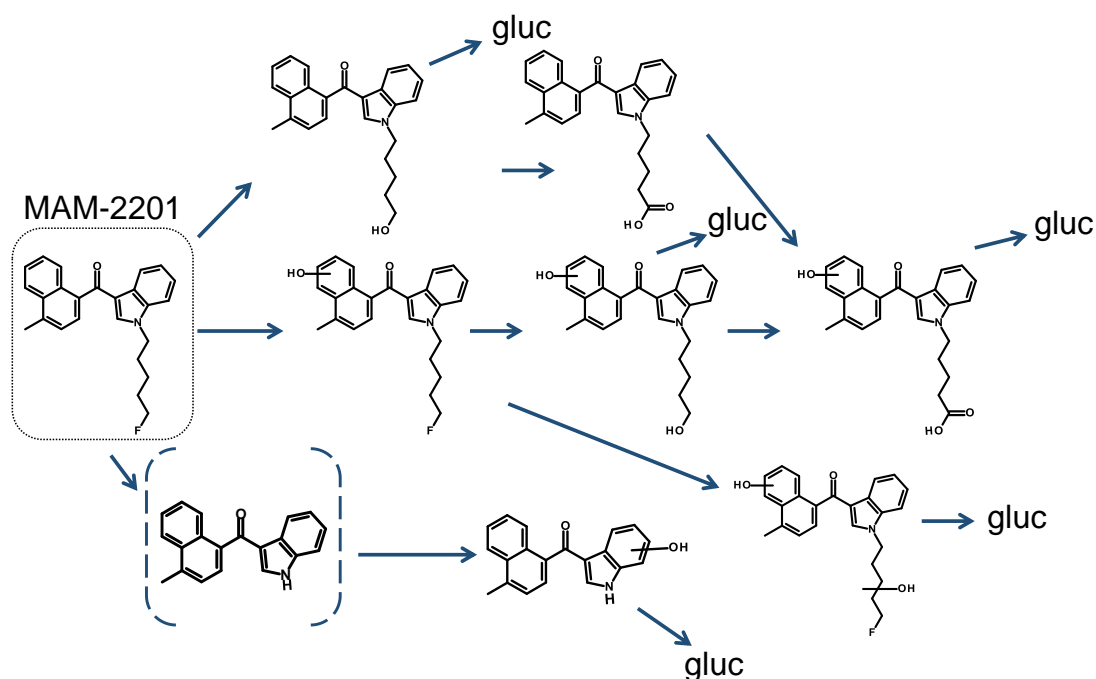


図 ラットにおける MAM-2201 の推定代謝経路 (Gluc: グルクロン酸抱合)

### 3. LC-Q-TOFMS による危険ドラッグ摂取者生体試料の分析

危険ドラッグ摂取による急性中毒事故が発生した場合、上述のとおり、中毒原因物質を特定する必要がある。しかし、危険ドラッグには上述の合成カンナビノイド類以外にも、フェネチルアミン系薬物であるカチノン系薬物やその他の薬物（ジフェニジンやアセチルフェンタニル）なども含まれることに加えて、新種の化合物が突如として流通すること多いため、その分析・同定は容易ではない。

そこで、我々のグループでは、LC-Q-TOFMS を用いた精密質量測定による危険ドラッグおよび代謝物のスクリーニング分析や高感度 LC-MS/MS による極低濃度薬物のターゲット分析を実施しており、その実例について紹介する。

#### ① LC/Q-TOFMS および高感度 LC-MS/MS による合成カンナビノイドの分析

解剖時に採取された血液試料について、メタノール除タンパクを行い、上清を蒸発乾固した後、初期移動相に再溶解したものを分析試料とした。装置は島津製作所製 NexeraX2 および Sciex 製 TripleTOF5600 system を用いた。

1 つめの事例では、LC-Q-TOFMS による Information dependent acquisition (IDA) モードによるスクリーニングから、血液試料から合成カンナビノイド AM-1220、AM-2232 および MAM-2201 が検出された。そこで血液および尿試料中の代謝物を探索したところ、上記合成カンナビノイドの N-脱アルキル化体である 3-naphthoylindole および 3-(4-methylnaphthoyl)indole と推定される化合物が検出された。さらに、プロダクトイオンスキンの精密質量測定からインドール環の水酸化体と推定される化合物等が検出され、これら合成カンナビノイドのヒトにおける代謝経路を推定することが可能であった。

また別の事例では、LC-Q-TOFMS による IDA モードを用いたスクリーニングの結果では、血液試料からは合成カンナビノイドは検出されなかった。そこで、LC-Q-TOFMS を用いて、血液および尿試料中の代謝物スクリーニングを実施したところ、合成カンナビノイド 5-F-ADB の代謝物と推定される化合物が検出された。なお、5-F-ADB の推定代謝経路としては、アルキル鎖末端のフッ素が脱フッ素化された後、水酸化された経路およびカルボン酸への酸化経路が確認された。そこで、血液試料について、Sciex 製 QTRAP 6500 system を用いた SRM トリガーによるターゲット分析を実施した結果、血液試料から合成カンナビノイド 5-F-ADB が検出された。なお、本事例における 5-F-ADB の血中濃度は 0.19 ng/ml と極めて低く、このような低濃度の薬物を網羅的なスクリーニング法で検出するのは容易ではない。このように、血中濃度の低い危険ドラッグを分析するうえでは、尿中代謝物の探索が極めて重要であることが示唆された。

#### ② LC/Q-TOFMS によるカチノン系薬物等の分析

解剖時に採取された血液試料について、メタノール除タンパクを行い、上清を蒸発乾固した後、初期移動相に再溶解したものを分析試料とした。装置は島津製作所製 NexeraX2 および Sciex 製 TripleTOF5600 system を用いた。

LC-Q-TOFMS による IDA モードを用いたスクリーニングの結果、血液からカチノン系薬物である  $\alpha$ -PHP およびアセチルフェンタニルが検出された。さらに、血液および尿試料について、

LC-Q-TOFMS を用いて  $\alpha$ -PHP およびアセチルフエンタニルの代謝物を探索した結果、 $\alpha$ -PHP については水酸化体、 $\beta$ -ケトン基の還元体、2"-OXO 体と推定される代謝物が検出された。一方、アセチルフエンタニルについては、芳香環の水酸化体およびノルアセチルフエンタニルと推定される代謝物が検出され、ヒトにおける代謝経路の推定が可能であった。

#### 4. おわりに

以上のように、危険ドラッグの分析においては、代謝経路の特定あるいは推定が必須であり、そのためには質量分析が不可欠である。特に、危険ドラッグ分析においては、LC-Q-TOFMS が代謝物スクリーニングや構造推定に不可欠なツールとなってきた。また、代謝物のスクリーニングから、極低濃度の危険ドラッグの検出・同定に繋がる場合もあり、危険ドラッグ分析における代謝経路の特定や代謝物の構造推定は非常に重要である。