

令和 5 年 6 月 16 日現在

機関番号：84407

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2022

課題番号：20K23217

研究課題名（和文）致死性乱用薬物の代謝経路解析：使用証明法の確立による薬物事件の原因究明に向けて

研究課題名（英文）Analysis of metabolic pathway of a lethal abused drug: toward the identification of the cause of drugs incidents through the establishment of a method for the proof of use

研究代表者

東 雄貴 (Azuma, Yuki)

地方独立行政法人 大阪健康安全基盤研究所・衛生化学部・研究員

研究者番号：60880466

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：乱用薬物の使用による事故や事件を解明するため、尿や血液から薬物を検出する必要がある。乱用薬物の1種である合成カンナビノイドは速やかに体内で代謝されやすい傾向があり検出が難しい場合がある。その際は乱用薬物そのものの代わりに代謝物の検出が重要となる。しかし、新規に登場した合成カンナビノイドにおいては代謝物の構造情報が不足しており、事件や事故の調査が困難である。本研究では、代謝を受けやすく致死的な作用を持つCUMYL-THPINACAについて、事件や事故の因果関係を明確にするための指標となる代謝物の構造決定、指標代謝物合成、および薬理評価を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

時間遷移の情報を含む代謝経路から指標となりうる代謝物を選定した。その代謝物に関して存在しうるすべての位置異性体の標準品を有機合成し、分子構造を特定した。当該代謝物は標準品が存在するためCUMYL-THPINACAの摂取証明への利用が期待できる。さらに、今回開発した有機合成法は他の合成カンナビノイドの代謝物にも適応可能であり、波及効果が見込める。さらに合成した代謝物のin vitro薬理活性評価の結果、CUMYL-THPINACAだけではなく、当該代謝物についても薬理活性が確認された。本知見は代謝物の構造や薬理活性の情報がより明確な事件・事故の因果関係証明の一端を担う可能性があることを示唆した。

研究成果の概要（英文）：There is a need to detect abused drugs in urine and blood to elucidate accidents and incidents caused by the consumption of the drugs. Synthetic cannabinoids, which are a type of the abused drugs, tend to be rapidly metabolized in the body and are difficult to detect, thus the detection of their metabolites is important instead. However, in new synthetic cannabinoids, the structural information on metabolites is lacking, which makes it difficult to investigate the incidents and accidents. In this study, we determined the structure of the CUMYL-THPINACA metabolite, synthesized the metabolite, and evaluated the pharmacology of the metabolite.

研究分野：分析化学

キーワード：合成カンナビノイド 危険ドラッグ 乱用薬物 代謝物分析 構造解析 代謝物合成 有機合成 薬理評価

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

合成カンナビノイド系の乱用薬物はカンナビノイド1 (CB1)受容体に結合すると、大麻様の精神作用が発現する。作用が強力だと使用者による自動車事故や死亡事故の引き金となる。乱用薬物に起因すると推定される事故・事件が発生した場合、尿・血液試料から証拠として薬物を検出することが求められる。しかし、体内で速やかに代謝を受け分解される場合、検出が困難であるため、代わりに代謝物の検出が必要となる。しかし、新規乱用薬物は代謝に関する情報が乏しく、乱用薬物による事件・事故の捜査に必要な使用証明・原因究明が困難である。

2. 研究の目的

本研究では、代謝を受けやすく致死的な活性を示す新規乱用薬物、CUMYL-THPINACA を対象とし、事件・事故の明確な因果関係証明法の構築のため指標となりうる代謝物の構造決定することを目的とした。さらに当該代謝物を用いて代謝物の薬理評価を行った。

3. 研究の方法

3 - 1. 代謝経路の作成と代謝物量の遷移解析

CUMYL-THPINACA をヒト肝ミクロソームで代謝させ、経時的に採取することで代謝反応液を得た。代謝反応液は液体クロマトグラフ-飛行時間型質量分析計(LC-QTOF/MS)を用いてMS分析およびMS/MS分析を既報¹⁾を一部改変した測定条件で行った。

3 - 2. 指標となりうる代謝物の合成

指標となりうる代謝物として、クミル基に1つ水酸基が導入されたCUMYL-THPINACA代謝物を選定した。その代謝物はクミル基のオルト、メタ、パラ位のいずれかに水酸基を持つため、すべての位置異性体標準品(オルト体、メタ体、パラ体)を有機合成と生合成、2つの手法で達成できるか検討した。

3 - 3. 指標となりうる代謝物の構造決定

位置異性体標準品と、CUMYL-THPINACA をヒト肝ミクロソーム(HLM)で代謝させた反応液とをLC-QTOF/MSで分析した(図1)。

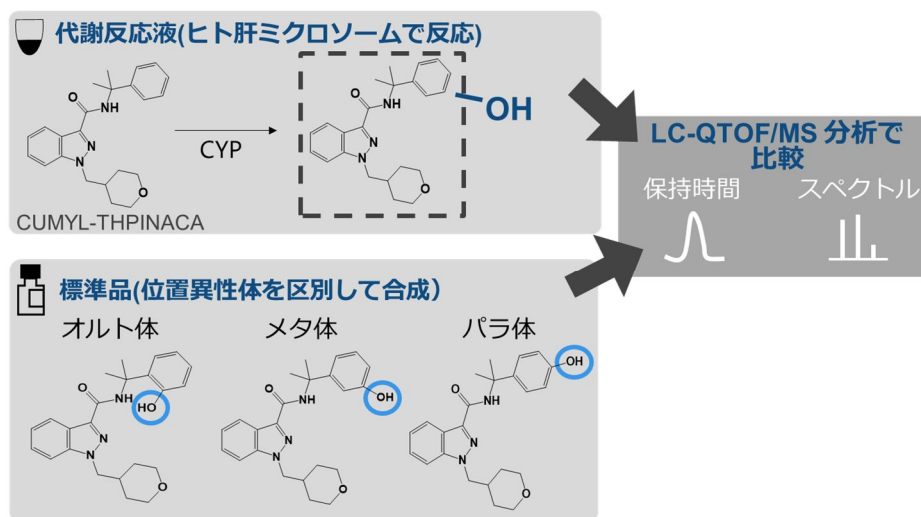


図 1. 実験方法の概要

3 - 4. 指標となりうる代謝物の薬理評価

3 - 3より構造決定した代謝物と親化合物のCUMYL-THPINACAを精神活性に関わるCB1受容体に対して*in vitro*受容体機能評価試験を行った。

4. 研究成果

4 - 1. 代謝経路の作成と代謝物量の遷移解析

LC-QTOF/MS分析により得られた精密質量から代謝物の組成式を求めた。さらにMS/MS分析によって得られた部分構造の精密質量から代謝を受ける部分構造を推定し既報²⁾と遜色ない代謝経路を作成した。経時的に代謝反応液をサンプリングすることで、各代謝物の生成量について時間変化を追った。代謝物の時間変化について、時間が経つと著しく減少するパターン、ゆるやかに減少するパターン、定常状態に達するパターンを特徴付けできた。具体的には、親化合物のCUMYL-THPINACAは半減期4.9minと迅速に代謝され、60min後には検出されなかった。代謝

物について、比較的合成の実現可能性が高いと踏んだ 1 水酸化体代謝物 2 種 (M1,M2)の時間遷移を注目すると、代謝物 M1 は M2 より長く検出されることがわかった(図 2)。 *in vitro* の結果ではあるが M1 は薬物摂取後体内に長く残存することが示唆されたため、使用の指標として適当な代謝物と考えた。

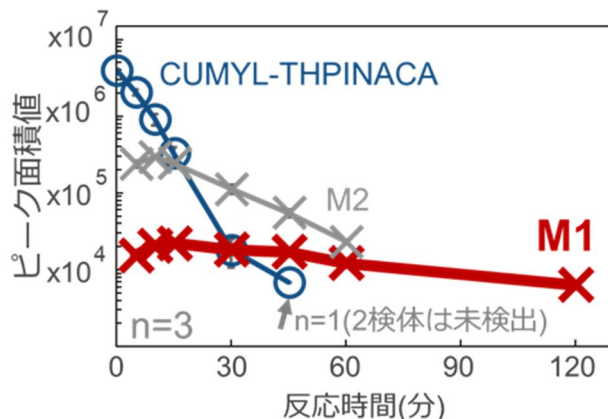


図 2.化合物の時間遷移

4 - 2. 指標となりうる代謝物の合成構造決定

代謝物 M1 は MS/MS 分析により、クミル基に水酸基が入ることが 4 - 1 の結果により分かっている。構造決定のために、合成により位置異性体標準品を作製することにした。合成の手法は、大きく有機合成と生合成とに分けられる。有機合成の手法としてそれぞれの位置異性体特有のクミル基を含む合成試薬を用いて同じ合成法により分析に必要な量を作製できた。なお生合成も検討したが必要量を得ることができなかった。

4 - 3. 指標となりうる代謝物の構造決定

1 水酸化体代謝物の m/z である 394.2125 で抽出したイオンクロマトグラムには標準品と保持時間が同等な化合物が 3 種類検出された。保持時間が最も早い代謝物 M1 パラ標準品と MS/MS スペクトルが一致した(図 3, 4)。次に溶出した M2 及び M3 はどの標準品とも MS/MS スペクトルが一致しなく、クミル基とは別の部位に代謝を受けた構造と推定された。上記よりクミル基が水酸化された代謝物の構造はパラ位に水酸基をもつことが明らかとなった。合成した標準品(パラ標準品)は、CUMYL-THPINACA の摂取証明への利用が期待できる。代謝物合成および構造決定に関する今回の知見は、クミル基を有する他の合成カンナビノイドの代謝物の合成および構造決定に応用が可能である。

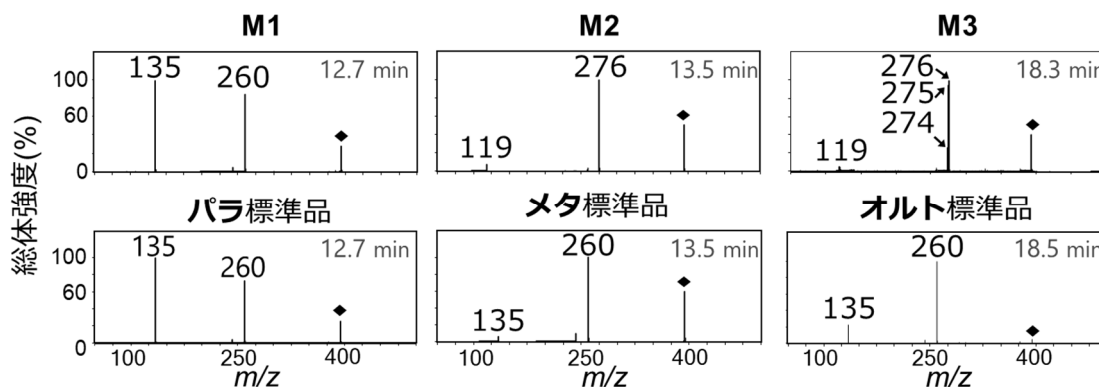


図 3.代謝物と位置異性体標準品の MS/MS スペクトル

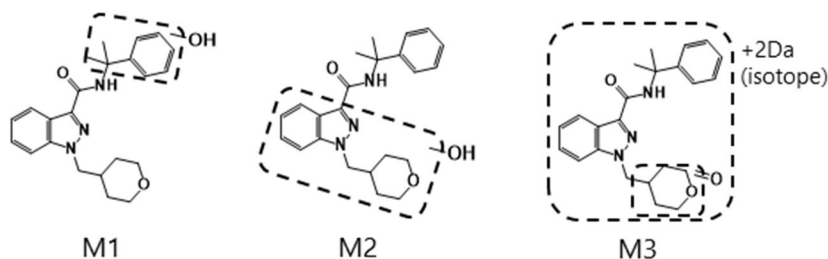


図 4.MS/MS スペクトルにより推定された推定代謝物

4 - 4. 指標となりうる代謝物の薬理評価

受容体機能評価試験を実施したところ、CUMYL-THPINACA だけではなく、評価した代謝物についても薬理活性が確認された。4 - 1の結果（M1 が体内に長く残存する可能性）と合わせて考察すると、代謝物を含めた CUMYL-THPINACA の薬効は長く保持されるかもしれない。本知見は、代謝物の構造や薬理活性の情報がより明確な事件・事故の因果関係証明の一端を担う可能性があることを示唆した。

<引用文献>

1. Asada A, Doi T, Tagami T, *et al.* Forensic Toxicol. 2018;36(1):170-177.
2. Monti MC, Scheurer E, Mercer-Chalmers-Bender K. Metabolites. 2021;11(8):470.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 東雄貴, 土井崇広, 浅田安紀子, 田中未紗, 田上貴臣
2. 発表標題 合成カンナビノイドCUMYL-THPINACAの代謝物における位置異性体を区別した構造決定
3. 学会等名 第59回 全国衛生化学技術協議会
4. 発表年 2022年～2023年

1. 発表者名 東雄貴, 田中未紗, 浅田安紀子, 阪井貴之, 田上貴臣, 土井崇広
2. 発表標題 合成カンナビノイドCUMYL-THPINACAの代謝物における位置異性体を区別した構造決定および薬理活性評価
3. 学会等名 日本薬学会第143年会
4. 発表年 2022年～2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------