

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 16 日現在

機関番号：32676
研究種目：基盤研究(C) (一般)
研究期間：2014～2016
課題番号：26460049
研究課題名(和文) 脱法ハーブ問題で包括指定された合成カンナビノイド類を迅速に判定する分析法の開発

研究課題名(英文) Development of an analytical method for quickly determining synthetic cannabinoids comprehensively designated against the problem of illegal herbal drugs

研究代表者
齊藤 貢一 (Saito, Koichi)
星薬科大学・薬学部・教授

研究者番号：40386347
交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：いわゆる“脱法ハーブ”の乱用問題に対応するため、LC/TOF-MSおよびヘッドスペース固相マイクロ抽出(HS-SPME)-GC/MSを用いた、脱法ハーブ中に含有される合成カンナビノイド類の一斉分析法を開発した。更に、使用罪の適用も視野に入れて、血液(血清および全血)中合成カンナビノイド類の分析法の構築を検討した。その結果、開発したLC/TOF-MSおよびHS-SPME-GC/MS分析法により、簡便・迅速に血液中合成カンナビノイド類のスクリーニング分析が可能となった。本研究成果は、今後の法科学分野での活用が期待される。

研究成果の概要(英文)：In order to cope with the abused drug problem of so-called "illegal herbal drugs", the analysis methods of synthetic cannabinoids contained in the illegal herbal drugs were developed by using an LC/TOF-MS and a headspace solid-phase microextraction (HS-SPME)-GC/MS. Furthermore, considering crime of use, we examined the construction of analysis methods for synthetic cannabinoids in blood (serum and whole blood). As a result, the LC/TOF-MS and HS-SPME-GC/MS methods developed allowed the simple and rapid screening analysis of the synthetic cannabinoids in blood. These results indicate that this research is expected to be applicable for the fields of forensic science in the near future.

研究分野：analytical chemistry

キーワード：analytical chemistry forensic science illegal drugs

1. 研究開始当初の背景

国内・国外を問わず、薬物乱用は社会的に大きな問題となっている。わが国においては、現在、薬物乱用者は減少の兆候をみせているが、その一方で、薬物乱用の低年齢化が進み、大学生から中高生による大麻や脱法ドラッグの乱用がたびたび報道されている。特に近年では、いわゆる“脱法ハーブの乱用”が問題視されている。脱法ハーブとは、刻んだ乾燥植物に合成カンナビノイド類(代表例: JWH-018)が添加されたもので、「お香やアロマ」として販売されているが、実態はタバコ状にして揮発した合成カンナビノイドの吸引を目的としている。脱法ハーブは、インターネット等でも販売されており、他の違法ドラッグと比較しても入手しやすい。合成カンナビノイド類は、大麻成分(テトラヒドロカンナビノール)に類似する作用(多幸感、幻覚、記憶障害等)を持つ薬物であるため、脱法ハーブ乱用者による交通事故や犯罪等が多発している。実際、吸引者の救急搬送や、合成カンナビノイド類の吸引が主因とみられる死亡例も増えており、現在、脱法ハーブの乱用が大きな社会問題となっている。これに対して厚生労働省は、2007年に薬事法で対象とする「指定薬物制度」をスタートさせ、2012年7月末時点で73種の化学物質が指定された。しかし、主成分の化学構造式を一部だけ変えた、いわゆる「デザイナードラッグ」が後を絶たず、規制当局とのいたちごっこが続いている。そこで厚生労働省は2013年に「合成カンナビノイド類」に対して、指定薬物として類似成分を含む物質を一括して規制する包括指定制度を導入し、基本骨格として(1H-インドール-3-イル)(ナフタレン-1-イル)メタノンを含む物質が指定薬物として、その所持と使用が規制されるようになった。その結果、厚生労働省令が公布された2013年3月22日には、772物質が包括指定された。しかし、指定薬物の所持と使用を規制するためには、それらの物質を検査するための分析法が必須であるが、分析法の構築が追いついていないのが現状である。国外での動向として、2009年にイギリスでも包括指定制度を導入し、6グループの物質を包括指定し、数百種を規制している。しかし、わが国と同様に分析法の構築が追いつかず、新たに出現する別の構造をもつ薬物への対応が後手に回っている。

従って、脱法ハーブの問題を根絶するためには、行政当局による規制だけでは不十分であり、捜査現場で迅速な検査・同定を可能とする分析法の構築が国内・国外を問わず求められている。

2. 研究の目的

近年、大きな社会問題となっている、いわゆる脱法ハーブ問題に対応するため、2013

年3月に「合成カンナビノイド類」として772種類が包括指定され、これらの所持と使用が規制されることとなった。しかし、これら772種類の物質の分析法は未だ確立されておらず、今後新たに出現する未知物質への対応も不十分である。

そこで本研究では、液体クロマトグラフィー(LC)およびガスクロマトグラフィー(GC)を用いて、これらの分析法を確立すると共に、計算化学の手法を駆使して、LCおよびGCにおける保持時間と合成カンナビノイドの物性に関するデータベースを整備して、新たに出現する未知物質の同定を可能とする手法を確立し、以って脱法ハーブ問題の根絶を目指すことを目的とする。

3. 研究の方法

本研究においては、LC(LC/TOF-MS)とGC(GC/MS)を用いて、未知の合成カンナビノイド分析に対処する方法を以下のように検討した。

(1) 既存の入手可能な合成カンナビノイド標準品を用いてLCおよびGCの分析法を構築し、それらのクロマトグラムやスペクトルのデータを取得した。次に、計算化学的手法を用いて既存の合成カンナビノイドの化学構造式からLog Pow等の物性を算出した。実測データと計算によって得られた物性値をデータベース化し、標準品の無い合成カンナビノイドに対してクロマトグラムやスペクトルデータから化学構造式を予測する方法を確立した。

また、生体試料分析として血液(血清、全血)をアセトニトリルで除タンパク抽出した後、前回の科研費研究基盤(C)「大麻および痩身薬などゲートウェイドラッグの乱用を迅速に判定する方法の開発」において開発した固相分散抽出法(SPDE)を用いてクリーンアップし、続いてLC/TOF-MSで測定した。(2) GC/MS分析では、48種類の合成カンナビノイドを測定対象物質とし、ピークの保持時間が完全に分離するように6グループに分けた。ハーブを試料とした分析では、ハーブを密閉容器中で加熱して合成カンナビノイドを気化させ、ヘッドスペース固相マイクロ抽出法(HS-SPME)で捕集した後、GC/MSで分析した。更に、生体試料分析として血液(血清、全血)を測定対象とし、血中分析に際して妨害となるコレステロールをコレステロールオキシダーゼで酵素処理した後、除タンパクし、HS-SPME-GC/MSで測定した。

4. 研究成果

2014年4月の薬事法改正により、違法薬物使用者は使用罪の適応を受けることになったが、使用罪を立証するためには、血液や尿などの生体試料から違法薬物を検出することが肝要となる。そのため、違法薬物の鑑定では、所持と使用の両面を考慮した分析を行う必要がある。

また、法科学分野における違法薬物分析では、原理の異なる複数の技法を用いて分析することが推奨されている。そこで研究目的の一つとして、申請者は、ヘッドスペース固相マイクロ抽出 (HS-SPME)-GC/MS および LC/TOF-MS を用いた分析法を検討した。

HS-SPME-GC/MS を用いた分析では、測定対象の合成カンナビノイド類には、JWH系 27種、AM系 10種、HU系 2種、RCS系 2種およびその他 7種の計 48種を選定した。HS-SPME-GC/MS では、試料(乾燥植物片 20 mg)を HS バイアル瓶に採り、そのまま分析に供した。測定条件の最適化を検討した結果、SPME ファイバーには Polyacrylate を用いることで、GC/MS 測定(SCAN モード)により、48種全ての物質において分析が可能となった。実サンプルの分析では夾雑物による影響をほとんど受けることがなく、その保持時間と MS スペクトルから含有される物質の推定が可能であった。また、実際に薬物乱用者が使用したと思われるハーブの残渣を分析したところ、合成カンナビノイドの一種 AB-CHMINACA が含有されていることが判明した。

他方、LC/TOF-MS による一斉分析法の構築では、市販脱法ハーブ分析に適用すると共に、未知の合成カンナビノイド類の保持時間を推測するため、オクタノール/水分配係数 ($\log P_{ow}$) 値と保持時間との相関性を考察し、線形予測解析の可能性について検討した。測定対象の合成カンナビノイド類には、JWH系 27種、AM系 11種、HU系 2種、RCS系 2種およびその他 10種の計 52種を選定した。試料抽出では、ハーブをメタノール抽出し、得られた試験溶液を LC/TOF-MS 分析に供した。

その結果、マスクロマトグラムにおいて妨害ピークはほとんど検出されず、検出限界 ($S/N=3$) は 0.01-2.5 ng/mL、定量限界 ($S/N > 10$) は 0.05-10 ng/mL と高感度であった。添加回収試験 (10 ng/mL) の結果は、平均回収率 90%以上、RSD は 10%未満と良好であった。本法を用いて市販脱法ハーブを分析したところ、全試料 (44 品) からいずれかの合成カンナビノイド類が検出された。更に、実際に薬物乱用者が使用したと思われるハーブの残渣を分析したところ、合成カンナビノイド類の一種 AB-CHMINACA が含有されていることが判明した。これら GC/MS および LC/TOF-MS を用いることで、脱法ハーブ中に含有される合成カンナビノイド類の一斉分析法をそれぞれ確立することができた。

また、未知の合成カンナビノイド類の保持時間を推測するため、オクタノール/水分配係数 ($\log P_{ow}$) 値と保持時間との相関性を考察し、線形予測解析が可能であることを検証した。その際、 $\log P_{ow}$ は、対象物質の CAS RN または SMILES から化学計算により算出した。その結果、 $\log P_{ow}$ 値と保持時間との間には、高い線形相関があることが示され、TOF-MS による精密質量測定と併用することで、未知の

合成カンナビノイド類の同定に際しても有用性があることが示唆された。

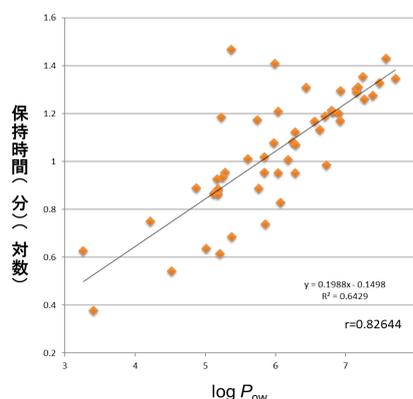


Fig. 1 保持時間と $\log P_{ow}$ との関係

実際に、市販脱法ハーブ「侍: Samurai」という製品を測定したところ、保持時間 6.95 分に未知ピークが確認されたことから、この線形回帰分析を適用した。得られた未知ピークの精密質量 (m/z 383.1895) から AM-1220 ($\log P_{ow}$: 5.3)、AM-1220 azepane isomer ($\log P_{ow}$: 4.98) または ADB-FUBINACA ($\log P_{ow}$: 2.96) の 3 つのいずれかであることが疑われた。しかし、精密質量の値だけでは絞りこむことが困難であったため線形回帰分析を適用した。すなわち、未知ピークの保持時間 6.95 分を常用対数に変換し、得られた対数值 0.84261 を線形回帰分析に当てはめたところ、 $\log P_{ow}$: 5.04 という結果が得られた。前述の 3 つの候補化合物の中で、この $\log P_{ow}$ に最も近いものは AM-1220 azepane isomer ($\log P_{ow}$: 4.98) ということが分かった。そこで、この結果を確かめるために標準品で保持時間を確認したところ、AM-1220 azepane isomer と未知物質の保持時間が一致した。このことから、今回検討した線形回帰分析の手法は、未知物質の同定の手段の一つとして有用であることが示唆された。本法の有用性が確認された。

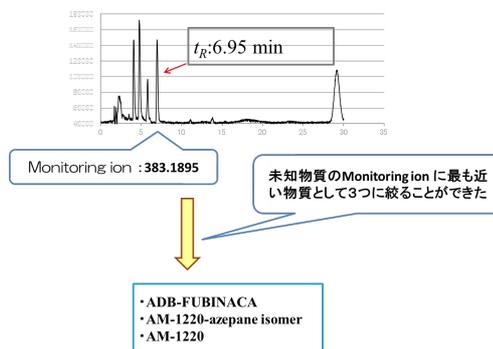


Fig. 2 $\log P_{ow}$ と保持時間の線形解析の適用

次に、違法薬物使用者の使用罪を立証するために、これらの構築した分析法を発展させ、血液(血清および全血)中合成カンナビノイ

ド類のスクリーニング法の構築を検討した。その結果、LC/TOF-MS 分析では、血液を固相分散抽出法によりクリーンアップすることで、100 μ L という微量の血液サンプルから 47 種の合成カンナビノイド類を迅速かつ高精度に分析できる方法を構築した。

他方、GC/MS 分析では、ほとんどの合成カンナビノイドは測定が可能であったが、JWH-015 は、血液中コレステロールと保持時間が被り、更に JWH-015 の分子イオンおよび主たるフラグメントイオンピークはコレステロールのフラグメントピークとも被ることから、JWH-015 の測定が困難となった。そこでコレステロールオキシダーゼにより別の物質に変換させるという手法を考案したことで、より簡便・迅速に血液中合成カンナビノイド類のスクリーニングが可能となった。なお、本法では標準品による検量線は直線性が得られず、添加回収試験においても、再現性が得られなかったため、各標準品にカットオフ値を設け、スクリーニング法とした。本法では危険ドラッグ使用者の血液の分析に際し、血清では 38 種、全血では 37 種の合成カンナビノイドを対象とした簡便・迅速で有用性の高いスクリーニング法として使用可能であり、本研究で構築した方法は、血清および全血中の合成カンナビノイド類のスクリーニング法として有用であることが示され、本研究事業タイトルで示された目的は達成されたと考える。今後、本法の法科学分野への活用が期待される

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 7 件)

Y. Yanagawa, K. Omori, I. Takeuchi, K. Jitsuiki, K. Ishikawa, H. Osaka, K. Saito; A Case in which a Patient Intoxicated by Synthetic Cannabinoids was Diagnosed by a Mass Spectrometry Analysis, Sch J Med Case Rep, 5(4):280-281 (2017)

阿久津守, 杉江謙一, 斉藤貢一; 光イオン化ガスクロマトグラフィー/質量分析法による危険ドラッグの分析およびデータベースの構築; 分析化学, in press, 2017

M. Akutsu, K. Sugie, K. Saito; Analysis of 62 synthetic cannabinoids by gas chromatography-mass spectrometry with photoionization; Forensic Toxicol. , 35(1), 94-103 (2017)

杉江謙一, 阿久津守, 斉藤貢一; マイクロシリンジ試料導入法を用いた Direct Analysis in Real Time (DART)-TOF-MS による -PVP 含有危険ドラッグ分析における定量法の検討; 分析化学, 65(8), 1-8 (2016)

阿久津守, 杉江謙一, 斉藤貢一; 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; 法科学技術, 21(1), 75-85 (2016)

K. Saito, Y. Kikuchi, R. Saito;

Solid-phase dispersive extraction method for analysis of benzodiazepine drugs in serum and urine samples; J. Pharm. Biomed. Anal., 100, 28-32 (2014)

Y. Sakamoto, Y. Jinno, I. Shinodzuka, Y. Iwasaki, R. Ito, K. Saito; Sample cleanup by solid-phase dispersive extraction for determination of vancomycin in serum, Anal. Sci., 30(2), 271-275 (2014)

〔学会発表〕(計 17 件)

第 60 回 日本薬学会関東支部大会、2016 年 9 月 17 日、(東京都) ヘッドスペース - 固相マイクロ抽出 - GC/MS を用いた血液中合成カンナビノイドの検出、金子聡美, 古屋柚香, 浅田優美, 伊藤里恵, 斉藤貢一

第 60 回 日本薬学会関東支部大会、2016 年 9 月 17 日、(東京都) LC/TOF-MS による血清・全血中合成カンナビノイドの一斉分析、村中優希, 藤澤美希, 小鍛冶好恵, 伊藤里恵, 斉藤貢一

第 60 回 日本薬学会関東支部大会、2016 年 9 月 17 日、(東京都) 固相分散抽出法および固相蛍光誘導体化法を用いた HPLC による医薬品、サプリメント中のエフェドリン、プソイドエフェドリン、ノルエフェドリンの分析、茂木実瞳, 川上彩夏, 伊藤里恵, 斉藤貢一

第 38 回日本中毒学会総会・学術集会; 2016 年 7 月 23 日 - 24 日 (新潟県) 危険ドラッグ(脱法ハーブ)使用者の診断に当たっての問題点、柳川洋一, 日域佳, 竹内郁人, 石川浩平, 大森一彦, 大阪裕通, 斉藤貢一

日本法中毒学会 35 年会; 2016 年 7 月 1 日 - 2 日 (大阪府) 生体試料中の薬毒物分析における前処理操作としての固相分散抽出法の有用性、斉藤貢一, 伊藤里恵

日本分析化学会 第 76 回分析化学討論会 (依頼講演); 2016 年 5 月 28 日 - 29 日 (岐阜県) 違法薬物の分析 (討論主題: 分析化学と犯罪捜査) 斉藤貢一

日本法科学技術学会第 21 回学術集会; 2015 年 11 月 12 日 - 13 日 (千葉県) ベンゾジアゼピン系薬物の人工胃液中における安定性および液性変化に伴う分解中間体の可逆的な回復挙動の検証、斉藤貢一, 齋藤沙知, 西山莉可, 伊藤里恵

日本法科学技術学会第 21 回学術集会; 2015 年 11 月 12 日 - 13 日 (千葉県) -PVP 含有危険ドラッグの DART-TOF MS による高精度な定量分析法の検討、杉江謙一, 阿久津守, 斉藤貢一

日本分析化学学会第 64 年会(依頼講演); 2015 年 9 月 9 日 - 11 日 (福岡県) 乱用薬物分析における試料前処理法、斉藤貢一

日本法中毒学会 34 年会; 2015 年 6 月 25 日 - 26 日 (福岡県) 固相分散抽出法および固相蛍光誘導体化法を用いた HPLC による血清中のエフェドリンとプソイドエフェドリン

ンの微量分析、斉藤貢一、川上彩香、伊藤里恵

日本法中毒学会 34 年会；2015 年 6 月 25 日 - 26 日（福岡県）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、阿久津守、杉江謙一、斉藤貢一

日本薬学会第 135 年会；2015 年 3 月 27 日（兵庫県）ヘッドスペース 固相マイクロ抽出 GC/MS を用いた脱法ハーブ中合成カンナビノイドの迅速分析、浅田優美、岩崎雄介、伊藤里恵、杉江謙一、阿久津守、柳川洋一、斉藤貢一

日本薬学会第 135 年会；2015 年 3 月 27 日（兵庫県）LC/TOF-MS による脱法ハーブ中合成カンナビノイドの一斉分析および保持時間の線形予測解、藤澤美希、小鍛治好恵、岩崎雄介、伊藤里恵、杉江謙一、阿久津守、柳川洋一、斉藤貢一

日本薬学会第 135 年会；2015 年 3 月 27 日（兵庫県）人工脂質膜を用いたオピオイド系鎮痛薬の生体膜透過性評価、沼田恵理、岩崎雄介、伊藤里恵、斉藤貢一

第 58 回 日本薬学会関東支部大会、2014 年 10 月 4 日（東京都）乾燥血液スポット法（DBS）を用いたオピオイド系薬物分析のための簡便な前処理法の構築、西山莉可、岩崎雄介、伊藤里恵、斉藤貢一

日本法中毒学会 33 年会；2014 年 7 月 4 日 - 5 日（名古屋）LC/TOF-MS による合成カンナビノイド類の一斉分析および保持時間の線形予測解析、斉藤貢一、小鍛治好恵、藤澤美希、岩崎雄介、伊藤里恵

日本法中毒学会 33 年会；2014 年 7 月 4 日 - 5 日（名古屋）固相分散抽出法によるヒト血液中合成カンナビノイドの分析法の検討、杉江謙一、阿久津守、斉藤貢一

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

出願状況（計 0 件）

取得状況（計 0 件）

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.hoshi.ac.jp/home/kyoiku/kyoushitsu/gaid/2kyoushitsu.bunseki.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

斉藤 貢一（SAITO, Koichi）

星薬科大学・薬学部・教授

研究者番号：4 0 3 8 6 3 4 7

(2) 研究分担者

なし（ ）

研究者番号：

(3) 連携研究者
なし（ ）

研究者番号：

(4) 研究協力者
（ ）