

令和 6 年 6 月 3 日現在

機関番号：34401

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2022～2023

課題番号：22K21157

研究課題名（和文）精密質量データベースによる新規薬物のスクリーニング法の構築

研究課題名（英文）Development of analytical method for new designer drugs by using accurate mass data base

研究代表者

片木 宗弘（Katagi, Munehiro）

大阪医科薬科大学・医学部・准教授

研究者番号：40965620

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）：近年その乱用が欧米を中心に社会問題の一つとなっている、「デザイナードラッグ」の中でも特に摂取量が極微量で、その薬理作用を発現するベンゾイミダゾール系鎮痛薬（ニタゼン類、NZ）及びベンゾジアゼピン誘導体（デザイナーベンゾジアゼピン、DBZ）について、化学構造式に基づく精密質量データベースを作成した。本データベースを、薬物中毒死が疑われるご遺体から採取した試料の分析に適用することで、中毒原因薬物を同定することが可能となり、網羅的スクリーニングによるこれら薬物の見逃し回避が期待できる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年その乱用が欧米を中心に社会問題の一つとなっている、ベンゾイミダゾール系鎮痛薬（ニタゼン類、NZ）及びベンゾジアゼピン誘導体（デザイナーベンゾジアゼピン、DBZ）は極微量でその薬理作用を発現することから、その摂取証明には超微量分析が不可欠である。本研究により作成した、これら薬物の精密質量データベースを、薬物中毒死が疑われる法医解剖試料に適用することで網羅的スクリーニングが容易となり、死因究明におけるこれら薬物の見逃し回避が期待できる。

研究成果の概要（英文）：We have created an exact mass database based on the chemical structures of benzoimidazole analgesics (nitazenes, NZ) and benzodiazepine derivatives (designer benzodiazepines, DBZ), which are among the "designer drugs" that are ingested in very small quantities and exhibit their pharmacological effects. By applying this database to the analysis of postmortem samples collected from the bodies of those suspected to have died of drug poisoning, it will be possible to identify the drugs causing poisoning and avoid missing these drugs through exhaustive screening.

研究分野：薬毒物分析

キーワード：精密質量データベース ニタゼン類 デザイナーベンゾジアゼピン類 LC/MS TOF-MS

## 1. 研究開始当初の背景

薬毒物が関係する事件・事故は後を絶たず、尿や血液などの生体試料からの薬毒物分析は、法医学教室において死因究明を行う上で最も重要な過程の一つである。しかし、近年使用される薬物が多様化し、次々と新規薬物が登場することから、それらの機器分析データは皆無に近いものがある。そのため、新規薬物の使用が疑われる事件・事故では、原因となる化合物を迅速かつ正確に特定することが非常に困難な状況となっている。特に、近年欧米を中心に乱用が危惧されているベンゾイミダゾール系鎮痛薬（ニタゼン類、NZ）及びベンゾジアゼピン誘導体（デザイナーベンゾジアゼピン、DBZ）は、摂取量が極微量で、その薬理作用を発現することから、生体試料中の検出が困難であることが予想される。

一般的に、血液を初めとする生体試料からの薬物の検出には、その特異性と化合物の同定能力の高さから、ガスクロマトグラフィー質量分析（GC/MS）あるいは LC/MS が、汎用されている。中でも LC/MS は、GC/MS では煩雑な誘導体化が不可欠な高極性化合物に対して、誘導体化すること無く、高感度に分析することが可能であることから、一般的に極性が高い代謝物も併せた検出が望ましい薬物分析では最も有効な分析手法と考えられる。しかしながら、LC/MS では分析パラメータの違いにより、得られるスペクトルが大きく異なることから、測定条件や測定機種に依存しない万能なスペクトルデータベースは存在しない。従って薬物分析の際、測定者自らが薬物標準品を使用して測定し作成したオリジナルのスペクトルデータベースを基に検出を試みるか、あるいはあらかじめ作成された既存のスペクトルデータベースを基に決められた測定条件に従い検出を試みるかのいずれかの手法に依らざるを得ない。

一方、標準品が入手困難な薬物や新規の薬物では、測定ターゲットとすべき薬物の名称や分子式に関する情報は得られるものの、質量スペクトルに関するデータが皆無であることから、薬物の同定に不可欠なスペクトルデータを事前に準備することが不可能である。

このようなスペクトルデータがない薬物について同定できる唯一の方法は、試料の測定で得られた膨大なスペクトルデータの中から、対象とすべき薬物のスペクトルを抽出し、そのスペクトルを基に構造解析を行う特徴的な方法である。しかしながら、想定される薬物濃度はごく低濃度であるため、分析者自身の目で対象とすべきスペクトルを抽出することは見逃しなどのリスクが非常に高いこと、さらに運よく抽出できたとしてもスペクトルからの構造解析には膨大な時間と熟練した技術が不可欠であり、薬物分析を専門とする我々には、現実的には不可能に近い。

## 2. 研究の目的

本研究のターゲット化合物である NZ 及び DBZ に関しては、世界で数種類の薬物の使用が既に報告されており、その測定データも公表されている。しかしその数は、想定される測定対象薬物のごく一部にすぎず、その測定データも出現する可能性のある新規薬物には適用できない。一方、測定された薬物の名称及び分子式は判明していること、さらにそこから派生して出現する可能性のある薬物の分子式を想定することは可能である。そこで、本研究では、それらの想定される薬物の分子式を求め、そこから計算される計算精密質量についてのデータベースを作成することを目的とする。

さらに、作成したデータベースに基づき、現在薬物分析において最も汎用されている液体クロマトグラフィー質量分析（LC/MS）で得られた測定データを解析する。通常 LC/MS による化合物の検出には、MS スペクトル測定後に既存の MS スペクトルデータあるいは、同条件で測定した標準品と比較することが必要であるが、本研究により構築をめざすデータベースを用いることで、NZ 及び DBZ について、標準品を必要としない、網羅的なスクリーニング法が可能となる。また、本研究独自の手法は、本研究でターゲットとした NZ あるいは DBZ にとどまらず、今後世界中で登場する可能性のある新規薬物に対しても発展的に応用可能であると考えられる。このことは、法医中毒分野における、尿あるいは血液等生体試料中薬毒物分析の高度化に繋がるとともに、薬毒物が関係する事案における使用薬物の見逃しの回避に大きく貢献出来る。

### 3. 研究の方法

#### (1) 化合物名と化学構造及び分子式の調査

文献検索や薬物関連学会参加により、これまで世界で流通が報告されている NZ 及び DBZ について、その化合物名と化学構造及び分子式を調査するとともに、構造の一部を変化させることで今後出現する可能性のある化合物を推定し、その分子式を設定する(対象となる NZ は約 40 種、DBZ は 1 万数千種)。

調査した化合物及び推定した化合物について、分子式から精密質量を計算し、精密質量のデータベースを作成する。データベースは、表計算ソフト Excel を使用し、化合物名、分子式、精密質量の 3 項目から構成される。

#### (2) 化合物の主代謝物の推定及び精密質量の推定

これまで報告のある NZ 及び既存の BZ の代謝経路を参考に、上記で対象とした化合物の主代謝物を推定し、同様に想定される分子式から精密質量を計算し、前記データベースに追加する。

#### (3) 生体試料への添加によるデータベースの検証試験

海外からの購入が可能な場合は、NZ あるいは DBZ (既存の薬物としての BZ を含む) について、購入した標準品を血液及び尿に添加し、TOF-MS を用い分析したデータに、作成したデータベースを適用することで、作成したデータベースが実際に利用可能かどうかの検証を実施する。検証実験で検出されるべき薬物が検出できない場合、TOF-MS の測定パラメータ変更及び試料の前処理法の改良によるクリーンアップを図る。

### 4. 研究成果

本研究では、特に摂取量が極微量でその薬理作用を発現することから、生体試料中の検出が困難であることが予想される、NZ 及び DBZ に着目した。さらにこれらの薬物に加え、これら薬物を摂取した際に尿あるいは血液から検出される可能性のあるヒドロキシ体、アミノ体を中心とした主代謝物を文献検索により推定し、その示性式に基づく精密質量データベースを作成した。さらに、液体クロマトグラフ飛行時間型高分解能質量分析装置(LC/Q-TOF)を用いて分析し、取得した精密質量データに関して、作成したデータベースを適用することで、NZ 及び DBZ の網羅的スクリーニングが可能か否かについて検証を行った。

データベースは、表計算ソフト Excel を使用し、化合物名、示性式及びそれから計算された精密質量の 3 項目から構成される。設定化合物は、文献検索によりこれまで世界で流通が報告されている NZ 及び DBZ について、その化合物名と化学構造及び分子式を調査するとともに、構造の一部を変化させることで今後出現する可能性のある化合物を推定した。さらにそれらの可能性のある化合物について代謝物も含めた示性式を設定した。その結果、NZ は 504 種、DBZ は 14693 種(いずれも異性体を含む)の化合物について、化合物名、示性式及びそれから計算された精密質量の 3 項目からなる精密質量データベースを構築することができた。

作成したデータベースの有効性を検証するため、ブランク尿及び血液の有機溶媒抽出物にメニタゼン及びその主代謝物、数種類の DBZ を添加して LC/Q-TOF により分析し、作成したデータベースを適用したところ、いずれの添加薬物も検出することができた。

さらに、本データベースをメニタゼン中毒死が疑われるご遺体から採取した尿及び血液の分析に適用することで、最終的にはメニタゼン及びその代謝物を同定することに成功しており<sup>1,2)</sup>、これら薬物の網羅的スクリーニングの有効性が確認できた。

本法を法医学分野における死因究明のための薬物分析に応用することで、見逃しのない画期的な手法となり、社会医学に大いに貢献することが期待できる。さらに、本研究で検討したデータベースは、基本的には化合物の示性式に基づく計算精密質量を Excel に入力するのみであることから、様々な薬物に適用することが可能であり、今後法医中毒学の分野で、標準品を必要としないスクリーニング法のデータベースとして大いに活用が期待できる。

#### 【引用文献】

1. Morioka F, Fujii S, Kamata H, Shima N, Tsuboi K, Katagi M, Sato T. Postmortem examination and toxicological analysis for acute metonitazene intoxication in Japan:

A case report. *Leg Med.* 10.1016/j.legalmed.2023.102216.

2. 森田恵利加、藤井史保子、鎌田寛恵、新田篤志、志摩典明、鎌田徹、森岡郁哉、片木宗弘、佐藤貴子、西岡裕. 新規麻薬メトニタゼンの生体試料からの分析. 日本法科学技術学会第 29 回学術集会講演要旨集, 2023, p. 42.

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1 . 著者名 Morioka Fumiya、Fujii Shihoko、Kamata Hiroe、Shima Noriaki、Tsuboi Kento、Katagi Munehiro、Sato Takako	4 . 巻 61
2 . 論文標題 Postmortem examination and toxicological analysis for acute metonitazene intoxication in Japan: A case report	5 . 発行年 2023年
3 . 雑誌名 Legal Medicine	6 . 最初と最後の頁 102216 ~ 102216
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.legalmed.2023.102216	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

1 . 発表者名 森田恵利加、藤井史保子、鎌田寛恵、新田篤志、志摩典明、鎌田徹、森岡郁哉、片木宗弘、佐藤貴子、西岡裕
2 . 発表標題 新規麻薬メトニタゼンの生体試料からの分析
3 . 学会等名 日本法科学技術学会第29回学術集会
4 . 発表年 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
---------	---------