

令和 3 年 6 月 27 日現在

機関番号：32676

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K06609

研究課題名(和文) 生体試料分析とインシリコ解析を用いた薬物乱用を立証するための分析法の構築

研究課題名(英文) Development of analytical methods for demonstrating drug abuse using biological sample analysis and in silico analysis

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：40386347

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：薬物乱用問題に対応するため、LC/TOF-MSを用いて薬物とその代謝物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、尿中および血漿中における薬物動態に関して、インシリコ解析で薬物動態を調査する手法を検討した。その結果、尿および血漿中のメチルフェニデート(MPD)とその代謝物であるリタリン酸(RA)におけるRA/MPDの値を継時的にプロットすることで、回帰線から服用時間の推測が可能であることが示された。これらの結果から、本解析手法を用いることで、MPD乱用者が服用したタイミングや服用量を逆算できる可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

薬物乱用者の、使用罪を立証するためには、服用した時期を明確にすることも重要であり、そのためには薬物動態調査が必要となる。しかし、従来の薬物鑑定に際しては、被疑者を検挙した時点での生体試料中の薬物濃度を測定しても、それだけで薬物の使用量と経過時間を推定することは難しい。本研究では、薬物とその代謝物の尿中および血漿中における継時的な動態を測定し、それらの変化を時間軸で解析することで薬物使用時期を推定できる可能性があるデータを示すことができた。本研究で提唱する、いわゆるインシリコ解析手法は、法科学分野での犯罪立証に貢献することが予想される。

研究成果の概要(英文)：To address the substance abuse problem, we have developed a simultaneous analysis method for drugs and their metabolites using LC/TOF-MS. Furthermore, with a view to applying the crime of use, we examined a method for investigating the pharmacokinetics in urine and plasma by in silico analysis. As a result, it was found that the dosing time can be estimated from the regression line by plotting the ritalinic acid (RA)/methylphenidate (MPD) values in urine and plasma over time. From these results, it was suggested that the timing and dose of MPD abusers could be calculated by using this analysis method.

研究分野：法科学

キーワード：インシリコ解析 薬物動態分析 薬物乱用 法科学

## 1. 研究開始当初の背景

国内・国外を問わず、大麻や危険ドラッグ、シンナー、アルコール(酒)などの薬物の乱用による傷害事件、交通事故および中毒事故等が頻発している。これに対して厚生労働省は、危険ドラッグなど指定薬物の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た。更に、これらの薬物については“所持罪”および“使用罪”が適用されることとなり、危険ドラッグの販売店舗等は減少した。しかしながら、依然インターネットなどを介して入手は可能であり、また最近では従来の覚せい剤や麻薬、有機溶剤系薬物の乱用などへの復古傾向が認められる。

犯罪や中毒事例に絡んだ薬物の鑑定に関しては多くの分析法が報告されており、申請者も科学研究費(基盤C)助成を受けて、GC/MSやLC/TOFMSを用いる鑑定現場で役立つ実践的な分析法を構築してきた。しかし、“薬物使用”を立証するには次のような問題点が問われている。

生体試料中の薬物濃度は微量であるためカットオフ値を下回ることがあること、生体内では薬物が代謝されたり、胃酸など消化液による分解反応を受けたりして、親化合物の検出が困難な場合があること、乱用者が薬物を使用(服用)した時期と、検挙後に血液や尿など生体試料を採取した時期にタイムラグがあるため、使用した時期を推定するのが困難であることなど、“薬物使用”を立証する上での問題点がある。つまり、これらの問題点を解決するための分析化学法の開発が問われている。

## 2. 研究の目的

本研究では、これまでに築き上げてきた薬物分析法を更に発展させて、生体試料中の微量薬物分析に適用すると共に、薬物の使用(服用)時期や量を推定するため、薬物とその代謝物や、胃・腸など消化管内における分解物に焦点を当てて薬物動態を調査する。すなわち、薬物使用を立証するために、分解物・代謝物などより有効なターゲット薬物の探索を行う。更に、“薬物使用”から時間が経過しても、使用した時期や量を推定するための基礎データを蓄積する。これにより、先に掲げた問題点に対する解決策に踏み込むことができ、ひいては薬物の乱用実態を明らかにすると共に、薬物使用に起因する犯罪での立証・検挙が進むことで薬物乱用の抑制が期待される。

## 3. 研究の方法

生体試料の前処理過程において、できるだけ多くの薬物を測定できるように、科研費研究で構築した試料前処理法“固相分散抽出法”をベースにして、様々な生体試料に適用して網羅的な解析ができる、乱用薬物を迅速に判定する分析法を構築する。その際、測定対象成分を絞らない“ノンターゲット分析法”を確立することで、デザイナードラッグ出現など“イタチごっこ状態”の問題点にも対応可能とする。

また、経口投与された薬物(ベンゾジアゼピン系薬物等の向精神薬)の中には胃酸など消化液と接触することで元の薬物が分解されるものがあることを本研究の予備実験において見出した。そこで、薬物乱用の可能性が高い危険ドラッグや麻薬・鎮痛系薬物、睡眠薬、向精神薬などを対象として、胃液や腸液と接触して放置された際の薬物の化学的分解挙動、また肝臓での代謝を想定した酵素反応を *in vitro* で行って調査し、生体試料分析における有効なターゲット物質を探索する。同時に、分解物や代謝物の薬物動態については動物実験を行うことなく、インシリコで解析を行う。

薬物の分解物や代謝物の体内動態については、ターゲット化合物の一つとして、メタンフェタミンとその類似物質メチルフェニデート(MPD)を取り上げ、LC/TOFMSによる同時分析法を構築する。更に、実際にMPD服用者の尿を継時的に分析し、尿中および血漿中における薬物動態に関して、インシリコ解析で薬物動態を調査する手法を検討する。

## 4. 研究成果

乱用薬物を迅速に且つ網羅的に判定する分析法としてLC/TOFMSを用いた痩身用薬物の一斉分析法(Chromatography, 40(1), 2019, 19-24)や、HS-SPME-GC/MSを用いた危険ドラッグの一斉分析法(Forensic Chemistry, 2019, DOI: 10.1016/j.forc.2019.100156)を構築した。また、化学計算によって算出するLogP<sub>ow</sub>とLC保持時間に基づく未知の薬物の定性分析法についても危険ドラッグを対象とした方法論を構築済みであり、学術雑誌(Forensic Chemistry, 17, in press, ZZ-ZZ (2020), <https://doi.org/10.1016/j.forc.2019.100202>)にて報告した。

また、薬物とその代謝物や、胃・腸など消化管内における分解物に焦点を当てた薬物動態調査に関しては、ベンゾジアゼピン系向精神薬(Chem. Pharm. Bull., 69(3), 258-264 (2021))、三環形抗うつ薬(Chem. Pharm. Bull., 68, 848-854 (2020), <https://doi.org/10.1248/cpb.c20-00313>)およびバルピツール酸系睡眠薬(投稿準備中)を分析対象物質として人工胃液を用いた *in vitro* 実験を遂行し、生体内分解物の同定および物理化学的な挙動の解明を行った。

更に、インシリコ解析で薬物動態を調査する手法としては、LC/TOFMSによるMPDと代謝物であるリタリン酸(RA)の同時分析法を構築し、実際にMPD服用者の尿を継時的に分析したところRAが検出された。インシリコ解析するためにRA/MPDの値を継時的にプロットしたところ、服用

後 4 時間以降のデータにおいて回帰線はほぼ直線性を示した。更に、この直線回帰線を時間軸を遡る方向に外挿するとほぼ原点を通過し、服用時間の推測が可能であることが示された。また、MPD の徐放性製剤であるコンサータのインタビューフォームに示された血漿中の MPD と RA のデータについて、RA/MPD 値を同様に再解析したところ、その経時変化は先の尿中と同様なパターンを示した。これらの結果から、本解析手法を用いることで、MPD 乱用者が服用したタイミングや服用量を逆算できる可能性が示唆された。本研究結果は研究論文として報告済みである (Forensic Chemistry, 2021, DOI: 10.1016/j.forc.2021.100334)。以上のことから、本研究結果は、研究課題に即した結果が得られた内容であり、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。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計15件（うち査読付論文 15件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 15件）

1. 著者名 Koichi Saito, Rieko Saito, Rie Ito	4. 巻 24
2. 論文標題 Determination of methamphetamine and methylphenidate in urine by liquid chromatography/time-of-flight mass spectrometry coupled with solid-phase dispersive extraction, and its pharmacokinetic application	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Forensic Chemistry	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.forc.2021.100334	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Koichi Saito, Rika Nishiyama, Rie Ito	4. 巻 42
2. 論文標題 Simultaneous quantitative screening for pain medications in serum by high-performance liquid chromatography/time-of-flight mass spectrometry with solid-phase dispersive extraction	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Chromatography	6. 最初と最後の頁 83-90
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.15583/jpchrom.2021.001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Koichi Saito, Mai Yokota, Sachi Saito, Rie Ito	4. 巻 69
2. 論文標題 Elucidation of degradation behavior of nitrazepam and other benzodiazepines in artificial gastric juice -Study on degradability of drugs in stomach (II)-	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Chem. Pharm. Bull.	6. 最初と最後の頁 258-264
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1248/cpb.c20-00836	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Koichi Saito, Nami Hagiwara, Miho Sakamoto, Daigo Wakana, Rie Ito, Tomoo Hosoe	4. 巻 68
2. 論文標題 Elucidation of degradation behavior of tricyclic antidepressant amoxapine in artificial gastric juice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Chem. Pharm. Bull.	6. 最初と最後の頁 848-854
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1248/cpb.c20-00313	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Koichi Saito, Marika Eki, Rie Ito	4. 巻 41
2. 論文標題 In vitro study of assumed in vivo chiral conversion of clenbuterol	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Chromatography	6. 最初と最後の頁 73-78
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.15583/jpchrom.2020.005	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Koichi Saito, Yoshie Kokaji, Yuki Muranaka, Rie Ito	4. 巻 17
2. 論文標題 Simultaneous determination of synthetic cannabinoids in illegal herbal products and blood by LC/TOF-MS, and linear regression analysis of retention time using log Pow;	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Forensic Chemistry	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.forc.2019.100202	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yoshiyuki Kobayashi, Masakadzu Yato, Rie Ito, Koichi Saito	4. 巻 41
2. 論文標題 Enantioselective determination of synephrine in health food products by liquid chromatography/time-of-flight mass spectrometry	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Chromatography	6. 最初と最後の頁 39-44
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.15583/jpchrom.2019.024	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yoshiyuki Kobayashi, Rie Ito and Koichi Saito	4. 巻 3
2. 論文標題 Quantitative analysis of research trends on -lipoic acid by text mining	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J. Nutr. Diet Suppl.	6. 最初と最後の頁 105-117
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Koichi Saito, Yukino Oshiro, Osamu Sakata, Rie Ito	4. 巻 40
2. 論文標題 .Enantiomeric analysis of flavor compounds by multiple headspace solid-phase microextraction gas chromatography-mass spectrometry	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Chromatography	6. 最初と最後の頁 105-114
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.15583/jpchrom.2019.012	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 杉江謙一, 阿久津守, 斉藤貢一	4. 巻 68
2. 論文標題 .ヘッドスペース Direct Analysis in Real Time (DART)-TOF-MSを用いる亜硝酸エステル系指定薬物の迅速スクリーニング	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 分析化学	6. 最初と最後の頁 699-706
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2116/bunsekikagaku.68.699	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 坂本美穂, 蓑輪佳子, 岸本清子, 中嶋順一, 鈴木 仁, 守安貴子, 深谷晴彦, 斉藤貢一	4. 巻 60
2. 論文標題 LC/Tribrid Orbitrapによる強壮系健康食品中のPhosphodiesterase-5阻害薬および構造類似体の分析	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 食品衛生学雑誌	6. 最初と最後の頁 96-107
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3358/shokueishi.60.96	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yoshiyuki Kobayashi, Rie Ito, Koichi Saito	4. 巻 166
2. 論文標題 Enantiomeric determination of -lipoic acid in urine by LC/MS/MS	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J. Pharm. Biomed. Anal.,	6. 最初と最後の頁 435-439
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jpba.2019.01.042.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yusuke Suzuki, Tsuyoshi Kaneko, Koichi Saito	4. 巻 24
2. 論文標題 The internal standard diquat-d4 causes errors in diquat analysis by LC-MS/MS	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Forensic Toxicol	6. 最初と最後の頁 49-61
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11419-018-0423-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Koichi SAITO, Masakadzu YATO, Yoshiyuki KOBAYASHI, Rie ITO	4. 巻 40
2. 論文標題 Simultaneous Determination of Slimming Drugs in Dietary Supplements by Liquid Chromatography/Time-of-Flight Mass Spectrometry	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Chromatography	6. 最初と最後の頁 19,24
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.15583/jpchrom.2018.017	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Koichi Saito, Satomi Kaneko, Yuka Furuya, Yumi Asada, Rie Ito, Ken-ichi Sugie, Mamoru Akutsu, Youichi Yanagawa	4. 巻 印刷中
2. 論文標題 Confirmation of synthetic cannabinoids in herb and blood by HS-SPME-GC/	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Confirmation of synthetic cannabinoids in herb and blood by HS-SPME-GC/MS	6. 最初と最後の頁 印刷中
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.forc.2019.100156	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計9件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 斉藤 貢一、小暮 眞優佳、園田 晃大、伊藤 里恵
2. 発表標題 画像解析手法を導入したルミノール化学発光反応の最適化およびヒトヘモグロビンと鉄( )イオンの異同識別
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 園田 晃大、小暮 眞優佳、伊藤 里恵、斉藤 貢一
2. 発表標題 ルミノール - 極微弱化学発光計測法による痕跡レベルの血液検出法の構築
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 武村 知紗、伊藤 里恵、 斉藤 貢一
2. 発表標題 水酸基を有するベンゾジアゼピン系薬物（ロルメタゼパム、ロラゼパム、オキサゼパム）の人工胃液中での分解挙動の解明
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 関谷 千春、伊藤 里恵、斉藤 貢一
2. 発表標題 PCR/核酸クロマトグラフィー法による体毛を試料とした動物種の異同識別および微量血痕等ヒト生体試料検出への適用性の検討
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 信平 紗映、加藤 愛美、小林 由幸、伊藤 里恵、斉藤 貢一
2. 発表標題 ダイエットサプリメントにおけるシネフリン異性化の要因検討
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年



1. 発表者名 驒 真利花, 伊藤 里恵, 斉藤 貢一
2. 発表標題 食肉經由で摂取したクレンブテロールはドーピングで服用したものと識別可能か? 生体内におけるクレンブテロールのキラル変換に関する基礎的研究
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 井口 美紗代, 横田 麻衣, 伊藤 里恵, 斉藤 貢一
2. 発表標題 トリアゾール環を有するベンゾジアゼピン系薬物の人工胃液中での分解挙動の解明
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 斉藤貢一、川上 真利絵、間宮 佑介、伊藤里恵
2. 発表標題 メタンフェタミン検出における定性確度を高めたシモン反応の検討( ) - 反応の最適化並びに偽陽性・偽陰性物質の探索と対策 -
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 間宮 佑介、川上 真利絵、伊藤 里恵、斉藤 貢一
2. 発表標題 メタンフェタミン検出における定性確度を高めたシモン反応の検討( ); 系統的分析法の構築
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019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
---------	---------