

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 30 日現在

機関番号：32622

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009 年度～2011 年度

課題番号：21590744

研究課題名（和文）フェンタニル関連デザイナー・ドラッグ及び代謝物の同定・定量法の開発と毒性の解明

研究課題名（英文）Development of methods for identification and quantitation of fentanyl related designer drugs and their metabolites

研究代表者

佐藤 啓造 (SATO KEIZO)

昭和大学・医学部・教授

研究者番号：20162422

研究成果の概要（和文）：

麻薬摂取の証明には麻薬の化学構造を反映する代謝物を尿中から検出・同定する必要がある。 $\alpha$ -メチルフェンタニルは乱用されるフェンタニル関連デザイナー・ドラッグの代表的薬物であるが、主要代謝物は化学構造を反映していない。本研究ではラットに $\alpha$ -メチルフェンタニルを経口投与し、その尿を経時的に採尿して $\alpha$ -メチルフェンタニルの化学構造を反映する4つの微量代謝物を特定し、マイクロ固相抽出法とGC/MSによる定量法を開発した。

研究成果の概要（英文）：

In order to prove narcotic abuse, detection and identification of its metabolites, which reflect peculiar chemical structure of the narcotic, in urine obtained from an abuser of the drug is essential. Though  $\alpha$ -methylfentanyl is the representative designer drug of the fentanyl and its related compounds, major metabolites of the narcotic do not reflect peculiar chemical structure of the drug. In this study, we were able to detect and identify four minor metabolites, which reflect peculiar chemical structure of the  $\alpha$ -methylfentanyl in urine obtained from rats to which we gave the narcotic orally. In addition, we could develop not only the method for solid-phase microextraction of the  $\alpha$ -methylfentanyl from urine or blood but also that for quantitation of the drug in urine or blood with gas chromatography(GC)/mass spectrometry(MS).

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2010 年度	800,000	240,000	1,040,000
2011 年度	700,000	210,000	910,000
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：社会医学・法医学

キーワード：フェンタニル・デザイナー ドラッグ・GC, GC/MS・HPLC, HPLC/MS・マイクロ固相抽出・フェノチアジン

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 違法な薬物であるか否かは、その物質の化学構造式によって定められている。違法とされている乱用薬物の分子構造の一部を別の物に置き換えたデザイナー・ドラッグといわれる類似薬物が無数に合成され、乱用市場を賑わしている。これらは脱法ドラッグであり、現在の法律で規制することはできないが、その作用、副作用、毒性、依存性などは規制薬物の数百倍から数千倍に及ぶ強力なものも含まれている。

(2) デザイナー・ドラッグが最初に発見されたのは 1979 年カリフォルニアで、二人の中毒者が死体で発見されたときである。死体の近くにはヘロインに似た粉末の入ったパケ（麻薬など薬物の末端密売用の小さな包み）がいくつか落ちていた。同様の死亡事故が 13 件発生し、アメリカ司法省麻薬取締局によって外科手術の麻酔薬としてよく用いられるフェンタニルのデザイナー・ドラッグであることが明らかにされた。この薬物はチャイナ・ホワイトと呼ばれ、1980 年以降、そのヘロイン類似の薬理作用のため広く乱用され、過剰摂取による死亡例が報告されているものだけで 100 件近くに及ぶ。この薬物は 3-メチルフェンタニルとみなされてきたが、連携協力者の鈴木真一氏によって  $\alpha$ -メチルフェンタニルであることが最近、報告された。この報告に基づき、現在は  $\alpha$ -メチルフェンタニルも法的規制薬物に加えられている。

## 2. 研究の目的

薬物使用者の尿中から検出される  $\alpha$ -メチルフェンタニルの主要代謝物はフェンタニルの代謝物と共通であり、 $\alpha$ -メチルフェンタニルの使用者と思料される被疑者が外科手術で麻酔を受けたと言い逃れる事例が続出した。したがって、本研究では  $\alpha$ -メチルフェンタニル独自の化学構造を反映する尿中代謝物を特定し、その抽出法と同定・定量法を確立することを目的とする。

## 3. 研究の方法

(1)  $\alpha$ -メチルフェンタニルをラットに経口投与し、その尿を経時的に採尿して実験に用いた。

(2) ラット尿を種々の固相抽出法およびマイクロ固相抽出法により種々の条件で抽出した。

(3)  $\alpha$ -メチルフェンタニルをガスクロマトグラフィー(GC)/質量分析法(MS)で分析する条件を設定した。

(4) 設定した GC/MS の分析条件で(2)で抽出

した抽出液を分析し、 $\alpha$ -メチルフェンタニルの化学構造を反映する微量代謝物を検索した。その結果、微量代謝物 4 つを特定した。

(5) 4 つの微量代謝物について抽出法を検討し、マイクロ固相抽出法による方法を確立した。

(6) 4 つの微量代謝物について GC/MS で定量する方法を確立した。

(7) 4 つの微量代謝物について(1)で採尿したラット尿を経時的に分析することにより排泄される投与後の時間を確定した。

## 4. 研究成果

(1)  $\alpha$ -メチルフェンタニルをラットに経口投与して採尿した尿について種々の条件下で GC/MS 分析することにより  $\alpha$ -メチルフェンタニル固有の化学構造を反映する 4 つの微量代謝物を特定した(Forensic Sci Int 195 巻, 68-72 頁, 2010)。その 4 つの微量代謝物は P-芳香環水酸化  $\alpha$ -メチルフェンタニル、 $\omega$  ヒドロキシプロピオニル  $\alpha$ -メチルフェンタニル、 $\omega$ -1 ヒドロキシプロピオニル  $\alpha$  メチルフェンタニルおよび P-芳香環水酸化  $\omega$  ヒドロキシプロピオニル  $\alpha$ -メチルフェンタニルであることが特定された。

(2)  $\alpha$ -メチルフェンタニルをラットに経口投与し、その尿を経時的に採尿して  $\alpha$ -メチルフェンタニルの化学構造を反映する 4 つの微量代謝物を収集し、それをヒト尿に添加して種々の固相抽出法により抽出して GC/MS で分析することにより抽出法の適否を検討した。その結果、ボンドエルト、セップパックなどベッドボリュームの大きい固相抽出法は 4 つの微量代謝物の抽出には適しておらず、ベッドボリュームの小さいシリカモノリス SPE チップとトップチップ C<sub>18</sub> の 2 種類のマイクロ固相抽出法が 4 つの微量代謝物の GC/MS 分析のための抽出には適していることが明らかになった(Forensic Toxicol 28 巻, 61-68 頁, 2010)。

(3) 上記の研究で明らかとなった 4 つの微量代謝物と、そのマイクロ固相抽出法に基づき、GC/MS の SIM 分析で定量法を確立した(Forensic Sci Int 195 巻, 68-72 頁, 2010)。

(4) 上記の研究で確立した GC/MS による定量法とマイクロ固相抽出法を用い、4 つの微量代謝物の代謝物全体におけるパーセンテージと排泄される経時変化を検討した。その結果、4 つの微量代謝物は投与後 24 時間に P-芳香環水酸化  $\alpha$ -メチルフェンタニル(1.0%)、 $\omega$  ヒドロキシプロピオニル  $\alpha$ -メチルフェンタニル(0.1%)、 $\omega$ -1 ヒドロキシプロピオニル  $\alpha$

-メチルフェンタニル(0.1%)、および P-芳香環水酸化のヒドロキシプロピオニル  $\alpha$ -メチルフェンタニル(0.1%)が排泄されることが判明した。これらの微量代謝物はラットに経口投与後 48 時間までに完全に排泄され、代謝物の総排泄量の 2-3%を占めることが判明した (Forensic Sci Int 195 巻, 68-72 頁, 2010)。

(5) 4 つの微量代謝物について高速液体クロマトグラフィー(HPLC)/タンデム MS(MS-MS)による分析法の開発を試みたが、東日本大地震後の電力不足のために HPLC/MS-MS が安定せず、開発に至っていない。そこで、大地震後の最終年度は(2)で開発したマイクロ固相抽出法を用い、 $\alpha$ -メチルフェンタニルと同様、鎮静性の向精神薬であるフェノチアジンについて HPLC/MS による代謝物の検索を行った。倫理委員会の承認を得たうえで、2 名の精神科入院患者の本人および保護者から同意を得て、通常の血液理化学検査終了後の血清を廃棄することなく、提供を受け、本研究に用いた。高速電子衝撃 (FAB) 方式の HPLC/MS 分析を行ったところ、ベースピークとしての  $MH^+$ イオンのほか、同定に役立つフラグメントイオンが適量得られることが分かった。患者の血清を(2)で確立したマイクロ固相抽出法で抽出し、HPLC/FAB-MS 分析を行ったところ、クロルプロマジン、レボメプロマジン、プロメサジン、プロペリシアジンの未変化体のほか、代謝物である酸化体とデスメチル体が検出、同定された (医学と生物学 第 156 巻, 128-139, 2012 および J Chromatogr A 1218 巻, 2521-2527, 2011)。供給電力が安定した今年度は  $\alpha$ -メチルフェンタニルの使用を証明する微量代謝物を HPLC/MS および HPLC/MS-MS で検索したい。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 10 件)

- ① 祖父江英明、佐藤啓造、藤城雅也、李 曉鵬、キャピラリー高速液体クロマトグラフィー/高速原子衝撃質量分析法によるヒト血清中フェノチアジン系薬物および代謝物の分析、医学と生物学、査読有、156 巻、2012、128-139
- ② Taira R, Sato K, Fujishiro M, Lee X-P, Capillary high-performance liquid chromatography/fast atom bombardment-mass spectrometry of nine aminoglycoside antibiotics, Medicine and Biology, 査読有, 156, 2012, 185-193

- ③ Hasegawa C, Lee X-P, Sato K, Determination of dextromethorphan in human plasma using pipette tip solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry, Anal Bioanal Chem, 査読有, 2011, 401, 2215-2223
  - ④ Kumazawa T, Lee X-P, Sato K, Fragmentation pathways of trifluoroacetyl derivatives of methamphetamine, amphetamine, and methylenedioxyphenylalkylamine designer drugs by gas chromatography/mass spectrometry, International Journal of Spectroscopy, 査読有, 2011 (Article ID: 318148), 1-12
  - ⑤ Kumazawa T, Lee X-P, Sato K, Quantitative determination of phenothiazine derivatives in human plasma using monolithic silica solid-phase extraction tips and gas chromatography-mass spectrometry, J Chromatogr A, 査読有, 2011, 1218, 2521-2527
  - ⑥ Sato J, Lee X-P, Suzuki S, Sato K, Pitfall of analysis of arsenic in hair by inductively coupled plasma-mass spectrometry, Medicine and Biology, 査読有, 2011, 155, 760-765
  - ⑦ Lee X-P, Sato K, Determination of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in human plasma by LC-MS-MS with a hydrophilic polymer column, Forensic Toxicol, 査読有, 2010, 28, 96-104
  - ⑧ Kumazawa T, Lee X-P, Sato K, New and unique methods of solid-phase extraction for use before instrumental analysis of xenobiotics in human specimens, Forensic Toxicol, 査読有, 2010, 28, 61-68
  - ⑨ 熊澤武志, 李 曉鵬, 佐藤啓造, シリカモノリス固相抽出技術と薬毒物分析への応用, JSBMS Letters, 査読有, 2010, 35, 31-36
  - ⑩ Sato S, Suzuki S, Lee X-P, Sato K, Studies on 1-(2-phenethyl)-4-(N-propionylanilino)piperidine (fentanyl) and related compounds: VII. Quantification of  $\alpha$ -methylfentanyl metabolites excreted in rat urine, Forensic Sci Int, 査読有, 2010, 195, 68-72
- [学会発表] (計 5 件)
- ① 熊澤武志, 李 曉鵬, 佐藤啓造, 分子鏝

型固相抽出法を用いたヒト全血中覚せい剤及びデザイナードラッグの分析、日本法中毒学会第30年会、2011年6月10日、長崎

- ② 熊澤武志、李 暁鵬、佐藤啓造、シリカモノリス SPE チップと GC/MS を利用した血漿中フェノチアジン系向精神薬の分析、第35回日本医用マスペクトル学会年会、2010年9月10日、名古屋
- ③ 丸茂明美、李 暁鵬、佐藤啓造、TopTip C<sub>18</sub> を用いた血中覚せい剤の簡易迅速分析、日本法中毒学会第29年会、2010年7月23日、東京
- ④ 佐藤啓造 (特別講演)、法医学領域における各種検査法の開発、第94次日本法医学会総会、2010年6月25日、東京
- ⑤ 佐藤伸一、鈴木真一、李 暁鵬、佐藤啓造、ラット尿中に排泄された $\alpha$ -メチルフェンタニル代謝物の定量、第303回昭和医学会例会、2010年2月27日、東京

[図書] (計1件)

- ① 佐藤啓造、朝倉書店、臨床のための法医学 (第6版)、2010年、174-199

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況 (計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

[その他]

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

佐藤 啓造 (SATO KEIZO)  
昭和大学・医学部・教授  
研究者番号：20162422

### (2) 研究分担者

李 暁鵬 (LEE XIAO-PEN)  
昭和大学・医学部・講師  
研究者番号：20439441

### (3) 連携研究者

鈴木 真一 (SUZUKI SHINICHI)  
昭和大学・医学部・客員教授  
研究者番号：00356198

藤城 雅也 (FUJISHIRO MASAYA)  
昭和大学・医学部・ポストドクター  
研究者番号：00527161