

氏 名 谷口 真司

学 位 の 種 類 博 士 (医 学)

学 位 記 番 号 博 士 乙 第 395 号

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第4条第2項該当

学 位 授 与 年 月 日 平成25年 9月11日

学 位 論 文 題 目 Study on forensic drug testing of methamphetamines and related compounds by GC-MS with trifluoroacetyl derivatization
(1.Comparative in vitro studies of the metabolism of six 4-substituted methamphetamines and their inhibition of cytochrome P450 2D6 by GC-MS with trifluoroacetyl derivatization)
(2.A technique combining trifluoroacetyl derivatization and gas chromatography-mass spectrometry to distinguish methamphetamine and its 4-substituted analogs)

(トリフルオロアセチル誘導体化 GC-MS 分析法を用いた覚せい剤メタンフェタミンと覚せい剤類似化合物の法医中毒学的検査に関する研究)
(1. トリフルオロアセチル誘導体化 GC-MS 分析法による、4 位置換メタンフェタミン化合物 6 種の代謝とシトクロム P450CYP2D6 阻害効果の in vitro 比較研究)
(2. トリフルオロアセチル誘導体化法を併用したガスクロマトグラフィー質量分析法による覚せい剤メタンフェタミンと 4 位置換類似化合物の識別)

審 査 委 員 主査 教授 扇田 久和

副査 教授 木村 隆英

副査 教授 野坂 修一

論文内容要旨

※整理番号	399	(ふりがな) 氏 名	(たにぐち まさし) 谷口 真司
学位論文題目	Study on forensic drug testing of methamphetamines and related compounds by GC-MS with trifluoroacetyl derivatization (トリフルオロアセチル誘導体化 GC-MS 分析法を用いた覚せい剤メタンフェタミンと覚せい剤類似化合物の法医中毒学的検査に関する研究)		
【研究の目的】 近年、MDMA 等の法規制薬物の分子構造を一部変化させた新たな乱用薬物が青少年を中心に増加しており、薬物の乱用による死亡例が報告される等、社会問題となっている。新たな乱用薬物が法規制を逃れるために次々と出現しているものの、分析データが存在しない化合物については中毒原因としての特定はおろか、化合物の検知や法規制薬物との識別すら困難である。さらに、複数成分を含む錠剤型薬物が数多く存在しており、多剤同時摂取による薬物中毒死の発現が懸念されている。 本研究の目的は、第一に、従来の乱用薬物と新しい乱用薬物の識別法を開発することである。具体的には、法医中毒学的検査の現場で広く用いられているガスクロマトグラフィー・質量分析法 (GC-MS) により、覚せい剤メタンフェタミン (MA) と 6 種 (法規制薬物 2 種、未規制薬物 4 種を含む) の 4 位置換メタンフェタミン類 (4 位置換 MAs) との識別法を検討した。第二に、新しい乱用薬物の代謝物を特定することと、新しい乱用薬物が従来の乱用薬物に与える影響について調査することである。In vitro での代謝実験を行い、4 位置換 MAs の代謝物を特定し、4 位置換 MAs による覚せい剤 MA の代謝阻害を調査した。 【方法】 ① 覚せい剤 MA と 4 位置換 MAs (4-フルオロメタンフェタミン、4-クロロメタンフェタミン、4-ブロモメタンフェタミン、4-ヨードメタンフェタミン、4-ニトロメタンフェタミン、4-メトキシメタンフェタミン) の識別法についてトリフルオロアセチル誘導体 (TFA) 化 GC-MS 分析法を検討した。さらに、健常者の尿に各化合物を添加した試料を作製し、尿中夾雑物の分析に与える影響を調べた。 ② 4 位置換 MAs について市販のヒト CYP 発現系を用いて in vitro 試験を行い、覚せい剤 MA の主要な代謝酵素 CYP2D6 によって生産される 4 位置換 MAs の代謝物を①の分析手法で測定した。さらに、各濃度 (0, 0.3, 1, 3, 10 or 30 $\mu\text{mol/L}$) の 4 位置換 MAs を 20 $\mu\text{mol/L}$ の覚せい剤 MA 共存下で同代謝試験を行い、覚せい剤 MA の主要代謝物であるアンフェタミン (AP) 及び <i>p</i>-ヒドロキシルメタンフェタミン (OHMA) の産出量を測定し、4 位置換 MAs の覚せい剤 MA に対する 50%阻害濃度 (IC_{50}) を求めて比較を行った。			

- (備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等で印字すること。
2. ※印の欄には記入しないこと。

【結果】

- ① 覚せい剤 MA と 4 位置換 MAs は、TFA 化を行うことにより、それぞれ誘導体化前と比較してクロマトグラムのピーク形状が鋭くなり、分解能と感度の向上が認められた。さらに、TFA 化により、各マススペクトルにおいて化合物に特徴的なフラグメントピークが認められ覚せい剤 MA と 4 位置換 MAs の識別が容易となった。同分析法を用いた各化合物濃度 1-100ppm の定量分析において、尿中夾雑物の影響は認められなかった。
- ② 代謝物測定の結果、4 位置換 MAs の主代謝物は、4-メトキシメタンフェタミンは *O*-脱メチル化体である OHMA、他の 5 化合物は各 *N*-脱メチル化体 (4-フルオロアンフェタミン、4-クロロアンフェタミン、4-ブromoアンフェタミン、4-ヨードアンフェタミン、4-ニトロアンフェタミン) であることが認められた。

4 位置換 MAs の AP 生産に対する IC₅₀ 値から、4-ヨードメタンフェタミン > 4-ブromoメタンフェタミン > 4-クロロメタンフェタミン > 4-メトキシメタンフェタミン > 4-フルオロメタンフェタミン > 4-ニトロメタンフェタミンの順に阻害活性が認められた。また、OHMA 生産に対する阻害活性についても、概ね同じ傾向を示した。

【考察】

覚せい剤 MA と 4 位置換 MAs の識別において、GC-MS の前に TFA 化を行うことにより、分解能と感度の改善に加え、マススペクトルにおける識別が容易になった。すなわち、遊離塩基の状態では判別の難しい構造類似化合物においても、TFA 化 GC-MS を用いることにより、効果的に法規制薬物と未規制薬物の識別が可能であることが示された。また、尿中夾雑物の干渉なく定量分析が行えたことから、法医中毒学的検査の現場において、本法が尿資料に適用できると認められる。今後、血液や組織を想定した検討も必要であると考ええる。

4 位置換 MAs は 1 つの置換基が異なるだけで覚せい剤 MA に対する阻害活性が異なることが認められた。乱用薬物の中でも特に錠剤型の場合は含有される成分や量が一定でないため、これらを摂取した場合、生体への影響は毎回大きく異なる可能性があると考えられる。

今回検討した 4 位置換 MAs 6 種のうち 4 種は、覚せい剤 MA の 4 位水素原子をハロゲン原子に置換したものであるが、ハロゲン置換基の原子番号順に阻害活性が強くなることから、ハロゲン置換基と阻害活性に相関があることが考えられる。ハロゲン原子を有する乱用薬物は多く、今後もハロゲン原子を有する新規乱用薬物の出現が予想されることから、今後検討する化合物を増やすことによって傾向を把握できれば、新規の乱用薬物についてその危険性を予測できるのではないかと期待できる。

【結論】

今回検討した 4 位置換 MAs 6 種について、覚せい剤 MA の主要代謝酵素 CYP2D6 によって生成される各代謝物が確認できた。また、覚せい剤 MA に対する阻害活性が各化合物で異なるという知見が得られた。さらに、覚せい剤 MA に対する阻害活性とハロゲン置換基に相関があることが示唆された。

本研究により、法医中毒学分野の薬物検査で広く用いられている GC-MS を用いて構造類似の覚せい剤、法規制乱用薬物、未規制乱用薬物について、生体資料にも適用できる有効な識別法が得られた。

学位論文審査の結果の要旨

整理番号	399	氏名	谷口 真司
論文審査委員			
（学位論文審査の結果の要旨）（明朝体 11 ポイント、600 字以内で作成のこと。） 近年、新たな乱用薬物が法規制を逃れるために次々と出現し社会問題となっているが、分析データがない薬物（化合物）も存在する。本研究では、ガスクロマトグラフィー・質量分析法を用いて、覚醒剤メタンフェタミンと 6 種類の 4 位置換メタンフェタミン類との識別法を検討し、以下の点を明らかにした。 1) メタンフェタミンおよび 4 位置換メタンフェタミン類にトリフルオロアセチル誘導体化を行うことにより、検出の分解能と感度が向上し、それぞれの化合物の識別がより容易になった。また、これらの化合物を尿中に添加して測定した場合でも、尿中夾雑物に影響されることなく検出可能であった。 2) 今回検討した 4 位置換メタンフェタミン類の内、4-メトキシメタンフェタミンのみ O-脱メチル化体に代謝されたが、他の 5 化合物は各 N-脱メチル化体に代謝された。また、メタンフェタミンに対する阻害活性 (IC_{50}) は、4-ヨードメタンフェタミン > 4-ブロモメタンフェタミン > 4-クロロメタンフェタミン > 4-メトキシメタンフェタミン > 4-フルオロメタンフェタミン > 4-ニトロメタンフェタミンの順であった。 以上より本論文は、分解能と感度良くメタンフェタミン類を検出する新たな手法と、それらの代謝物の特性に関する新規の知見を提示した。さらに、最終試験として論文内容に関連した試問を受け合格したので、博士（医学）の学位論文に値するものと認められた。 （総字数 592 字） （平成 25 年 9 月 2 日）			