

氏名(本籍)	掛橋 秀直 (大阪府)
学位の種類	博士 (薬学)
学位記番号	論博第 49 号
学位授与年月日	2022 年 9 月 13 日
学位授与の条件	学位規程第 3 条第 2 項該当者
学位論文の題名	危険ドラッグの摂取証明を目的とした代謝および排泄の研究
論文審査委員	主 査 教 授 長谷川 潤 副 査 教 授 大河原 賢一 副 査 教 授 上田 昌史 副 査 准教授 竹内 敦子

論文内容の要旨

緒 論

乱用薬物の種類は多岐に渡り、多くは覚醒剤取締法、麻薬及び向精神薬取締法そして大麻取締法により、所持・使用等が厳しく規制されている。しかし 2000 年頃から、既存の法律では規制対象外になる新規精神活性物質“危険ドラッグ”の乱用が急増した。危険ドラッグは、既存薬物の化学構造を一部改変させたデザイナードラッグであり、その薬理作用が基となる既存薬物を上回ることも多い。そのため、急性薬物中毒、乱用者による暴行や殺人事件、そして薬物影響下での危険運転による交通事故が相次いで発生した。厚生労働省は危険ドラッグ乱用問題への施策として、2007 年から薬事法（現 医薬品・医療機器等の品質・有効性及び安全性の確保等に関する法律）により、危険ドラッグを指定薬物として順次規制し、取り締まりを強化した。危険ドラッグは、カチノン類（CATs）をはじめ、合成カンナビノイド類（SCs）、亜硝酸エステル類、フェンタニル類、LSD 類等に大別される。中でも CATs と SCs の流通量は際立って多く、構造アナログも多岐に渡る。法規制されている構造アナログ CATs で約 1400 種、SCs で約 800 種に上る。また、2017 年には、覚醒剤メタンフェタミン（MA）に *tert*-butoxycarbonyl (Boc)基が導入体された BocMA が指定薬物に追加されている（図 1）。これは、BocMA が MA の密輸の手口として使われたためであるが、当該薬物は、経口摂取後に胃液中で MA を生成する潜在的な MA プロドラッグとしても危惧されている。

乱用薬物の摂取証明には、非侵襲的採取が可能な尿試料が汎用され、薬物未変化体に加えて、その代謝物を検出することが分析の信頼性の点から非常に重要とされる。また、交通事故の場合は、事故発生当時の薬物の影響を推測するために血中の未変化体濃度が重要視される。従って、ヒトにおける代謝・排泄経路の解明は、薬物の摂取証明を行う上で不可欠である。しかしながら、新たに登場する危険ドラッグの代謝・排泄に関する情報は乏しいことに加え、危険ドラッグの標準品は、高価かつ製造販売までに長い時間を要する。本研究では、危険ドラッグを摂取したヒトの尿および血液試料を分析し官能基等の化学的特徴が代謝・排泄に与える影響と共に、摂取証明に有用な代謝物や生体試料の選択について考察する。また、潜在的 MA プロドラッグである BocMA については、*in vitro*・*in vivo*代謝試験を行うことで、その代謝・排泄挙動を予測し、摂取証明に有用な代謝物を提案することを目的とする。

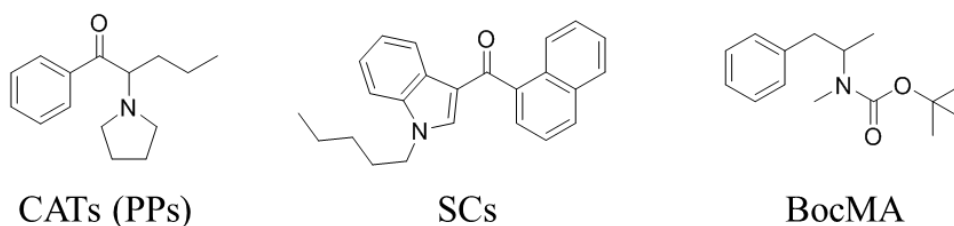


図1. 本研究対象となる規制薬物の化学構造の一例

第1章 カチノン類 (CATs) の芳香環の構造が代謝・排泄に与える影響

第1節 背景および目的

CATs は、覚醒剤と類似の化学構造および中枢神経興奮作用を有し、殺人事件の引き金となった事件も報告されている。CATs の摂取証明に有用な特異的代謝物については徐々に明らかになっており、CATs の中でも特に流通量の多い 1-phenyl-2-(pyrrolidin-1-yl)pentan-1-one (別名 α -PVP) に代表されるピロリジノフェノン誘導体 (PPs) は、カルボニル還元体 (M1、ジアステレオマー: D1, D2) およびピロリジン環酸化体 (M2) へと代謝されるが、アルキル鎖が伸長するとアルキル鎖の ω および ω -1 位の酸化が主代謝経路になることが報告されている。一方で、PPs の構造改変は芳香環にも及んでいるが、代謝経路への影響は、ほとんど明らかになっていない。本研究では、 α -PVP の芳香環部の構造アナログについて、芳香環の構造が PPs の代謝経路に与える影響を明らかにし摂取証明に有用な代謝物を考察する。

第2節 実験および方法

α -PVP の芳香環の構造アナログである 3 種の PPs ($4F$ - α -PVP、 $4MeO$ - α -PVP および α -PVT) 使用者の尿試料について液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析を行い、代謝物の定性・定量分析を行った (図2)。なお、入手ができない PPs やその代謝物については、適宜、有機合成により標準品を作製した。

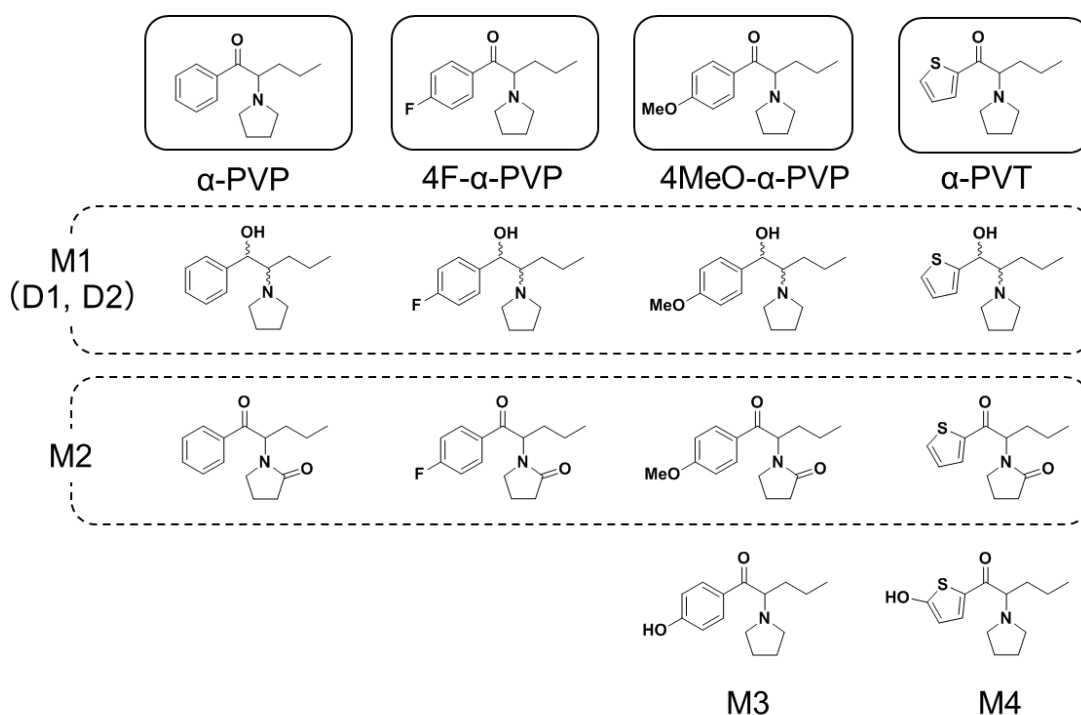


図2. 本研究対象となる PPs およびその関連代謝物の化学構造

第3節 実験結果

4F- α -PVP、4MeO- α -PVP および α -PVT いずれの使用者尿からも、代謝物である M1 および M2 が検出され、さらに 4MeO- α -PVP は *O*-脱メチル化体 (M3)、 α -PVT は芳香環酸化体 (M4) が検出された。なお、M3 については、グルクロン酸および硫酸抱合体と推定される代謝物が検出された。

各 PPs および代謝物の尿中濃度を定量し、未変化体に対する割合を比較した結果を図3に示す。4F- α -PVP 使用者尿 18 検体については、M1-D1 が最も高濃度である試料は 10 検体、M2 が最も高濃度である試料は 8 検体であった。4MeO- α -PVP 使用者尿 2 検体については、M3 の濃度が M1 および M2 と比べて顕著に高かった。 α -PVT 使用者尿 6 検体については、全ての試料において M2 濃度が、M1 (D1, D2) と比べて顕著に高かった。なお、定量値は得られなかったものの、検出イオン強度は M4 が最も高かった。

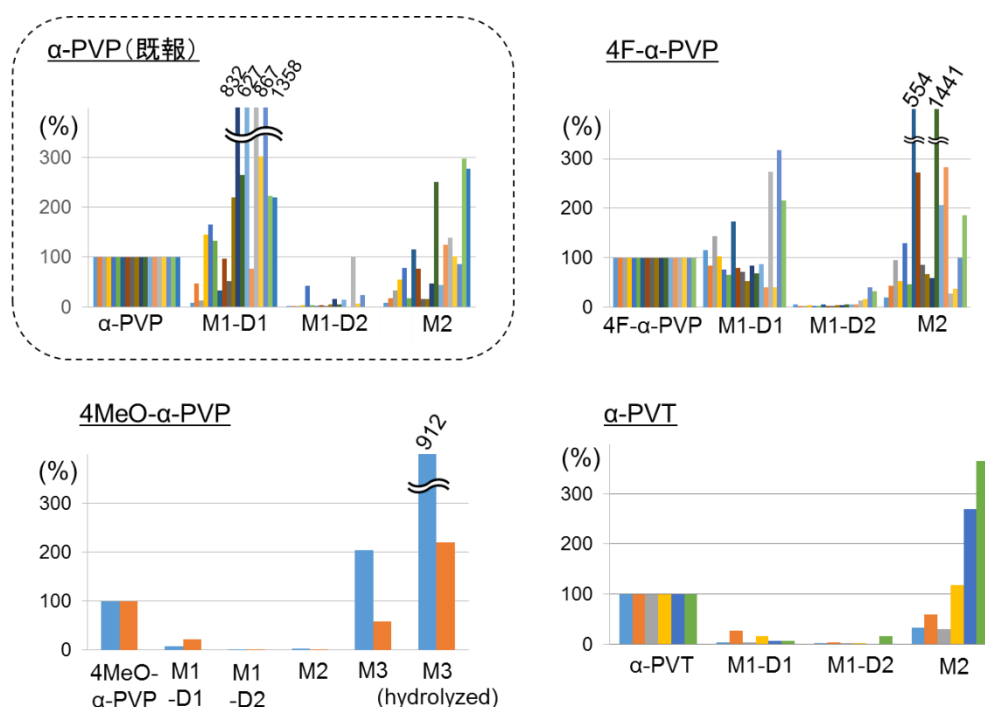


図3. PPs の各代謝物の未変化体に対する割合。未変化体に対する比(%)を示す。

第4節 考察

(1) 代謝経路

PPs のフェニル基の 4 位がフルオロ基に置換されても PPs の代謝経路には顕著な影響を及ぼさないことが示唆された。一方で、フェニル基の 4 位がメトキシ基に置換されると、 α -PVP では主要代謝経路であったカルボニル還元およびピロリジン環酸化はマイナーな代謝経路となり、*O*-脱メチル化とそれに続く抱合体化が主要経路になるものと考えられた。また、フェニル基がチエニル基に置換されると、カルボニル還元がマイナーな代謝経路になるとともに、チエニル基の酸化が主代謝経路になる可能性が示唆された。

(2) 摂取証明

本研究結果より、PPs の芳香環の構造は代謝経路にも大きな影響を及ぼし得ることが示された。PPs のフェニル基の 4 位へのフルオロ基およびメトキシ基の導入ならびに、フェニル基がチエニル基に置換された場合でも、カルボニル還元体およびピロリジン環酸化体は検出されたことから、摂取証明に有用

な代謝物と考えられる。また、4位へのフルオロ基導入が代謝経路に与える影響は僅かであるが、メトキシ基が導入されると、主代謝物はO-脱メチル化体（グルクロン酸/硫酸抱合体）となり、チエニル基導入ではチエニル基酸化体が主代謝物となる可能性が高い。なお、いずれの代謝物もPPs未変化体構造をよく反映していることから、摂取証明に有用な代謝物と考えられる。

第2章 合成カンナビノイド類 (SCs) の脂溶性と官能基が尿排泄および血中濃度に与える影響

第1節 背景および目的

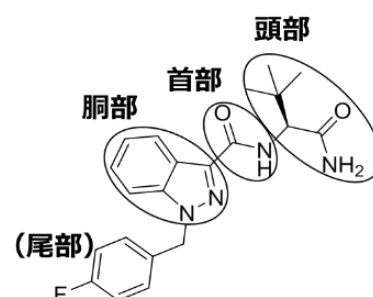
大麻有効成分 THC は脳内の海馬や大脳皮質に多く発現し認知や記憶を司る CB₁ 受容体のパーシャルアゴニストとして知られている。一方で、JWH-018 をはじめとする多くの SCs はフルアゴニストとして作用する。そのため、SCs は大麻よりも高い薬理活性を持つとされ、幻覚やカタレプシーといった深刻な作用を引き起こすことがわかっている。日本では 2011 年以降、これら SCs の影響下で交通事故を起こす事件が急増し、重大な人身事故に至るケースも報告された。SCs の化学構造の改変は継続的に行われており、これまでに 200 種以上の構造アナログが世界各国で流通している。SCs の摂取証明や事故当時の薬物の影響を推測するには、事故を起こした運転手から採取した尿や血液試料中 SCs の定性・定量分析が不可欠となるが、一連の化学構造の改変に伴い、体内分布や尿排泄、代謝速度といった体内動態も大きく変化することが想定される。本研究では、SCs の影響で交通事故を起こしたとされる運転手 (31 名) から採取した尿 (26 検体) および血液試料 (31 検体) から検出された 16 種の SCs を活用して、脂溶性や官能基といった化学的特徴が尿排泄や血中濃度に与える影響を考察し、体内動態を予測する。加えて、有用な摂取証明法 (試料選択・採取時期) についても考察する。

第2節 実験および方法

検出された SCs を、図 4 に示すように、化学構造的特徴に基づいた 3 つの Class に分類し、分子編集ソフト (ChemBioDraw) を用いて算出した各 ClogP (オクタノール/水分配係数、脂溶性の指標値) と生体試料中 SCs 濃度を比較し、傾向を観察した。

第3節 実験結果

検出された SCs 脂溶性の指標となる ClogP をそれぞれ算出した結果、SCs の各 ClogP は、Class 1 および 2 はそれぞれ 5.01~8.14 および 5.80~6.74 であったのに対し、Class 3 が 2.29~3.81 と顕著に低かった。尿試料を分析した結果、Class 1 および 2 の SCs の未変化体は、いずれの尿試料 (13 検体) からも検出されなかったが、Class 3 の SCs は、尿試料 13 検体中 12 検体から検出された (>0.01 ng/mL)。血液試料を分析した結果、Class 2 および 3 の SCs 未変化体の血中濃度範囲について、Class 2 が 0.10~5.0 ng/mL であったのに対し、Class 3 は 0.0036~31 ng/mL であり、より広範囲に分布していた。加えて、Class 3 のうち同程度の脂溶性 (ClogP 3~4) を有する SCs において、頭部末端がエステル型の SCs (5F-AMB および 5F-ADB) の血中濃度は、頭部末端が末端にアミド型の SCs (AB-CHMINACA および ADB-FUBINACA) の血中濃度と比べて、いずれも低い値を示した (図 5)。



	胴部	首部	頭部
Class 1	Indole	Ketone	Naphthyl derivative
Class 2	Indole	Ester /Amide	Quinoline /Naphthyl
Class 3	Indazole	Amide	Valine/ <i>tert</i> -Leucine derivative

図 4. SCs の分類

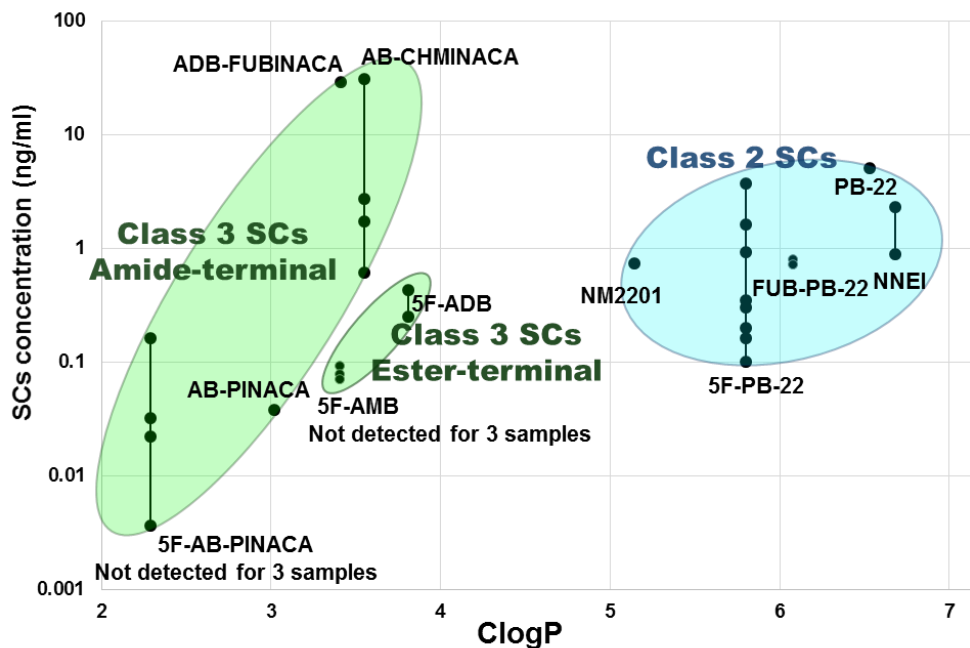


図5. 本研究で得られた Class 2 および 3 の SCs の血中濃度と ClogP

第4節 考察

(1) 尿排泄・血中濃度

本研究において、Class 1 および 2 の SCs は全て ClogP が 5 以上であり、いずれの尿試料からも検出されなかった。一方で、Class 3 の SCs は全て ClogP が 4 以下であり、ほぼ全ての尿試料から検出された。この結果から、SCs の ClogP を算出することで尿中排泄の有無を予測でき、その検出境界線は ClogP 4~5 の間にあると考えられた。

脂溶性化合物は脂肪組織に蓄積された後、血液中に再分布されるため、脂溶性の高い Class 2 の SCs 血中濃度は、減少速度が緩やかになり、その濃度範囲も狭くなった可能性がある。Class 3 の頭部に末端エステルを持つ SCs は、末端アミド型に比べ、酵素加水分解されやすく、血中からより速やかに消失するものと考えられる。

(2) 摂取証明

尿検査による摂取証明について、胴部がインドール/インダゾール基、首部がケトン/エステル/アミド基、頭部がキノリン/ナフチル誘導体で構成される Class 1 および 2 のような低極性の SCs (ClogP > 5) は、未変化体として殆ど尿中排泄されないと考えられる。対照的に、Class 3 のように、頭部にアミノ酸誘導体が導入された Class 3 のような SCs は、極性が比較的高いため尿中排泄され易いと推測される。

血液検査による摂取証明については、Class 1 および 2 のような高い脂溶性をもつ SCs は、THC と同様に脂肪組織に分布し、血中半減期が長くなるため、採血が遅れた場合でも、摂取証明のための試料として検査する価値があると考えられる。一方で、Class 3 のような水溶性が比較的高い SCs は、半減期が短い可能性があるため、速やかな採血が強く推奨される。なお、SCs の頭部が末端エステル型である場合も、体内半減期が短い可能性があるため、速やかに採血する必要がある。

第3章 潜在的な覚醒剤プロドラッグ “*N-tert*-butoxycarbonyl メタンフェタミン (BocMA)” の代謝および排泄

第1節 背景および目的

覚醒剤メタンフェタミン (MA) は高い精神依存を示す薬物として知られている。近年、MA の *tert*-butoxycarbonyl (Boc)基の導入体である BocMA が、国内外の空港税関検査で大量押収されている。Boc 基は有機合成分野でアミノ基の保護に多用されるが、塩酸等の強酸で処理すると容易に脱保護され、目的の化合物を生成する。そのため、MA の新たな密輸手口に利用されることが警戒されている。加えて、BocMA は希塩酸を含む胃液モデル中でも MA に転換されることが明らかになっている。この結果は、BocMA が経口摂取型のプロドラッグとなる可能性を示しており、MA 使用者の抗弁に利用されるケースを含め、MA 摂取の取り締まりを回避する手口に利用されることも懸念されている。BocMA は 2017 年に指定薬物に追加されており、所持や使用も規制されているが、MA と BocMA 摂取の識別方法は確立されておらず、法中毒および裁判化学において、BocMA の代謝・排泄経路の解明は重要課題となっている。

これまでに筆者は、BocMA の胃液モデル中での分解速度が比較的緩やかであるため、一部は胃で分解されずに腸へ移行し、吸収される可能性が高いことを示した。この結果は、尿中に排泄される BocMA に特異的な代謝物を検出することで、BocMA の摂取証明が可能になることを示唆している。そこで本研究では、MA と BocMA 摂取の識別法の確立を目的とした *in vitro* および *in vivo* 代謝試験を行うことで、ヒトにおける BocMA の代謝経路および排泄様式を推測し、BocMA の摂取証明に有用な特異的代謝物を考察する。

第 2 節 実験および方法

in vitro 試験ではヒト肝マイクロソーム (HLM) /ラット肝マイクロソーム (RLM) による代謝試験を行い、*in vivo* 試験ではラットへの腹腔内投与による尿中代謝物の探索を実施した。

第 3 節 実験結果

BocMA はいずれの肝マイクロソームでも速やかに消失し、半減期から算出した予想肝抽出率 (ER) は、HLM では 0.90、RLM では 0.92 であった。また、いずれのマイクロソーム反応液からも、MA やその代謝物は検出されなかった。一方で、計 7 種の代謝物 (M5-D1, D2 および M6~10) が HLM または RLM から検出された (図 6)。また、HLM では反応開始から 8 分で、それまでに消失した BocMA (初期濃度の 80%に相当) のうち、14%が M5 として検出され、RLM では反応開始から 3 分で、それまでに消失した BocMA (初期濃度の 83%に相当) のうち、45%が M5 として検出された。

ラットへの投与試験の結果、BocMA、M5-D1, M5-D 2, M7 および M9 がラットの尿から検出され、MA およびその代謝物、M6、M8 ならびに M10 はいずれの尿試料からも検出されなかった。M5-D1、M5-D2 および M9 のグルクロン酸抱合体と推測される代謝物もラット尿中から検出された。

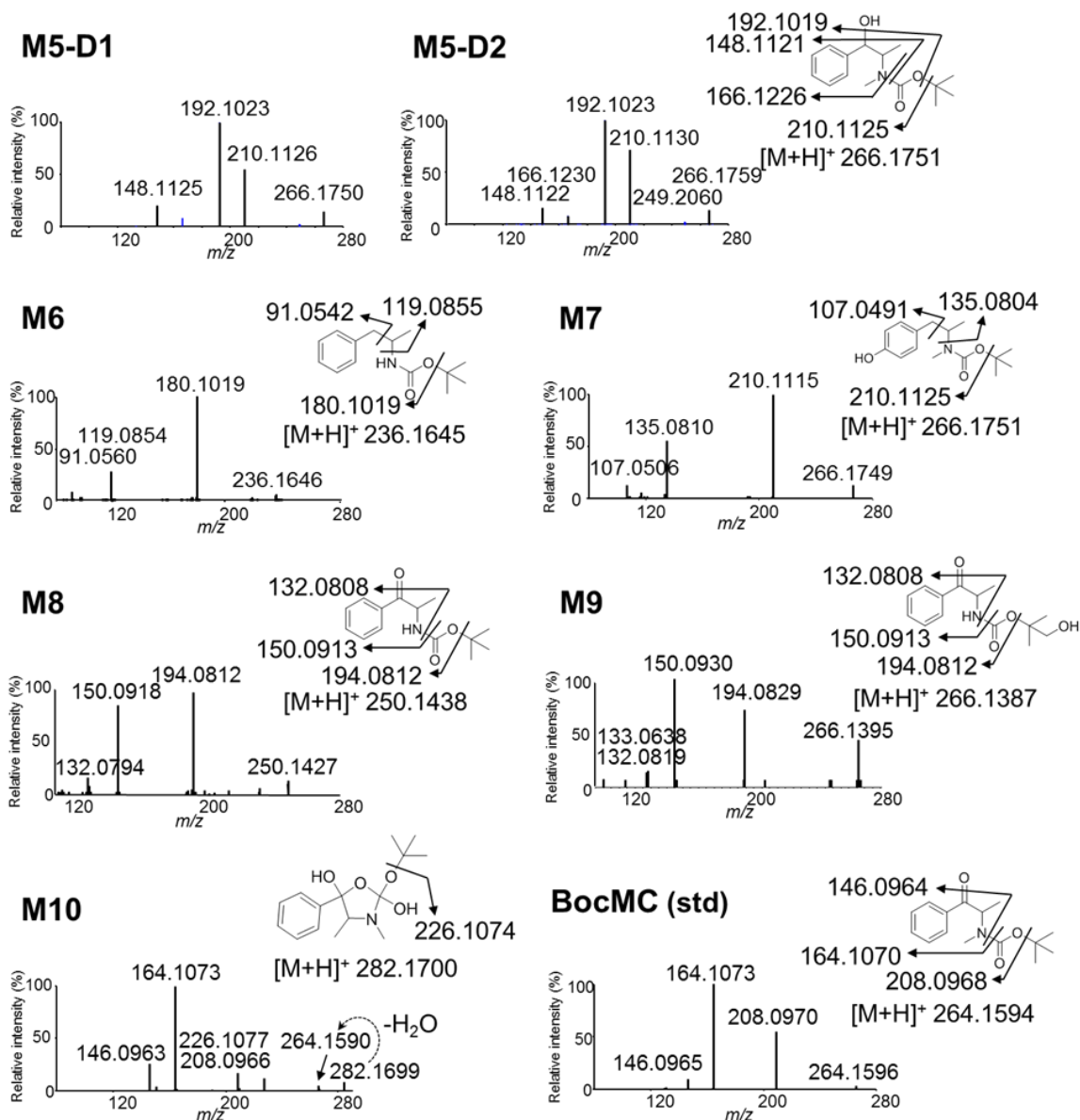


図6. BocMA 代謝物 M5~10 および標準品 (BocMC) のプロダクトイオンスペクトル

第4節 考察

(1) 代謝および尿排泄

肝ミクロソームによる代謝試験で算出された ER 値等から、経口摂取後に腸管吸収された BocMA は、初回通過効果を大きく受けることが示唆された。興味深いことに、ヒトおよびラットいずれにおいても、BocMA は MA に代謝されず、ベンジル位が水酸化された M5 (D1, D2)、N 脱メチル化された M6、フェニル基が水酸化された M7、ベンジル位のカルボニル化と N 脱メチル化された M8、M8 の *tert*-butyl 基が水酸化された M9、および Boc メトカチノン (BocMC) に関連する構造をもつ M10 を生成することが示唆された (図6)。また、M5 は BocMA の主代謝物であり、“BocMA→M5→M10→M8→M9” は BocMA の代謝経路の1つと考えられた (図7)。

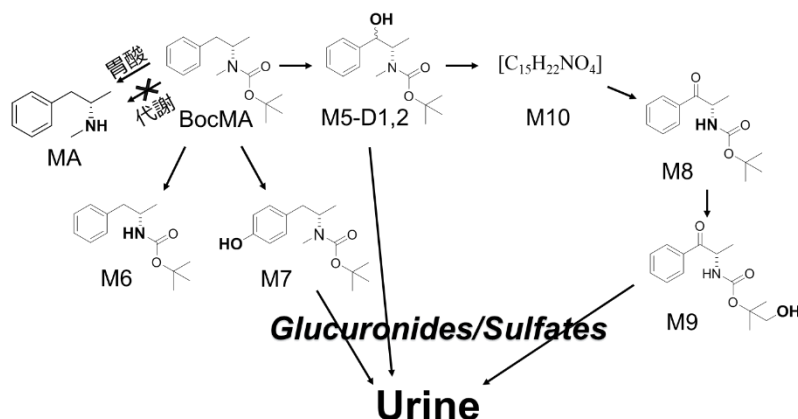


図7. ヒトおよびラットの BocMA 予想代謝経路図

(2) 摂取証明

実験結果から、BocMA は体内で MA に代謝されないことが強く示唆され、BocMA を静脈注射や粘膜吸収により摂取した場合、摂取者の血中および尿中に MA は存在しないことが予想される。一方、経口摂取した場合、既報に示す通り、BocMA は胃酸との反応により脱 Boc 化された MA に転換され吸収されるため、MA およびその代謝物が血中および尿中から検出されることが想定される。しかしながら、胃酸で分解されずに体内へと吸収された BocMA の特異的代謝物の存在が、MA 摂取との識別を可能にすることも十分考えられる。また、BocMA は極めて肝代謝を受けやすい物質と考えられ、未変化体とともに M5~10 を分析対象とすることで、BocMA の摂取証明ができるものと期待される。ただし、BocMA および一部の代謝物は脂溶性が高く、尿中排泄量が少ない可能性がある。従って、裁判化学で摂取証明に汎用される尿試料を分析する場合は、比較的極性が高く尿中排泄され易いと考えられる代謝物 (M5, M7, M9 およびそれらの抱合体) を指標とすることが望ましいと考えられる。

総括・結論

筆者は、「危険ドラッグの摂取証明を目的とした代謝および排泄の研究」を行うことで、以下の結論を得た。①危険ドラッグの摂取者の尿試料について、CATs の芳香環置換誘導体 3 種 (4F- α -PVP, 4MeO- α -PVP, α -PVT) および代謝物の定性・定量分析を行うことで、芳香環の構造が PPs の代謝経路に与える影響を明らかにし、摂取証明に有用な代謝物とともに、②SCs の影響下で交通事故を起こした運転手の尿および血液試料を定量分析することで、官能基や脂溶性が生体試料中の未変化体濃度を与える影響について考察し、摂取証明に有用な生体試料 (選択や採取時期) を示した。③潜在的覚醒剤プロドラッグ BocMA について、ミクロソーム代謝試験とラットへの投与試験により代謝・排泄の検討を行い、Boc MA の代謝・排泄経路について考察し、MA 摂取と BocMA 摂取の識別に有用な代謝物を示した。

以上の結果、本研究は新たな規制薬物 (PPs, SCs, BocMA) の排泄・代謝挙動の解明に寄与するとともに、摂取証明に有用な分析対象となる代謝物を示し、生体試料の選択や分析手法を確立した。また、今後流通する新規構造アナログの代謝・排泄の予測への活用も期待され、今後の薬物事犯の取り締まりに大きく貢献するものと考えられる。

論文審査の結果の要旨

乱用薬物は覚醒剤取締法、麻薬及び向精神薬取締法、大麻取締法により、所持・使用等が厳しく規制されている。しかし近年、既存薬物の化学構造を一部改変させたデザイナーズドラッグ（危険ドラッグ）が蔓延し、改めて社会問題となっている。これらの化学物質の摂取証明には尿試料が用いられるが、多種に渡る危険ドラッグの代謝・排泄に関する知見は少ない。そこで本研究では、危険ドラッグの代謝・排泄に影響する官能基等の化学的特徴を検証し、摂取証明に利用可能な代謝物や生体試料を明らかにすることを試みた。

第1章においては、覚醒剤と類似の化学構造を有するカチノン誘導体の検討を行った。1-phenyl-2-(pyrrolidin-1-yl)pentan-1-one (α -PVP) の誘導体である 4F- α -PVP、4MeO- α -PVP、2-(pyrrolidin-1-yl)-1-(thiophen-2-yl)pentan-1-one (α -PVT) が検出された鑑定嘱託尿試料を用い、それらに含まれる各種代謝化合物を液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析法にて同定した。その結果、いずれの化合物においても主にケトン基がヒドロキシ化されたアルコール体 (M1) 及びピロリジン環にケトン酸素が付加された酸化体 (M2) として検出された。これらに加えて、4MeO- α -PVP については、メトシキフェニル基が脱メチル化されたフェノール化合物 (M3) が、 α -PVT ではチエニル基が水酸化された化合物 (M4) が検出された。鑑定嘱託尿試料中の各未変化体化合物及び代謝化合物の定量を行ったところ、4F- α -PVP は主に未変化体と M1 体として検出されたのに対し、4MeO- α -PVP は未変化体と M3 体、 α -PVT は M2 体と M4 体が多く検出された。

第2章では、合成カンナビノイド類 (SCs) の尿中排泄の検討を行った。鑑定委託尿試料に含まれていた 16 種類の SCs について、化学構造的特徴から計算オクタノール／水分配係数 (ClogP) を計算し、血中濃度と尿中排泄量との相関を調べた。その結果、高い脂溶性を有する薬物は尿排泄されにくく、水溶性の高いものは排泄されやすいことが分かった。また、尿中に排泄されることで検出される化合物は ClogP が 4~5 以下であることが分かった。一方、血中においては ClogP 値に関わらず全ての化合物が検出された。以上のことから、薬物の ClogP 値が尿試料中に検出されるかの目安となることが分かった。

第3章では、メタンフェタミンのプロドラッグである *N*-*tert*-butoxycarbonyl メタンフェタミン (BocMA) の代謝及び尿中排泄の検討を行った。その結果、BocMA は肝初回通過効果を大きく受けること、その代謝産物は主にベンジル基がヒドロキシ化されたものであり、MA へは代謝されないことが分かった。また未変化体化合物、代謝化合物ともに尿中への排泄率は非常に低く、これらは脂肪組織に移行しやすい、または主に糞便中に排泄されると考えられた。

以上、本研究は、現在社会的に問題となっている危険ドラッグ及びプロドラッグの代謝と排泄に関して、化学構造的特徴との関連性を明らかにしたものである。本研究の成果は、既存薬物のみならず今後流通する新規薬物の排泄挙動を予測するにあたり有用な知見を提供するものである。

上記の論文は博士（薬学）論文として、適当と判定する。