

トリプタミン系違法薬物の体系的な 分析法開発に関する研究

中本 晃弘^{1,2)}, 奈女良 昭¹⁾, 八幡みどり²⁾,
倉本 孝子²⁾, 西田まなみ¹⁾, 屋敷 幹雄¹⁾

¹⁾ 広島大学大学院医歯薬学総合研究科展開医科学専攻病態情報医科学講座 (法医学)

²⁾ 広島県警察本部刑事部科学捜査研究所

受付 : 平成19年3月2日

受理 : 平成19年3月30日

近年, 外国人の流入増加や IT の発達と普及により, 違法薬物の入手が容易になり, 重要事件の原因となっている。これら違法薬物は化学的に同じ基本骨格を有するが, 置換基の異なる多種類の薬物が存在する。本稿では, 最近違法薬物として関心の高い 5-メトキシ-*N,N*-ジイソプロピルトリプタミンなどを含むトリプタミン系違法薬物に焦点を当て, 標準物質および内部標準物質 (IS) の合成, 迅速検査法の開発, ガスクロマトグラフ-質量分析計 (GC-MS) を用いた分析条件などを検討し, 分析システムを構築した。

トリプタミン系違法薬物を含む粉末試料は, 3種の試薬 (エールリッヒ, マルキス, シモン) による呈色反応で検査したところ, 覚せい剤や催眠薬など乱用される頻度の高い薬物24種類との識別が可能であった。また, 置換基の位置により同色調を示す傾向が観察された。

尿中の薬物をイオン合性試薬 (TBPE 試液) と抗原抗体反応による検査キットで検出したところ, TBPE 試液では 0.5-2.0 $\mu\text{g/ml}$ で, 検査キットでは α -メチルトリプタミン, 5-メトキシ- α -メチルトリプタミンが 5.0 $\mu\text{g/ml}$ 以上で検出可能であった。また, 尿中の薬物を重水素ラベル化した IS を用いて顆粒状珪土カラムによる抽出と TFAA 誘導体化後, GC-MS 分析したところ, 検出下限は 0.05 $\mu\text{g/ml}$, 直線性は 0.05-2.0 $\mu\text{g/ml}$, 相関係数は 0.981-0.999であった。尿中の薬物濃度 0.1と 1.0 $\mu\text{g/ml}$ での日内変動は 1.2-30%と 1.2-16%であり, 日間変動は 3.2-20%と 1.5-25%であった。

本研究で確立した分析システムは, 薬物捜査に貢献する一方, 中毒患者の治療方針決定の一助となることが期待される。また, これら検査法の普及により, 薬物乱用の未然防止にも役立つと考えられる。

Key words : 違法薬物, トリプタミン系違法薬物, 標準物質, 呈色反応, ガスクロマトグラフ-質量分析

覚せい剤や麻薬の乱用は, 幻覚・妄想などの精神障害を引き起こし, 殺人, 放火などの凶悪な犯罪や人身傷害を伴う交通事故などの重大事件の原因となり, 大きな社会問題のひとつである。本邦においては, 依然として覚せい剤の乱用が多数を占めるが, 外国人の流入増加や近年の IT の発達と普及により, 乱用される薬物も多様化している^{3,4)}。「覚せい剤取締法」, 「麻薬及び向精神薬取締法」, 「毒物及び劇物取締法」などの法律 (政令) で, これらの不正使用を規制しているが,

薬物が関与した事件が起こるたびに規制品目が追加されている状態である。最近では, サイロシピン, サイロシンを含有するきのご類 (通称, マジックマッシュルーム) が2002年6月麻薬原料植物に, α -メチルトリプタミン (AMT), 5-メトキシ-*N,N*-ジイソプロピルトリプタミン (5-MeO-DIPT) が2005年3月麻薬に, 亜硝酸イソブチル (通称, ラッシュ) など33種類の薬物が2006年11月指定薬物に指定された。しかし, これらの法律 (政令) では化学構造で薬物を規制して

いるため、化学構造の一部が変化することにより規制から外れる。規制薬物と同等あるいはそれ以上の薬理活性を持つ薬物の流通が後を絶たない。

これまで法医中毒学分野では、迅速性よりも確実性に重点を置いた機器を用いる分析法の開発を行ってきた。しかし、高価で特殊な機器を使用するため、手間と技術を要し、一般病院での検査に普及させるには困難であった。また、救急医療分野では、分析結果が得られるまでに時間を要するために、検査結果を参考とせず担当医の経験のみで治療が実施され、誤った処置が施されることが危惧されていた。これら薬物の流通や乱用を未然に防止し、社会秩序を維持するには、流通している粉末や乱用患者から得られた試料を迅速に検査するとともに如何なる薬物が関与しているかを推定、特定することが必要であり、急務な課題となっている。

ところで、これら薬物の摂取を証明するには、生体試料から目的とする薬物を抽出、精製することが不可欠である。尿、血液などの生体試料中薬物検査数は年々増加しているが、患者から採取できる尿、血液量は限られているため、少量の試料から正確かつ簡便に薬物を特定できる検査法の確立が必要である。そのためには、標準化された分析法の確立とともに規格化された（トレーサビリティのとれた）標準物質の安定供給が不可欠であるが、現状では医薬品一つをとっても満足に入手できない状態である。特に覚せい剤（なかでもアンフェタミン, AP）は、「覚せい剤取締法」によって「何人たりとも輸入できない」ために、規格化された標準物質が存在しない有様である。著者は、規格化された標準品の安定供給の第一歩として、APを合成し、独立行政法人製品評価技術基盤機構において純度検定などの品質評価を行い、NPO法人健康危機管理協会と協力して供給体制を構築した。

また、キャピラリー液体クロマトグラフの新しい分離素材として開発されたモノリス型キャピラリーカラム（C18で接合されたシリカ、以下モノリスと略す）¹⁸⁾を用いた固相抽出（SPE）法を開発し^{8,9)}、呈色反応および薄層クロマトグラフ（TLC）法と組み合わせることで尿中メタンフェタミン（MA）と代謝物であるAPの迅速な同時検出を可能とした。モノリスによるSPEは抽出溶媒を濃縮することなく、直接薄層板にスポットできるため、特殊な技能を必要とせず臨床現場での検出も可能と考える。また本法は、覚せい剤に限定された抽出法ではなく、他の薬物にも応用可能であるため、臨床現場での薬物検査に貢献できると考え、現在もその詳細を検討中である。

本稿では、化学構造を変化させた多種類の薬物が出回っているトリプタミン系違法薬物に焦点を当て、標準物質および分析用の内部標準物質（IS）の合成、呈色反応を用いた迅速検査法の開発、ガスクロマトグラフ質量分析計（GC-MS）を用いた生体試料中違法薬物の同定および定量法について検討したので報告する。

材料と方法

1. 試薬

AMTはAcros Organics社（Morris Plains, NJ, USA）、5-メトキシ-*N,N*-ジメチルトリプタミン（5-MeO-DMT）はSigma-Aldrich社（St. Louis, MO, USA）から購入した。5-メトキシ- α -メチルトリプタミン（5-MeO-AMT）、5-MeO-DIPT、5-メトキシ-*N*-メチル-*N*-イソプロピルトリプタミン（5-MeO-MIPT）、ジイソプロピルトリプタミン（DIPT）、ジプロピルトリプタミン（DPT）および4-アセチル-*N,N*-ジイソプロピルトリプタミン（4-Ac-DIPT）はインターネットを介して入手し、再結晶して使用した。5-メトキシ-*N,N*-ジノルマルプロピルトリプタミン（5-MeO-DPT）と重水素ラベル化した5-メトキシ-*N,N*-ジノルマルプロピルトリプタミン-*d*₁₄（5-MeO-DPT-*d*₁₄）は既報¹⁰⁾を参考にして合成した。これらトリプタミン系違法薬物の化学構造式をFig. 1に示す。5-メトキシトリプタミン（5-MeO-T）、1-ヨードプロパン、無水トリフルオロ酢酸（TFAA）およびテトラプロモフェノールフタレインエチルエステルカリウム塩（TBPE）は和光純薬（大阪、日本）、1-ヨードプロパン-*d*₇はCDN Isotopes社（Pointe Claire, QC, Canada）から購入した。TBPE試液は既報¹⁴⁾のとおり調製し、冷蔵保存した。その他の試薬、溶媒等は市販の特級品を使用した。

2. 材料

Accusign AMPおよびAccusign METはDrug Testing Australia社（Perth, WA, Australia）、TriageはBiosite Diagnostics社（San Diego, CA, USA）、粒子状珪藻土（商品名、Extrelut NT packing material）はMerck社（Darmstadt, Germany）から購入した。粒子状珪藻土は3倍量のジエチルエーテルで洗浄し、50℃で1時間乾燥した。洗浄した粒子状珪藻土2.0gをガラスカラム（145mm×9mm, i.d.）に充填し、抽出カラムを作製した。ブランクおよび添加試験に用いた尿は健康人から提供を受けた。

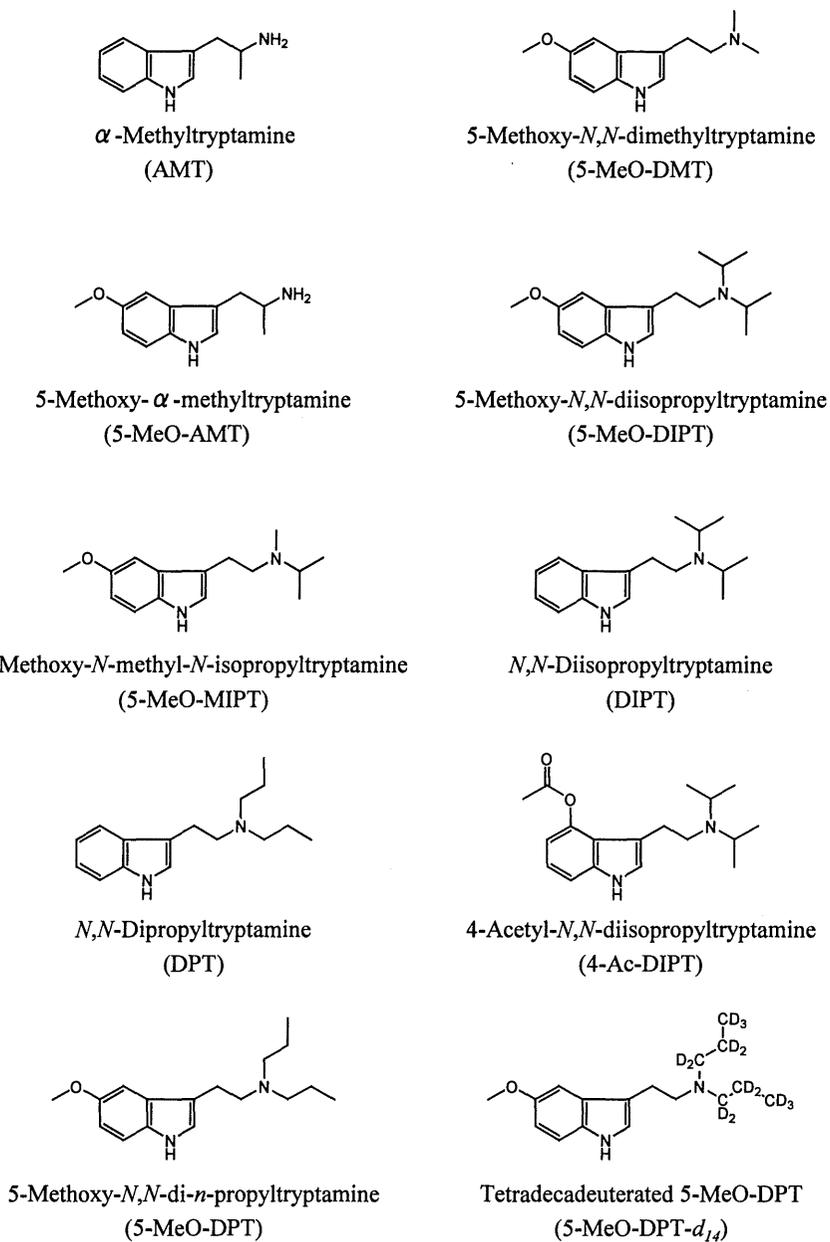


Fig. 1. Chemical structure and names of abused tryptamines

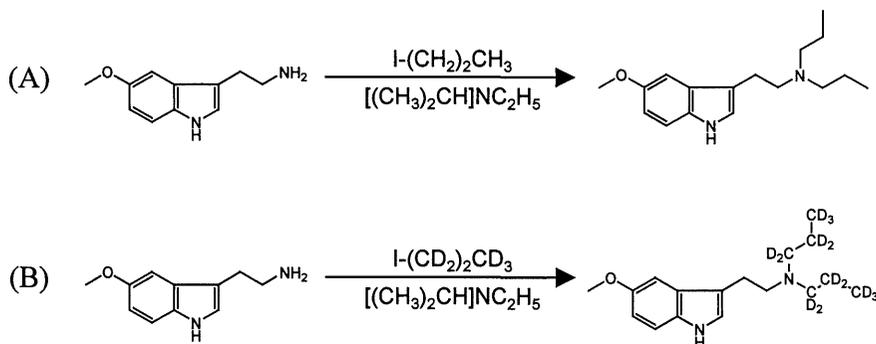


Fig. 2. Synthesis of standard substances: (A) 5-MeO-DPT, (B) 5-MeO-DPT- d_{14}

3. 標準物質の合成

合成経路を Fig. 2 に示す。5-MeO-DPT および 5-MeO-DPT- d_{14} は 5-MeO-T を *N,N*-ジイソプロピルエチルアミン存在下で 1-ヨードプロパンおよび 1-ヨードプロパン- d_7 と反応させて得た。展開溶媒に 2-ブタノン・ジメチルホルムアミド (DMF) (15 : 2, v/v) を用いた分取 TLC で目的成分を分取し, DMF を除くため, アルカリ性で液々抽出し精製を行った。精製物の確認は GC-MS で行った。

4. トリプタミン系違法薬物を含む粉末の呈色反応

エールリッヒ試液, シモン試液, マルキス試液での検出を検討した。呈色試液の調製法を下記に記す。検査する粉末 1~2mg を白色磁性板にとり, エールリッヒ試液, シモン試液, マルキス試液を 1~2 滴滴下し, 色調を観察する。

エールリッヒ試液¹³⁾ :

p-ジメチルアミノベンズアルデヒド 0.1g をエタノール・硫酸 (3 : 2, v/v) 混液 10ml に溶解する (用時調製)。

シモン試液¹⁵⁾ :

試液 A ; 炭酸ナトリウム 1g を蒸留水に溶解する。

試液 B ; ニトロプルシドナトリウム 0.2g を蒸留水 20ml に溶解し, アセトアルデヒド 2 滴を添加して攪拌する (冷蔵保存)。

* 試液 A, B の順で滴下する。

マルキス試液¹⁵⁾ :

硫酸 20ml に 37% ホルムアルデヒド液を 1 滴加える (冷蔵保存)。

5. 尿中トリプタミン系違法薬物の検出

1) イオン会合性試薬 (TBPE 試液) による呈色反応

尿 1ml にホウ酸緩衝液 (0.05M, pH10) 2ml 加えてアルカリ性とした後, TBPE 試液 50 μ l 加えて振とうする。しばらく静置した後, TBPE 試液の色調を観察する。

2) 抗原抗体反応を用いる検査キット^{10-12,19,23,24)}での検出

AMT, 5-MeO-AMT, 5-MeO-DIPT を尿中に添加し, 検査キット (Triage, Accusign AMP, Accusign MET) での検出について検証した。手順はそれぞれの取扱説明書のとおり行った。

6. 尿中トリプタミン系違法薬物の GC-MS 分析による同定および定量

1) 前処理

尿 0.5ml に 5-MeO-DPT- d_{14} (0.1mg/ml, IS) 5 μ l, Sorenson 緩衝液 (0.1M グリシン, 0.1M 塩化ナトリウム; pH11.0, 水酸化ナトリウム溶液で pH 調製) 1.0ml を加え混合する。混合液を抽出カラムに注ぎ, 薬物を吸着させる。室温で 10 分間放置した後, 酢酸エチル 6ml を徐々に注ぎ, 得られた溶出液を窒素気流下で蒸発乾固する。残さに TFAA 0.1ml を加え, 50 $^{\circ}$ C で 10 分加温する。窒素気流下で余剰の TFAA を留去した後, 酢酸エチル 0.2ml に再溶解し, GC-MS に 1 μ l 注入する。

2) 装置および分析条件

GC-MS は Agilent Technologies 社製 6890GC/5973MSD (Palo Alto, CA, USA), カラムは Agilent Technologies 社製 HP-5MS (長さ 30m, 内径 0.25mm, 膜厚 0.25 μ m) を使用した。オープン温度は, 50 $^{\circ}$ C で 1 分保持し, その後 15 $^{\circ}$ C/分 で 280 $^{\circ}$ C まで昇温し, 280 $^{\circ}$ C で 5 分保持

した。注入口温度は250℃、検出部温度は280℃とし、スプリットレス法により試料を注入した。キャリアーガスはヘリウム（127kPa）を用いた。イオン化は電子イオン化法（70 eV）で行い、検出質量範囲は m/z 50から400とした。定量性は 5-MeO-DPT- d_{14} -TFA を IS とする内部標準法により、検量線を作成して検討した。選択イオンには、5-MeO-DPT- d_{14} -TFA はペー

スピークの m/z 128, 5-MeO-DMT-TFA は m/z 58, 5-MeO-MIPT-TFA は m/z 86, DIPT-TFA, DPT-TFA, 5-MeO-DIPT-TFA, 5-MeO-DPT-TFA および 4-Ac-DIPT-TFA は m/z 114, AMT-TFA は m/z 226, 5-MeO-AMT-TFA は m/z 256, を選定し、各マスクロマトグラムにおけるピーク面積をそれぞれ測定した。

Table 1. The screening of drugs by spot tests

Compound	Ehrlich	Marquis	Simon
<i>Tryptamines</i>			
AMT	Purple	Yellow	–
DIPT	Purple	Yellow	–
DPT	Purple	Yellow	–
4-Ac-DIPT	Brown	Gray	–
5-MeO-AMT	Green	Dark yellow	–
5-MeO-DIPT	Green	Dark yellow	–
5-MeO-DMT	Green	Dark yellow	–
5-MeO-MIPT	Green	Dark yellow	–
5-MeO-T	Green	Dark yellow	–
Melatonin	Green	Dark yellow	–
6-MeO-T	Orange	Green	–
<i>Amphetamines</i>			
AP	–	Orange	–
Ephedrine	–	Orange	–
MA	–	Orange	Blue
Methoxyphenamine	Orange	Orange	Blue
Methylephedrine	–	Orange	–
<i>Agricultural chemicals</i>			
Carbaryl	–	Pale yellow	–
Chlorthiamid	–	Pale purple	–
Diuron	–	–	–
EPN	–	Pale yellow	–
SWEP	–	–	–
Xylycarb	–	–	–
<i>Benzodiazepines</i>			
Alprazolam	–	–	–
Bromazepam	Orange	Yellow	–
Diazepam	–	–	–
<i>Barbiturate</i>			
Amobarbital	–	–	–
Pentobarbital	–	–	–
Phenobarbital	–	–	–
<i>Tricyclic antidepressant</i>			
Amitriptyline	–	Dark red	–
Clomipramine	–	–	–
Imipramine	–	–	–
<i>Mineral</i>			
Sodium thiosulfate	–	Yellow	–

5-Methoxy-*N*-acetyl-tryptamine (Melatonin); 6-Methoxytryptamine (6-MeO-T); –, negative

結 果

1. 標準物質の合成

出発物質である 5-MeO-T を 150mg 用いて合成したところ, 5-MeO-DPT の収率は33%, 5-MeO-DPT-*d*₁₄ の収率は47%であった。

2. トリプタミン系違法薬物を含む粉末の呈色反応

覚せい剤や催眠薬など乱用される頻度の高い薬物と区別可能であるかを検討するため, 置換基の異なるその他のトリプタミン系薬物 3 種類, 覚せい剤類 5 種類, 農薬 6 種類, ベンゾジアゼピン系精神安定薬 3 種類, バルビツール酸系催眠薬 3 種類, 三環系抗うつ薬 3 種類, 無機塩 1 種類について検査した。その結果, Table 1 に示すように, 試験した全てのトリプタミン系違法薬物はエールリッヒ試液とマルキス試液で陽性, シモン試液で陰性であり, 呈色の色調から他の薬物類との識別が可能であった。また, トリプタミン系違法薬物及びその他のトリプタミン系薬物のマルキス試液およびエールリッヒ試液の呈色では, インドール環上の置換基の位置が同じ薬物は同色調を呈する傾向が観察され, 4 群に分類が可能であった。トリプタミ

ン系違法薬物のアセトニトリル溶液 (0.1ml) を 10, 50 $\mu\text{g/ml}$ に調製し, エールリッヒ試液およびマルキス試液での呈色下限を観察した (Table 2, 3 参照)。4-Ac-DIPT を除く全てのトリプタミン系違法薬物は, 10-50 $\mu\text{g/ml}$ の濃度範囲で検出可能であった。

3. 尿中トリプタミン系違法薬物のスクリーニング

1) イオン会合性試薬 (TBPE 試液) による呈色反応
トリプタミン系違法薬物を尿中に 0.5, 1.0, 2.0 $\mu\text{g/ml}$ になるように添加し, 試験した結果を Table 4 に示す。AMT, 5-MeO-AMT は試験した濃度範囲では検出されなかった。その他のトリプタミン系違法薬物は 1-2 $\mu\text{g/ml}$ の濃度範囲で検出可能であった。

2) 抗原抗体反応を用いる検査キットでの検出

TBPE 試液で検出されなかった AMT, 5-MeO-AMT と, これらと側鎖の異なる 5-MeO-DIPT について, 尿中にそれぞれ 5, 50 $\mu\text{g/ml}$ になるように添加し, 検証した結果を Table 5, 6 に示す。50 $\mu\text{g/ml}$ の濃度で, AMT は全ての検査キットで陽性, 5-MeO-AMT は AccuSign AMP で陽性, Triage, AccuSign MET で陰性, 5-MeO-DIPT は全て陰性だった。5 $\mu\text{g/ml}$ の濃度では, AMT が AccuSign AMP で陽性だった。

4. 尿中トリプタミン系違法薬物の GC-MS 分析による同定および定量

分析して得られた典型的なクロマトグラムを Fig. 3 に示す。それぞれのピーク分離は良好であり, 妨害となるピークも確認されなかった。また, 得られたマススペクトルも, 構造式から推定されるフラグメントイオンと一致した (Fig. 4A, B)。トリプタミン系違法薬物を尿中に 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1.0, 2.0 $\mu\text{g/ml}$ になるように添加し, 分析した結果を Table 7 に示す。検出下限はいずれも 0.05 $\mu\text{g/ml}$, 直線性は 0.05-2.0 $\mu\text{g/ml}$, 相関係数は 0.981-0.999 であった。Table 8 に示すよう

Table 2. Detection limits of tryptamines by Ehrlich's reagent

Compound	Conc. ($\mu\text{g/ml}$)		
	BL	10	50
AMT	-	+	+
DIPT	-	-	+
DPT	-	-	+
5-MeO-AMT	-	+	+
5-MeO-DIPT	-	-	+
5-MeO-DMT	-	+	+
5-MeO-MIPT	-	+	+
4-Ac-DIPT	-	-	-

BL, Blank test; +, positive; -, negative

Table 3. Detection limits of tryptamines by Marquis reagent

Compound	Conc. ($\mu\text{g/ml}$)		
	BL	10	50
AMT	-	-	+
DIPT	-	-	+
DPT	-	-	+
5-MeO-AMT	-	-	+
5-MeO-DIPT	-	-	+
5-MeO-DMT	-	-	+
5-MeO-MIPT	-	-	+
4-Ac-DIPT	-	-	-

BL, Blank test; +, positive; -, negative

Table 4. Limit of detection for screening of tryptamines in urine using TBPE

Compound	Conc. ($\mu\text{g/ml}$)		
	0.5	1.0	2.0
AMT	-	-	-
5-MeO-AMT	-	-	-
5-MeO-DIPT	-	+	+
5-MeO-DMT	-	+	+
5-MeO-MIPT	+	+	+
DIPT	-	+	+
DPT	-	+	+
4-Ac-DIPT	-	-	+

+, positive; -, negative

Table 5. Results for cross-reaction of tryptamines in urine (50 µg/ml)

Compound	Triage (AMP)	Triage (others)	AccuSign AMP	AccuSign MET
AMT	+	-	+	+
5-MeO-AMT	-	-	+	-
5-MeO-DIPT	-	-	-	-

+, positive; -, negative

Table 6. Results for cross-reaction of tryptamines in urine (5 µg/ml)

Compound	Triage (AMP)	Triage (others)	AccuSign AMP	AccuSign MET
AMT	+	-	+	-
5-MeO-AMT	×	×	-	×
5-MeO-DIPT	×	×	×	×

+, positive; -, negative; ×, not tested

Table 7. Limit of detection and linearity data for determination of tryptamines in urine

Compound	LOD (µg/ml)	Linearity (µg/ml)	Equation	Correlation Coefficient
AMT	0.05	0.05 - 2.0	$y = 0.971x - 0.006$	0.998
5-MeO-DMT	0.05	0.05 - 2.0	$y = 0.736x - 0.016$	0.998
5-MeO-AMT	0.05	0.05 - 2.0	$y = 0.537x - 0.017$	0.998
5-MeO-MIPT	0.05	0.05 - 2.0	$y = 1.186x - 0.031$	0.999
DIPT	0.05	0.05 - 2.0	$y = 0.779x + 0.020$	0.997
DPT	0.05	0.05 - 2.0	$y = 0.710x + 0.010$	0.997
5-MeO-DIPT	0.05	0.05 - 2.0	$y = 0.964x - 0.018$	0.999
5-MeO-DPT	0.05	0.05 - 2.0	$y = 1.030x - 0.010$	0.999
4-Ac-DIPT	0.05	0.05 - 1.0	$y = 0.387x + 0.017$	0.981

LOD, limit of detection

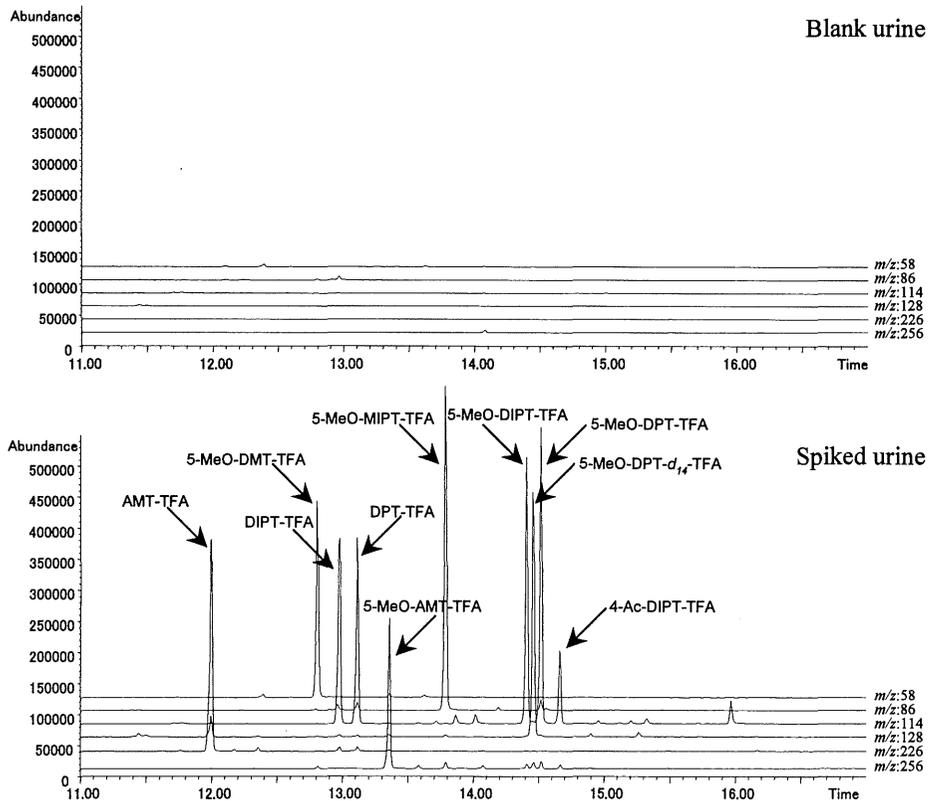


Fig. 3. Mass chromatograms of the extracts of blank urine and spiked urine

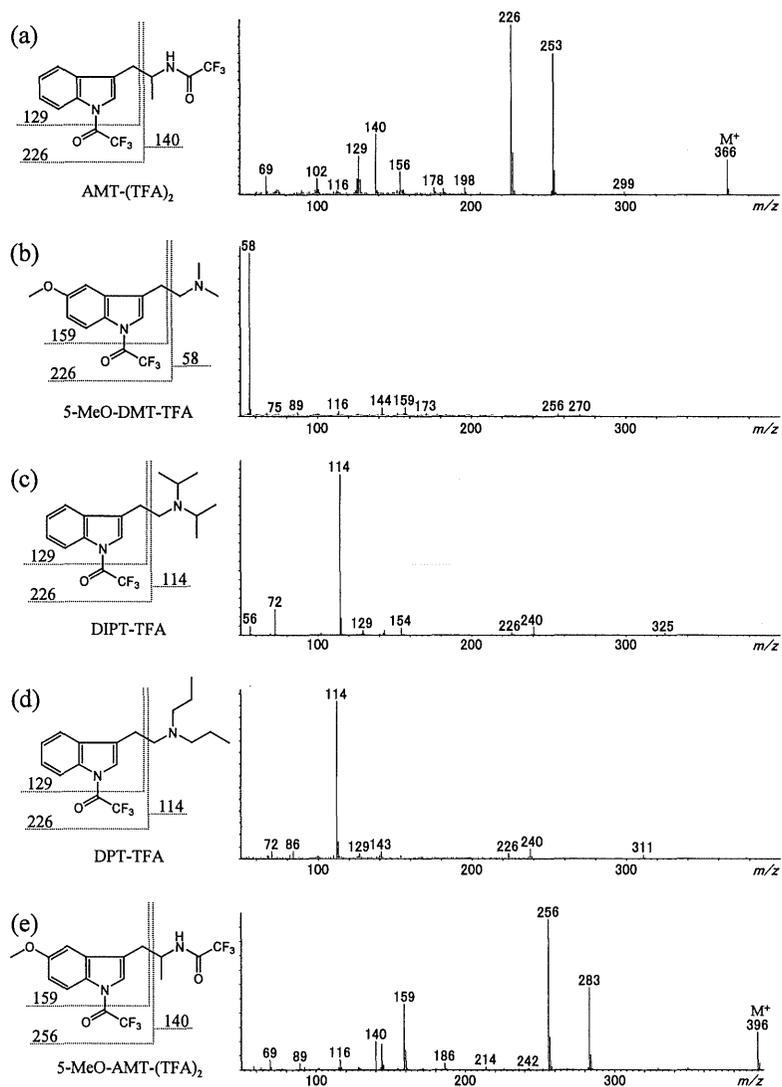


Fig. 4A. Spectra and structures of TFAA derivatives of (a) AMT, (b) 5-MeO-DMT, (c) DIPT, (d) DPT and (e) 5-MeO-AMT.

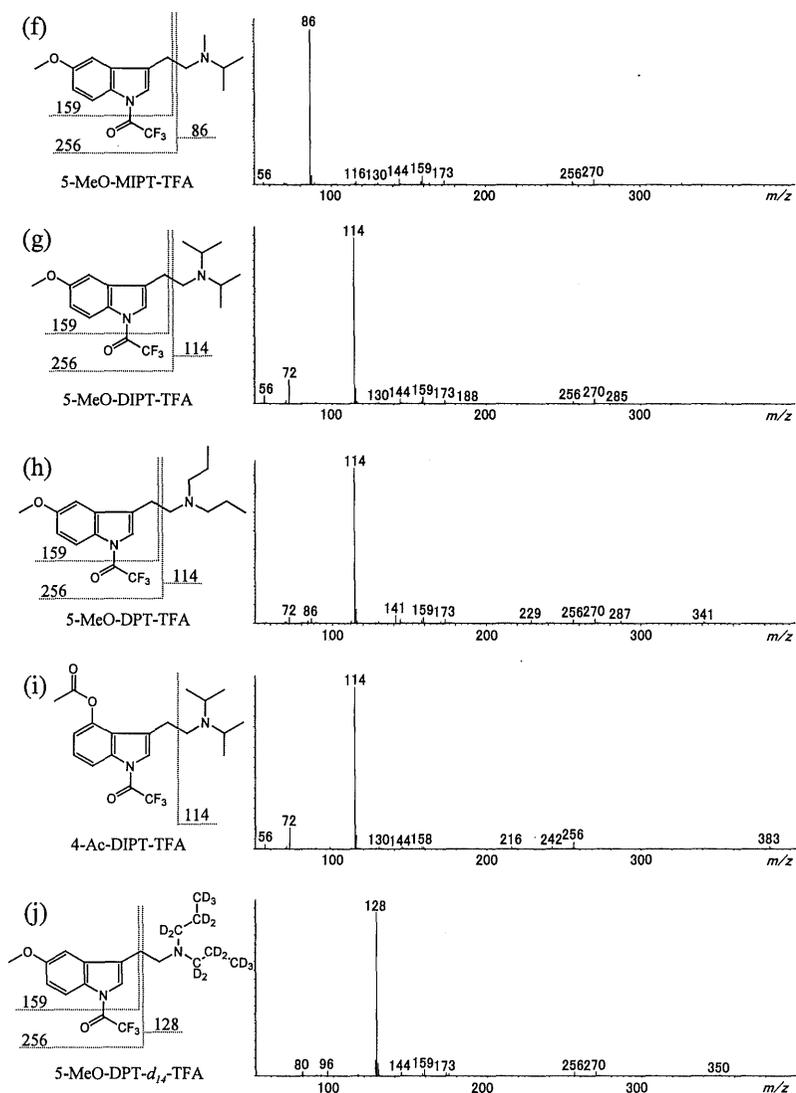


Fig. 4B. Spectra and structures of TFAA derivatives of (f) 5-MeO-MIPT, (g) 5-MeO-DIPT, (h) DPT, (i) 4-Ac-DIPT and (j) 5-MeO-DPT-*d*₁₄.

Table 8. Accuracy, intraday and interday precision for tryptamines in urine

Compound spiked ($\mu\text{g/ml}$)	Intraday ^a ($n=5$)		Interday ^b ($n=15$)	
	Mean \pm SD	CV (%)	Mean \pm SD	CV (%)
AMT				
0.1	0.12 \pm 0.01	12	0.11 \pm 0.01	10
1.0	1.07 \pm 0.04	3.9	0.94 \pm 0.08	8.3
5-MeO-DMT				
0.1	0.07 \pm 0.01	9.6	0.06 \pm 0.01	16
1.0	0.72 \pm 0.06	9.0	0.75 \pm 0.08	10
5-MeO-AMT				
0.1	0.05 \pm 0.002	5.1	0.05 \pm 0.003	6.2
1.0	0.58 \pm 0.01	2.2	0.53 \pm 0.03	5.8
5-MeO-MIPT				
0.1	0.10 \pm 0.002	2.1	0.10 \pm 0.01	6.1
1.0	1.24 \pm 0.04	2.9	1.24 \pm 0.05	4.0
DIPT				
0.1	0.12 \pm 0.02	14	0.10 \pm 0.01	9.0
1.0	0.85 \pm 0.03	3.6	0.82 \pm 0.02	3.0
DPT				
0.1	0.09 \pm 0.01	11	0.09 \pm 0.01	7.6
1.0	0.75 \pm 0.03	3.5	0.76 \pm 0.02	2.6
5-MeO-DIPT				
0.1	0.09 \pm 0.001	1.2	0.10 \pm 0.004	4.1
1.0	1.03 \pm 0.02	2.0	1.03 \pm 0.03	2.6
5-MeO-DPT				
0.1	0.11 \pm 0.003	3.2	0.10 \pm 0.003	3.2
1.0	1.11 \pm 0.01	1.2	1.07 \pm 0.02	1.5
4-Ac-DIPT				
0.1	0.07 \pm 0.02	30	0.05 \pm 0.001	20
1.0	0.36 \pm 0.06	16	0.27 \pm 0.07	25

SD, standard deviation; CV, coefficient of variation

^a Intraday precision analysis was performed on a single day of analysis

^b Interday precision analysis was performed over five consecutive days

に尿中濃度 0.1, 1.0 $\mu\text{g/ml}$ での日内変動は1.2-30%, 1.2-16%であった。また, 尿中濃度 0.1, 1.0 $\mu\text{g/ml}$ での日間変動は3.2-20%, 1.5-25%であった。

5. トリプタミン系違法薬物による中毒事例

5-MeO-DIPT 中毒が疑われた事例について, 本法を適用した。詳細は既報¹⁶⁾に示すとおりである。事例概要は70歳, 男性が性的目的で5-MeO-DIPTと思われる粉を水に溶かして肛門に注入された。間もなくして, 失禁, 痙攣を起し, 意識不明となり泡をふきだしたため, 直ちに病院に搬送された。麻薬使用の疑いもたれたため, 同日採取された尿と使い残した水溶液に

ついて分析した。患者が5-MeO-DIPTを使用した旨を申し立てていたことと, 採取出来た検査試料が少量であったことから, GC-MS分析による同定と定量を行ったところ, 予想された5-MeO-DIPTは検出されず, 5-MeO-DPTが検出された。尿中の5-MeO-DPT濃度は0.37 $\mu\text{g/ml}$ だった。

考 察

合成する際に参考にした既報¹⁶⁾は5-MeO-Tと2-ヨードプロパンから5-MeO-DIPTを合成する方法である。入手出来なかった標準物質(5-MeO-DPT)と重水素ラベル化した内部標準物質(5-MeO-DPT-*d*₁₄)の

合成を目的に、2-ヨードプロパンを1-ヨードプロパン、1-ヨードプロパン- d_7 に置き換え合成したところ、分析するための標準物質として充分量が得られた。そのため、収率、精製法の改善策を検討していない。中毒事例を検査した当時、5-MeO-DIPT は麻薬に指定されていたが、5-MeO-DPT は麻薬に指定されていなかった。これら構造異性体は呈色反応、GC-MS といった機器分析でもその差異は少なく、標準物質の入手が重要な問題となった。今回作成した分析手法に用いた標準物質は購入可能なものもあったが、規制薬物の入手は難しく、入手できないものは合成した。このことから、国内において薬毒物分析の安定化、標準化の為に入手の難しい違法薬物の標準物質の供給が必要と考える。

呈色反応は迅速かつ簡便で、粉末や溶液中の薬物推定に有用であると考えられる。エールリッヒ試液はインドール骨格を持つ化合物の呈色試薬として使われているが、活性メチレンと反応するため²⁾、トリプタミン系違法薬物の特異的呈色試薬ではない。そのため、覚せい剤や麻薬類の呈色試験に汎用されているシモン試液、マルキス試液による呈色反応と組み合わせることで、確度高くトリプタミン系違法薬物の検出が可能となった。また同時に、マルキス試液およびエールリッヒ試液での呈色色調から、インドール環上の置換基の位置が推測できることを確認した。本法での検出下限は、粉末で数 mg、溶液で 10~50 $\mu\text{g/ml}$ である。乱用者の使用するトリプタミン系違法薬物の濃度が数百 $\mu\text{g/ml}$ ~数 mg/ml であることを考慮しても、充分検出可能な感度であった。これら薬物により急性中毒が発生した際は、遺留物などから迅速に有用な情報が提供できるものと考えられる。

一方、尿、血液などでは、生体成分が呈色試薬と反応して薬物の検出ができなかった。そこで、尿中トリプタミン系違法薬物の検出をイオン会合性試薬 (TBPE 試液) と、抗原抗体反応による検査キットで検討した。TBPE 試液はアルキルアミン類および第 4 級アンモニウムイオンとイオン会合体を形成して呈色するため⁶⁾、迅速に尿中のトリプタミン系違法薬物が検出できると考える。尿中トリプタミン系違法薬物の迅速検査法が存在しない現状では、有効な方法であると考えられる。抗原抗体反応を用いる検査キットは、その扱いの容易さから汎用されているが、トリプタミン系違法薬物の検出の有無は確認されていない。トリプタミン系違法薬物も脂肪族アミノ基を持つことから AP、MA の項目で交差反応を起こすことが考えられ、尿中薬物の検出に利用できる可能性がある。今回試験した

結果、AMT、5-MeO-AMT は AP の検査キットに陽性を示したが、5-MeO-DIPT は陰性であった。以上から、TBPE 試液による呈色反応と抗原抗体反応による検査キット AccuSign AMP を組み合わせることで、迅速に尿中トリプタミン系違法薬物の有無を知ることが可能と考える。

以上から、粉末の呈色反応、尿中迅速検査で、トリプタミン系違法薬物の有無が推定可能となったが、薬物摂取の有無と摂取した薬物を同定するには生体試料からの GC-MS 法による同定および定量が不可欠である。また、どこの検査機関が実施しても同様な定量値の得られる標準化された分析法が必要である。生体試料から薬物を抽出、精製するには、溶剤抽出法や固相抽出法が用いられる。血液や臓器など液々抽出では操作中に乳化しやすいサンプルであることから、それを避けるため、顆粒状珪藻土カラムを用いる抽出法を選択した。顆粒状珪藻土カラムは、市販の固相抽出剤に比べ安価であり、乳化を起こさない利点を有する。トリプタミン系違法薬物などのアミン性薬物を GC で分析する場合、分析精度の向上などを考慮して誘導体化する例が多い。誘導体化については、AMT と 5-MeO-DIPT の分析で、無水酢酸を用い AMT のみを誘導体化する手法を報告している⁷⁾。本研究では、置換基が様々な異なる種類の薬物を対象とし、ピーク形状の改善と定量性の向上を目的に、TFAA によるアシル化と N,O-ビス (トリメチルシリル) トリフルオロアセトアミドとトリメチルクロロシランを組み合わせた試薬 (BSTFA+TMCS, 99:1, v/v) によるトリメチルシリル (TMS) 化を検討した。TFAA, BSTFA, TMCS はいずれも安価であり、今後増加するであろう検体数の増加にも経済的に耐え、また、揮発性が高いため分析機器にも負担が軽い。TFAA によるアシル化は対象としたトリプタミン系違法薬物の全てで可能であったが、BSTFA+TMCS による TMS 化は AMT, 5-MeO-AMT が誘導体化されなかったため、TFAA によるアシル化を採用した。再現性 (CV 値) については、IS として使用した 5-MeO-DPT- d_{14} に構造の類似する 5-MeO-DPT, 5-MeO-DIPT などはいずれもよい値を示したが、AMT, 4-Ac-DIPT などは 10% を超えた。トリプタミン系違法薬物などデザイナードラッグと呼ばれる違法薬物は化合物の骨格は同じであるが、置換基や側鎖等が異なり様々な性質の化合物が多く存在することから、IS を 1 つ用いた今回の方法では CV 値にばらつきが見られたものと考えられる。

実際の中毒事例では、患者が 5-MeO-DIPT を使用した旨を述べていたが、5-MeO-DIPT を検出することは

できなかった。GC-MS で中毒物質と思われるピークの保持時間は14.52分で、5-MeO-DIPT の保持時間14.40分に近く、得られたマススペクトルは、5-MeO-DIPT のマススペクトル (Fig. 4 参照) に酷似しており、関連化合物であることが推測された。しかし、得られたマススペクトルには、5-MeO-DIPT にない m/z 86 のフラグメンテーションが観察された。マススペクトルを精査した結果、 m/z 86 は 5-MeO-DIPT の構造異性体である 5-MeO-DPT の側鎖の β 開裂とマクラファティ転位に由来するものと推定されたため、5-MeO-DPT を合成して確認した。5-MeO-DIPT 中毒事例の尿中濃度は $1.7 \mu\text{g/ml}^{15}$ 、 229ng/ml^{20} 、 $1.6 \mu\text{g/ml}^{21}$ 、 $1.67 \mu\text{g/ml}^{17}$ と報告されているが 5-MeO-DPT 中毒事例は著者らの報告が初めてであった。5-MeO-DPT の中毒量は不明であるが、5-MeO-DPT の尿中濃度 $0.37 \mu\text{g/ml}$ は 5-MeO-DIPT 中毒事例^{5,17,20,21} と近い濃度であり、今後起こりうるトリプタミン系違法薬物中毒の際に参考になるものと考えられる。

本研究成果により、標準物質の入手が可能となり、体系的な迅速検査法および同定定量法が普及すると期待する。その結果として、捜査の早期解決に貢献し、中毒患者の治療方針決定の一助となることが期待される。また、違法薬物を迅速に検査できることが広く衆知されることにより、薬物乱用の未然防止にも役立てることができ、社会秩序の維持と国民の安全安心に貢献できるものと考えられる。

謝 辞

稿を終えるに際し、御指導を賜りました鹿児島大学工学部 染川賢一教授、科学警察研究所 井上博之博士、金森達之博士に深甚なる謝意を表します。

参 考 文 献

1. Ishida, T., Kudo, K., Kiyoshima, A., Inoue, H., Tsuji, A. and Ikeda, N. 2005. Sensitive determination of alpha-methyltryptamine (AMT) and 5-methoxy-*N,N*-diisopropyltryptamine (5MeO-DIPT) in whole blood and urine using gas chromatography-mass spectrometry. *J.Chromatogr.B.* 823 : 47-52.
2. 菅野三郎, 福井昭三(編) 1994. 薬毒物の衛生化学. 廣川書店, 東京
3. 小島 尚, 宮澤眞紀, 石川哲也, 高柳栄郎, 浅谷秀行, 土井佳代 2004. いわゆる“ケミカルドラッグ”の実態調査の結果. *中毒研究* 17 : 71-72.
4. 小島 尚, 宮澤眞紀, 高柳栄郎, 清水 明, 土井佳代 2005. いわゆる“ケミカルドラッグ”の

現状—表示名称と含有成分の相違—, *中毒研究* 18 : 83-85.

5. Meatherall, R. and Sharma, P. 2003. Foxy, a designer tryptamine hallucinogen. *J.Anal.Toxicol.* 27 : 313-317.
6. 本水昌二, 岩知道正, 桐栄恭二 1980. イオン会合性試薬とその応用. *ぶんせき* 64 : 234-243.
7. Nakamoto, A., Namera, A., Nishida, M., Yashiki, M., Kuramoto, T. and Kimura, K. 2007. Identification and quantitative determination of 5-methoxy-*N,N*-di-*n*-propyltryptamine in urine by isotope dilution gas chromatography-mass spectrometry. *Forensic Toxicol.* (in press)
8. Nakamoto, A., Namera, A., Nishida, M., Yashiki, M., Kuramoto, T., Takei, Y., Furuno, M., Minakuchi, H., Nakanishi, K. and Kimura, K. 2006. Monolithic silica capillary column extraction of methamphetamine and amphetamine in urine coupled with thin-layer chromatographic detection. *Forensic Toxicol.* 24 : 75-79.
9. Namera, A., Nakamoto, A., Nishida, M., Yashiki, M., Kuramoto, T., Takei, Y., Furuno, M., Minakuchi, H., Nakanishi, K. and Kimura, K. 2004. Monolithic silica capillary column as a new tool for extraction of methamphetamine in urine. *Jpn. J.Forensic Toxicol.* 22 : 200-204.
10. 奈女良 昭, 西田まなみ, 屋敷幹雄, 片木宗弘, 土橋 均, 魚住 勝, 小嶋 亨 2002. 乱用薬物スクリーニング検査キット TriageR の再評価—麻黄成分による交差反応の改善. *医学と薬学* 47 : 669-672.
11. 奈女良 昭, 屋敷幹雄, 岩崎泰昌, 小嶋 亨, 大谷美奈子, 津久江一郎 1998. 乱用薬物スクリーニング検査キット TriageR の臨床的有用性の評価—第 2 報—. *医学と薬学* 40 : 175-180.
12. 奈女良 昭, 屋敷幹雄, 岡田加奈子, 岩崎泰昌, 小嶋 亨, 大谷美奈子, 津久江一郎 1997. 乱用薬物スクリーニング検査キット TriageR の臨床的有用性の評価. *医学と薬学* 37 : 723-731.
13. 日本薬学会(編) 1992. 薬毒物化学試験法と注解. 南山堂, 東京.
14. 日本薬学会(編) 2006. 薬毒物試験法と注解2006. 東京化学同人, 東京
15. O'Neal, C.L., Crouch, D.J. and Fatah, A.A. 2000. Validation of twelve chemical spot tests for the detection of drugs of abuse. *Forensic Sci. Int.* 109 : 189-201.
16. Shulgin, A. and Shulgin, A. 1997. 5-MeO-DIPT, p.527-528. *In* TiHKAL. Transform Press, Berkeley, CA.
17. Tanaka, E., Kamata, T., Katagi, M., Tsuchihashi, H. and Honda, K. 2006. A fatal poisoning with 5-methoxy-*N,N*-diisopropyltryptamine, Foxy.

- Forensic Sci. Int. 163 : 152-154.
18. **Tanaka, N., Kobayashi, H., Nakanishi, K., Minakuchi, H. and Ishizawa, N.** 2001. A new type of chromatographic support could lead to higher separation efficiencies. *Anal. Chem.* 73 : 421A-429A.
 19. **Tomaszewski, C., Runge, J., Gibbs, M., Colucciello, S. and Price, M.** 2005. Evaluation of a rapid bedside toxicology screen in patients suspected of drug toxicity. *J. Emerg. Med.* 28 : 389-394.
 20. **Vorce, S.P. and Sklerov, J.H.** 2004. A general screening and confirmation approach to the analysis of designer tryptamines and phenethylamines in blood and urine using GC-EI-MS and HPLC-Electrospray-MS. *J. Anal. Toxicol.* 28 : 407-410.
 21. **Wilson, J.M., McGeorge, F., Smolinske, S. and Meatherall, R.** 2005. A foxy intoxication. *Forensic Sci. Int.* 148 : 31-36.
 22. 屋敷幹雄, 小嶋 亨 1997. 検査室でできる麻薬および覚せい剤の検査法. *Medical Technology*, 25 : 337-341.
 23. 屋敷幹雄, 谷口隆則, 宮崎哲次, 小嶋 亨, 三上貴司, 岡林清司, 大谷美奈子 1994. TriageTM によるバルビツレート療法中止後の血清中バルビツレートの簡易・迅速分析. *救急医学* 18 : 115-118.
 24. **Yoshida, M., Akane, A., Nishikawa, M. and Tsuchihashi, H.** 2006. Triage test and HPLC assay for analysis of vegetamin, an antipsychotic agent, using gastric contents and blood specimens. *Legal Med.* 8 : 172-176.

A Systematic Toxicological Analysis for Hallucinogenic Tryptamines in Seized and Biological Materials

Akihiro NAKAMOTO^{1,2)}, Akira NAMERA¹⁾, Midori YAHATA²⁾,
Takako KURAMOTO²⁾, Manami NISHIDA¹⁾ and Mikio YASHIKI¹⁾

1) Department of Legal Medicine, Graduate School of Biomedical Sciences, Hiroshima University

2) Scientific Investigation Laboratory, Hiroshima Prefectural Police Headquarters

A systematic toxicological analysis for hallucinogenic tryptamines in seized and biological materials was developed.

First, there were domestic problem that it was difficult to obtain standard sample of a controlled substance for analysis. So the standard (5-MeO-DPT) that were not obtained and internal standard (5-MeO-DPT-*d*₁₄) were synthesized in our laboratory. Screening of powders was carried out using the combination of several spot test, Simon's, Marquis and Ehrlich's reagent. It was possible to distinguish from 24 kinds of abused drugs such as stimulants and psychotropic drugs. Also, the tendency that the same color tone was shown by the position of the substitution on the indole ring was observed. Screening of urine was carried out using ion association reagent (tetrabromophenolphthaleine ethyl ester) and immunoassay kits. For identification and quantitative determination in urine was carried out using isotope dilution gas chromatography-mass spectrometry. The calibration curves showed linearity in the range of 0.05-2.0 $\mu\text{g/ml}$. When urine samples containing two different concentrations (0.1 and 1.0 $\mu\text{g/ml}$) of the drugs were analyzed, the coefficients of variation for intraday and interday testing ranged from 1.2% to 30%.

The developed systematic methods for toxicological analysis would be contributed to the investigation and help for treatment of patients.