

原著

液体クロマトグラフ-飛行時間型質量分析計 (LC/Q-TOF/MS) を用いた

危険ドラッグのフラグメンテーション解析

小木曾俊孝・新谷依子・堀就英・梶原淳睦

危険ドラッグに起因する死傷事件・事故が大きな社会問題となって以来、撲滅に向けた様々な取り組みがなされているが、終息していないのが現状である。本研究ではLC/Q-TOF/MSを用いて様々な薬物成分を測定可能な分析法の開発とフラグメントイオン解析による構造推定を行うために、化合物の系統ごとにフラグメンテーションの傾向の解析を行った。その結果、危険ドラッグの分析法として有用な機器分析条件を確立し、精密質量を指標として用いることで同定精度を向上することができた。また、フラグメンテーションの傾向を多数見だし、フラグメントイオン解析による構造推定を行う上で重要な知見が得られた。

[キーワード：危険ドラッグ、LC/Q-TOF/MS、フラグメンテーション]

1 はじめに

危険ドラッグはかつて合法ドラッグなどと呼ばれ、使用の手軽さや入手の容易さから乱用が広まったとされている。日本においては1995年頃から危険ドラッグの販売が確認され、薬物の規制と新たな薬物の出現を繰り返す「イタチごっこ」の状態が続いてきた。特に、ハーブ系の危険ドラッグが出現以降、製品に含有される成分は多様化し、危険ドラッグに起因する死傷事件・事故が大きな社会問題となった。以来、撲滅に向けた様々な取り組みがなされている。政府による「危険ドラッグの乱用の根絶のための緊急対策」¹⁾では、販売店舗の一斉摘発等が行われ、2015年7月にはこれまでに確認されていたすべての販売店舗をなくすことに成功している²⁾。指定薬物の成分に対する法規制では、個別の成分において指定の迅速化がなされ、さらにカチノン類及び合成カンナビノイドに対して合計3回の包括指定がなされた。これにより、2017年7月現在2366種類の化合物が規制対象となっている³⁾。

これらの対策により、危険ドラッグに関連する事件・事故は減少したが、デリバリー販売や密輸などにより検挙者は未だに多いのが現状である⁴⁾。また、ガス状の新たなカテゴリーの薬物の出現や合成キットなど新たな販売手法も確認され、継続的な対応が必要となっている。

危険ドラッグの検査において、質量分析装置を用いた方法は微量の試料かつ複雑な夾雑成分を含んだ状態で分析が可能な方法として広く用いられている。一方で、測定結

果の確定には標準品との照合が必須であり、大部分の標準品が入手困難な危険ドラッグの分析では同定が困難な状況が多々予測され、検査に膨大な時間を要するという課題がある。

福岡県では2014年に「福岡県薬物の濫用防止に関する条例」を制定し、県内に流通するドラッグ製品の調査を行うとともに、分析・解析法の開発を行っている。本研究ではLC/Q-TOF/MSを用いた危険ドラッグの測定条件の開発を行った。また、標準品を所有していない化合物や未知化合物の構造をLC/Q-TOF/MSで測定した精密質量とマススペクトルから推定するための基礎的な知見として、現在所有している標準品を測定し、5種類の系統の危険ドラッグについてフラグメンテーションの傾向を解析したので報告する。

2 研究方法

2・1 標準品及び試薬

危険ドラッグの標準品は全てCayman製を使用し、指定薬物及びその類似物質を含め合計411種類を用いた。標準品はメタノールに溶解し、1 µg/mLに調製したものを測定に用いた。メタノール(LC-MS用)、アセトニトリル(LC-MS用)、蒸留水(LC-MS用)は関東化学製を用いた。1.0 Mギ酸アンモニウム溶液(高速液体クロマトグラフ用)、ギ酸(LC-MS用)は和光純薬製を用いた。

2・2 装置及び測定条件

測定装置はAgilent 6540 Accurate-Mass Q-TOF/Agilent

福岡県保健環境研究所 (〒818-0135 太宰府市大字向佐野39)
WEB公開資料:付表1
http://www.fihes.pref.fukuoka.jp/~kikaku/Reports/Report44/pdf/np44paper02_appendix01.pdf

表1 LC/Q-TOF/MS の分析条件

カラム	: Atlantis T3, 3 μm, 2.1×75 mm (Waters 製)		
カラム温度	: 40°C		
移動相	A : 10 mM ギ酸アンモニウム溶液(pH 3)		
	B : アセトニトリル		
グラジエント	時間(min)	A (%)	B (%)
	0	95	5
	2.5	95	5
	20	0	100
	22.5	0	100
流量	: 0.2 mL/min		
注入量	: 1 μL		
イオン化法	: ESI 法(ポジティブモード)		
乾燥ガス温度	: 300°C		
乾燥ガス流量	: 10 L/min		
ネブライザガス	: 50 psig		
シースガス温度	: 400°C		
シースガス流量	: 12 L/min		
キャピラリー電圧	: 4000 V		

1290 Infinity LCを使用し、表1の条件で測定を行った。

2・3 フラグメンテーションの傾向解析

LC/Q-TOF/MSを用いて測定した指定薬物及びその類似物質411種類の中から5系統(カチノン類: 94化合物、合成カンナビノイド: 211化合物、トリプタミン類: 20化合物、フェネチルアミン類: 32化合物、フェンタニル類: 13化合物)に分類される化合物について、系統ごとにフラグメンテーションの傾向を解析した。

3 結果及び考察

3・1 LC/Q-TOF/MSを用いた分析法の開発及び精密質量を用いた化合物の識別

調製した各種標準溶液を用いて、UPLC カラム、グラジエント条件等を検討し表1に示す条件を設定した。この条件を用いて物性・構造等が異なる様々な化合物(合計 411種類)を測定した結果、全ての化合物についてテーリングなどは見られず良好に検出可能であり、危険ドラッグの分析法として有用であると考えられた。図1には代表的な合成カンナビノイドである AB-FUBINACA の分析例を示した。付表1には本分析法で測定した 411 物質の化合物名、保持時間、精密質量等の測定結果を示した。(付表1は当所 HP に掲載)

LC/Q-TOF/MS を用いる分析上の利点として化合物の精密質量を測定可能であることが挙げられる。指定薬物の物質数は包括指定等により増加し、分子量の差がきわめて小さい化合物の組み合わせが多数存在し同定を困難とする要因となっている。この課題に対して、精密質量を指標とする分析が有効な手段となるか確認を行った。各標準品を測定した結果、理論値と測定値の誤差は一部の化合物を除いて概ね 10 ppm 未満であった。この結果は、図2に示す

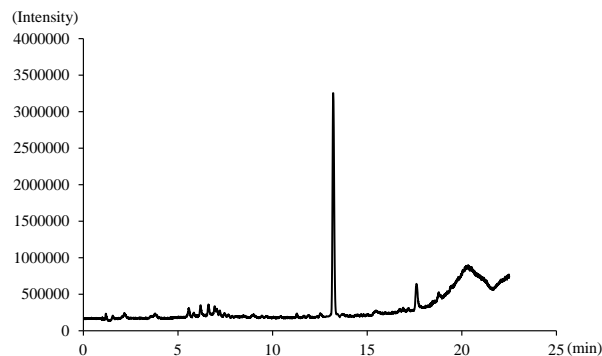


図1 AB-FUBINACA のクロマトグラム(TIC)

ような分子量の差が小さい薬物成分同士であっても、標準品と照合することなく、LC/Q-TOF/MS で測定するのみで候補を絞ることが可能であることを示しており、危険ドラッグ分析にきわめて有効な方法と考えられた。

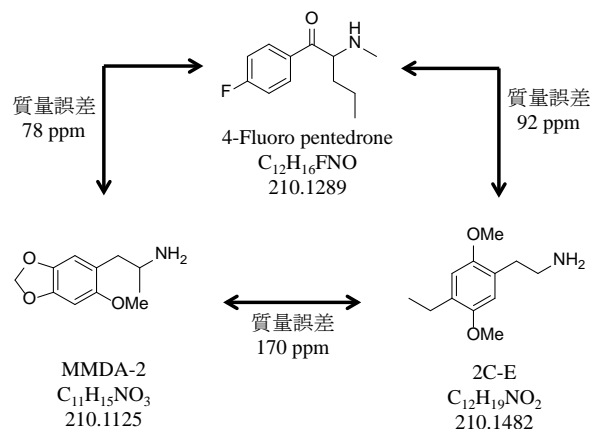


図2 精密質量による化合物の識別例

3・2 フラグメンテーションの傾向解析

3・2・1 カチノン類のフラグメンテーション解析

カチノン類は指定薬物の物質数の 50%以上を占める主要な化合物群である。94 種類のカチノン類についてフラグメンテーションを解析した結果、図3に示すカルボニル基の α 位及び、窒素原子の α 位で開裂した 3 種類のフラグメントイオン(Fragment 1~3)が強い強度で検出されやすいことが分かった。また、構造にピロリジン環を含む化合物の場合には、コリジョン電圧を上げるに従ってピロリジン環に相当する Fragment 4 が検出され、Fragment 2 の構造を推定する上で重要な所見と考えられた。

図4には測定・解析の例として 4-methoxy PV9 の結果を示した。マススペクトルがこれまでに見いだしたフラグメンテーションの傾向と一致しており(図5)、検出されたフラグメントイオンの精密質量も理論値と高い精度で一致した(表2)。また、Fragment D の強度変化を図6に示した。

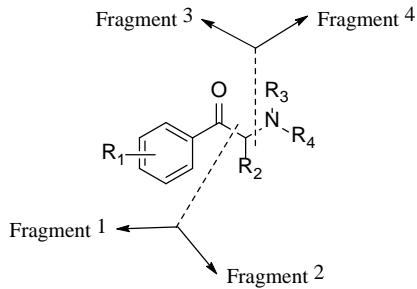


図3 カチノン類のフラグメンテーション

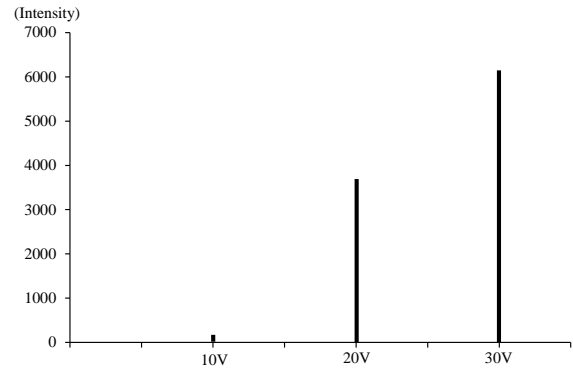


図6 コリジョン電圧変化による Fragment D(ピロリジン環)由来のフラグメントイオンの強度変化

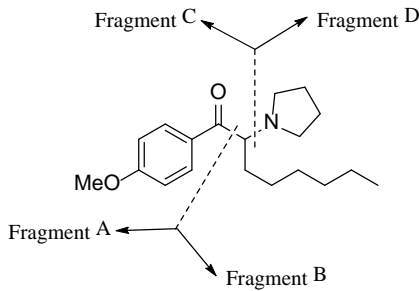


図4 4-methoxy PV9 のフラグメンテーション解析

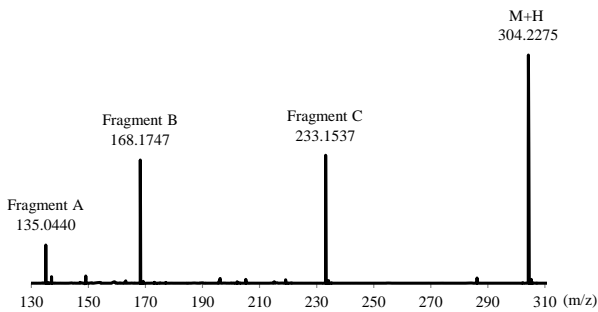


図5 4-methoxy PV9 のマススペクトル

表2 4-methoxy PV9 のフラグメントイオンの精密質量

	組成式	精密質量	
		理論値	測定値
M+H	[C19H29NO2]+H	304.2271	304.2275
Fragment A	C8H7O2	135.0446	135.0440
Fragment B	C11H22N	168.1752	168.1747
Fragment C	C15H21O2	233.1542	233.1537
Fragment D	C4H8N	70.0657	70.0653

3・2・2 合成カンナビノイドのフラグメンテーション

指定薬物に指定されている合成カンナビノイドはインドール誘導体、カルボニル基、ナフタレン誘導体の3つのセグメント(分子内の部分的構造)からなる化合物が主要な

ものである。これらの化合物についてフラグメンテーションを解析した結果、カルボニル基の両端のα位で開裂が起こり、Fragment 5~7が検出されやすいことが明らかとなった(図7)。

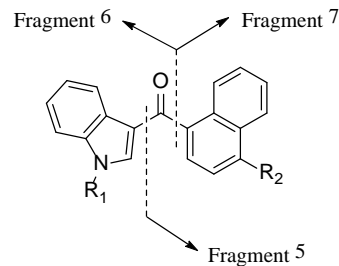


図7 カンナビノイド類のフラグメンテーション①

一方で、図8-Aのようにセグメントとしてインダゾール誘導体を含む化合物は Fragment 8、フェニル基誘導体を含む化合物(図8-B)は Fragment 9、ベンジル基誘導体を含む化合物(図8-C)は Fragment 10及び11、アダマンチル基を含む化合物(図8-D)は Fragment 12がそれぞれ検出されやすいことが明らかとなった。これらの結果から、セグメントの違いにより開裂しやすい部位及び検出されやすいフラグメントイオンに異なる傾向が見られた。

また、インドール骨格及びインダゾール骨格の窒素原子に結合する置換基が図9に示すフルオロベンジル、N-メチルピペリジン、モルホリン、N-メチルアゼパンの場合は特に開裂しやすく、窒素原子のα位で開裂したフラグメントイオンが検出されやすいことがわかった。

図10には測定・解析例として FUB-JWH-018 の結果を示した。検出されたマススペクトルのフラグメンテーションの傾向(図11)、フラグメントイオンの精密質量共に高い精度で一致することが確認できた(表3)。また、インドール置換基由来のフラグメントイオンも強い強度で検出された。

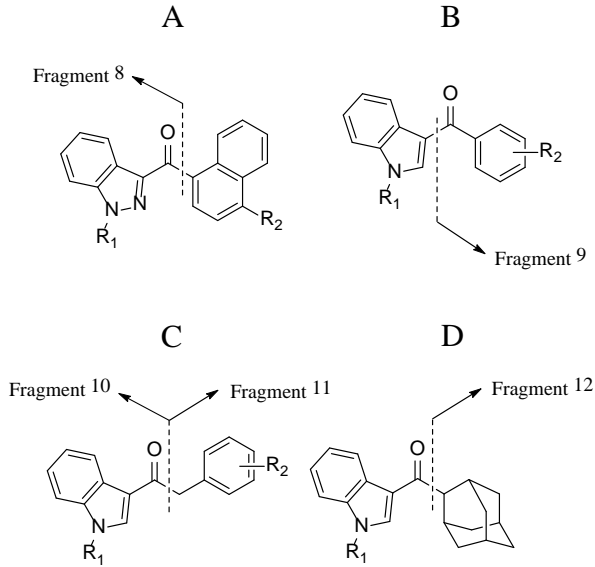


図8 カンナビノイド類のフラグメンテーション②

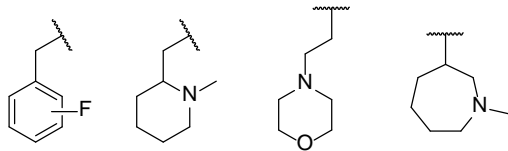


図9 フラグメントイオンが検出されやすいインドール及びピペラジン置換基

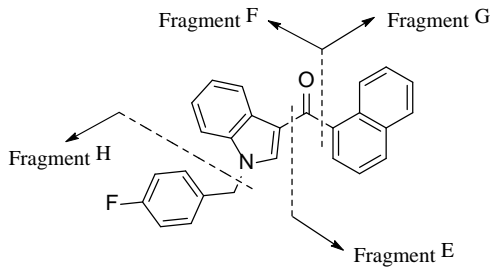


図10 FUB-JWH-018 のフラグメンテーション解析

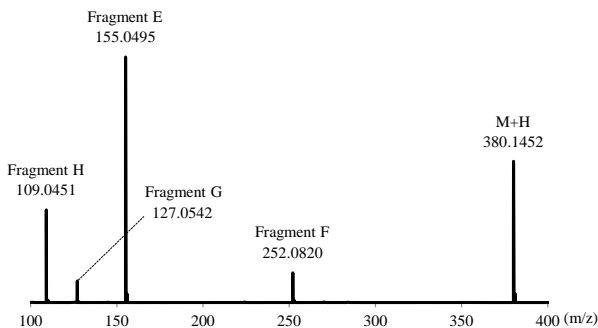


図11 FUB-JWH-018 のマススペクトル

表3 FUB-JWH-018 のフラグメントイオンの精密質量

	組成式	精密質量	
		理論値	測定値
M+H	[C ₂₆ H ₁₈ FNO] ⁺ H	380.1445	380.1452
Fragment E	C ₁₁ H ₇ O	155.0497	155.0495
Fragment F	C ₁₆ H ₁₁ FNO	252.0825	252.0820
Fragment G	C ₁₀ H ₇	127.0548	127.0542
Fragment H	C ₇ H ₆ F	109.0454	109.0451

3・2・3 トリプタミン類のフラグメンテーション

トリプタミン類のフラグメンテーションを解析した結果、窒素原子の α 位及び β 位で開裂し Fragment 13 及び 14 が検出されやすいことがわかった(図12)。また、インドール骨格の4位または5位に置換基として水酸基、メトキシ基、アセチル基が置換してもフラグメンテーションの傾向に違いは見られなかった。

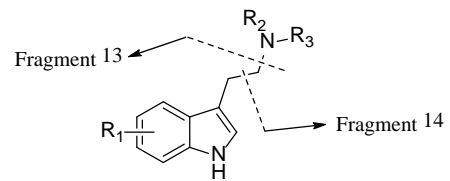


図12 トリプタミン類のフラグメンテーション

図13、図14及び表4には測定・解析例として4-hydroxy MiPTの結果を示した。

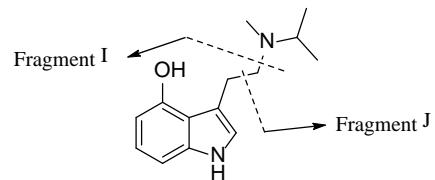


図13 4-hydroxy MiPT のフラグメンテーション解析

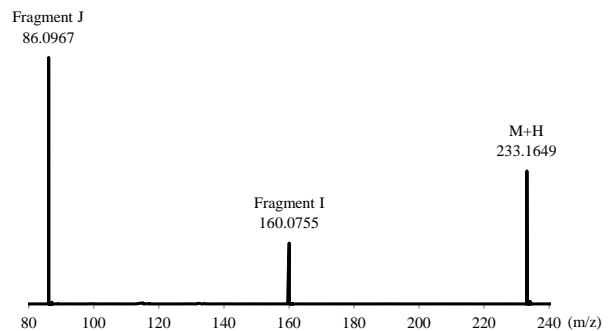


図14 4-hydroxy MiPT のマススペクトル

表 4 4-hydroxy MiPT のフラグメントイオンの精密質量

	組成式	精密質量	
		理論値	測定値
M+H	C14H20N2O	233.1648	233.1649
Fragment I	C10H10NO	160.0762	160.0755
Fragment J	C5H12N	86.0970	86.0967

3・2・4 フェネチルアミン類のフラグメンテーション解析

フェネチルアミン類は図 15 に示すように大きく 2 種類の構造が存在する。フラグメンテーション解析を行った結果、どちらの構造においても窒素原子の α 位で開裂し、Fragment 15 及び 16 または Fragment 17 が検出されやすいことがわかった。

図 16、図 17 及び表 5 には測定・解析例として 25E-NBOMe の結果を示した。

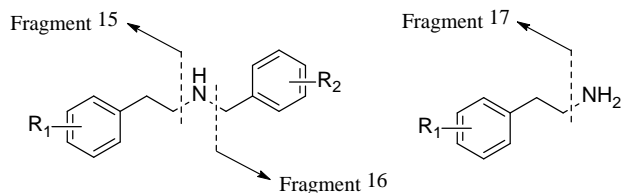


図 15 フェネチルアミン類のフラグメンテーション

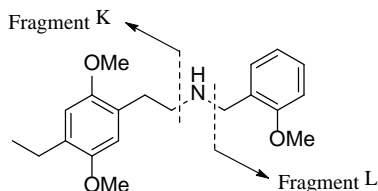


図 16 25E-NBOMe のフラグメンテーション解析

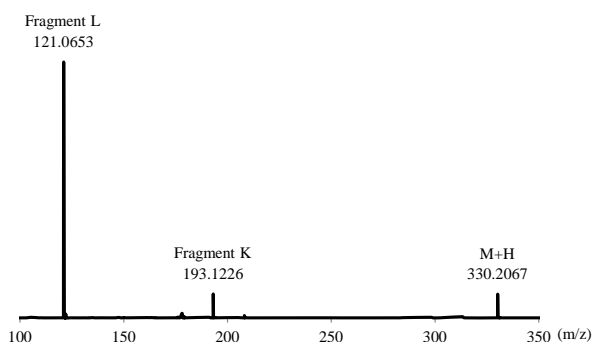


図 17 25E-NBOMe のマススペクトル

3・2・5 フェンタニル類のフラグメンテーション解析

フェンタニル類は図 18 に示す構造をしており、分子内

表 5 25E-NBOMe のフラグメントイオンの精密質量

	組成式	精密質量	
		理論値	測定値
M+H	[C20H27NO3]+H	330.2064	330.2067
Fragment K	C12H17O2	193.1229	193.1226
Fragment L	C8H9O	121.0653	121.0653

にフェネチルピペリジン骨格を含んでいる。フラグメンテーションを解析した結果、二つ存在する窒素原子のそれぞれの α 位で開裂し、フェネチルピペリジン骨格に由来する Fragment 18 及び 19 が検出されやすいことがわかった。

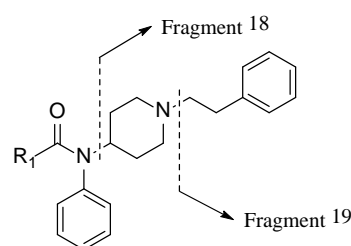


図 18 フェンタニル類のフラグメンテーション

図 19、図 20 及び表 6 には測定・解析例として Ocfentanil の結果を示した。

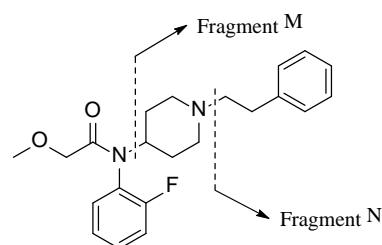


図 19 Ocfentanil のフラグメンテーション解析

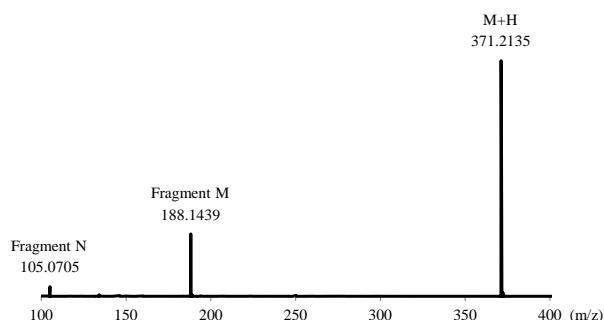


図 20 Ocfentanil のマススペクトル

4 まとめ

本研究では LC/Q-TOF/MS を用いた分析法の開発及び危

表6 Ocfentanilのフラグメントイオンの精密質量

	組成式	精密質量	
		理論値	測定値
M+H	[C22H27FN2O2]+H	371.2129	371.2135
Fragment M	C13H18N	188.1439	188.1439
Fragment N	C8H9	105.0704	105.0705

陰ドラッグの系統ごとにフラグメンテーションの傾向について解析を行った。分析法の開発では、様々な性質の化合物を測定可能な機器分析条件を設定し、実際の危険ドラッグ分析に適用可能な分析法を確立した。また、精密質量を用いることで同定精度を大幅に向上することができた。フラグメンテーションの傾向解析では5種類(カチノン類、合成カンナビノイド、トリプタミン類、フェネチルアミン類、フェンタニル類)の化合物群について検討した。その結果、化合物の系統ごとに開裂しやすい部位や検出されやすいフラグメントイオンに関して多くの知見を得た。これらの知見は、マスペクトルから構造推定を行う上で重要な基礎情報になると考えられた。一方で、特に位置異性体の構造推定については保持時間、フラグメンテーションに

違いがほとんど無く、質量分析装置のみによる同定は非常に困難であると考えられた。このため、信頼性の高い分析結果とするためにはNMRなどの分光分析装置の併用が必須であると考えられた。今後もさらなるデータの蓄積を行うことで精度の高い分析及び構造推定が可能となると考えられた。

文献

- 1) 厚生労働省：薬物乱用対策，
(http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryoku/iyakuhin/yakubutsuranyou_taisaku/index.html)
- 2) 厚生労働省：危険ドラッグ販売店舗数の推移，
(http://www.mhlw.go.jp/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryoku/iyakuhin/yakubuturanyou/oshirase/20150819-1-03.html)
- 3) 厚生労働省：薬物乱用防止に関する情報，
(http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryoku/iyakuhin/yakubuturanyou/index.html)
- 4) 警察庁刑事局組織犯罪対策部 薬物銃器対策課：平成28年度上半期における薬物・銃器情勢 暫定値

(英文要旨)

Development of high-performance liquid chromatography-time-of-flight mass spectrometry (LC/Q-TOF/MS) screening method for illegal drugs

Toshitaka KOGISO, Yoriko SHINTANI, Tsuguhide HORI and Jumboku KAJIWARA

Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences,

Mukaizano 39, Dazaifu, Fukuoka 818-0135, Japan

Serious accidents caused by illegal drug use have become a major social problem. Consequently, various efforts to eradicate their use have been made, but their use is still prevalent. In this study, we developed a high-performance liquid chromatography-time-of-flight mass spectrometry(LC/Q-TOF/MS) method for screening illegal drugs, and investigated structure estimation by fragment ion analysis. The method was useful for drug screening, and the exact mass could be used to improve the identification accuracy. Fragmentation patterns were identified and could be used to estimate a structure.

[Key words ; Illegal drug , LC/Q-TOF/MS , Fragmentation]