

Structural Characterization of Cathinone-type Designer Drugs by Mass Spectrometry and Its Application to the Investigation of Drug Metabolism

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2021-03-17 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/00061381

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 International License.



博 士 論 文

質量分析法によるカチノン系乱用薬物の
構造識別と代謝研究への適用

Structural Characterization of Cathinone-type Designer Drugs by Mass
Spectrometry and Its Application to the Investigation of Drug Metabolism

金沢大学大学院自然科学研究科
物質化学専攻

学 籍 番 号 1824022003

氏 名 松田 駿太郎

主任指導教員名 永谷 広久

提 出 年 月 2020 年 6 月

博士論文の基礎となる参考論文

松田駿太朗, 片木宗弘, 西岡裕, 鎌田寛恵, 佐々木啓子, 志摩典明, 鎌田徹, 三木昭宏, 辰野道昭, 財津桂, 坪井健人, 土橋均, 鈴木廣一. EI マススペクトル解析によるカチノン類の構造推定. *日本法科学技術学会誌*, **19** (2014) 77–89.

S. Matsuta, N. Shima, H. Kamata, H. Kakehashi, S. Nakano, K. Sasaki, T. Kamata, H. Nishioka, A. Miki, M. Katagi, K. Zaitzu, T. Sato, H. Tsuchihashi, and K. Suzuki. Metabolism of the designer drug α -pyrrolidinobutiophenone (α -PBP) in humans: Identification and quantification of the phase I metabolites in urine. *Forensic Science International*, **249** (2015) 181–188.

松田駿太朗, 掛橋秀直, 中野史保子, 志摩典明, 鎌田徹, 西岡裕, 三木昭宏, 坂本雄紀, 宮川治彦, 草野麻衣子, 財津桂, 土橋均, 片木宗弘. GC-MS/MS を用いたカチノン類の包括的検出と構造推定. *日本法科学技術学会誌*, **22** (2017) 109–121.

S. Matsuta, N. Shima, H. Kakehashi, H. Kamata, S. Nakano, K. Sasaki, T. Kamata, H. Nishioka, A. Miki, K. Zaitzu, H. Tsuchihashi, and M. Katagi. Metabolism of α -PHP and α -PHPP in humans and the effects of alkyl chain lengths on the metabolism of α -pyrrolidinophenone-type designer drugs. *Forensic Toxicology*, **36** (2018) 486–497.

S. Matsuta, N. Shima, H. Kakehashi, A. Ishikawa, R. Asai, A. Nitta, M. Wada, S. Nakano, H. Kamata, Y. Nishiyama, H. Nagatani, H. Imura, and M. Katagi. Dehydration-fragmentation mechanism of cathinones and their metabolites in ESI-CID. *Journal of Mass Spectrometry*, **55** (2020) e4538.

Abstract

Cathinone-derived designer drugs (CATs) are structural analogs of cathinone, which is an active component of Khat (evergreen tree leaves). CATs exert excitatory effects on the central nervous system in the same way as typical stimulants. Variations in the CAT structure usually consist of modifications to the type of amine groups, substituents added on the benzene ring, and alteration to the alkyl chain length. Most modifications are subtle and their similarities could cause misidentification of chemical structures in drug tests of CATs. It has therefore become essential in the field of forensic science to identify the slightly modified structures of CATs. In this thesis, the structural characterization methods for CATs have been established based on gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), gas chromatography-tandem mass spectrometry (GC-MS/MS), and liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). In addition, the metabolic pathways of three α -pyrrolidinophenones (α -PBP, α -PHP and α -PHPP) have been investigated in humans, and the influence of the chemical structure (i.e., alkyl chain length) on the metabolism of α -pyrrolidinophenones was discussed in detail. The findings in these studies will contribute not only to identifying the structures of CATs and their metabolites but also to proving the intake of newly encountered designer drugs.

目 次

第 1 章 序 論.....	1
1.1 はじめに.....	2
1.2 危険ドラッグの構造推定法における現状と課題.....	8
1.2.1 GC-MS による構造推定.....	8
1.2.2 GC-MS/MS による構造推定.....	9
1.2.3 LC-MS/MS による構造推定.....	9
1.3 危険ドラッグの摂取証明における現状と課題.....	11
1.4 本研究の目的.....	13
第 2 章 カチノン系乱用薬物の構造推定法に関する研究.....	15
第 2.1 節 EI マススペクトルによるカチノン系乱用薬物の構造推定法の 開発.....	16
2.1.1 緒言.....	16
2.1.2 実験及び方法.....	17
2.1.2.1 試薬.....	17
2.1.2.2 装置及び測定条件.....	17
2.1.2.3 カチノン系乱用薬物標準品の合成.....	17
2.1.2.4 分析試料の調製.....	20
2.1.2.4-1 抽出操作.....	20
2.1.2.4-2 トリフルオロアセチル (TFA) 誘導体化.....	20
2.1.3 実験の結果.....	21
2.1.3.1 遊離塩基の EI マススペクトル.....	21
2.1.3.2 TFA 誘導体の EI マススペクトル.....	21
2.1.4 考察.....	35

2.1.4.1	遊離塩基の EI マススペクトル.....	35
2.1.4.1-1	アミンの α 開裂 (Fragment 1)	35
2.1.4.1-2	アミンの α 開裂 (Fragment 1) からのオレフィン脱離.....	38
2.1.4.1-3	カルボニル基の α 開裂 (Fragment 2)	40
2.1.4.1-4	アミンの α 開裂による側鎖の脱離 (Fragment 3)	43
2.1.4.2	TFA 誘導体の EI マススペクトル	45
2.1.4.2-1	アミン及びカルボニル基の α 開裂.....	47
2.1.4.2-2	メチルアミン構造に特異的なフラグメントイオン	48
2.1.4.3	未知カチノン類化合物の構造推定	48
2.1.5	小括	52
第 2.2 節	GC-MS/MS によるカチノン系乱用薬物の	
	包括的な構造推定法の開発	53
2.2.1	緒言	53
2.2.2	実験及び方法	54
2.2.2.1	試薬	54
2.2.2.2	装置及び測定条件	54
2.2.2.3	カチノン系乱用薬物標準品の合成	56
2.2.2.4	分析試料の調製	59
2.2.3	結果と考察	60
2.2.3.1	SRM によるベンゾイル骨格の識別	60
2.2.3.2	ベンゾイル基の α 開裂で生じるイオンのプロダクトイオン スキャン	61
2.2.3.3	アミンの α 開裂で生じるイオンのプロダクトイオン スキャン	63
2.2.3.4	本手法を用いた包括検出と構造推定	65
2.2.3.5	本手法と従来法の比較	67
2.2.4	小括	69

第 3 章 α -ピロリジノフェノン類の代謝経路に関する研究.....	72
第 3.1 節 ヒト尿中の α -PBP の代謝物分析	73
3.1.1 緒言	73
3.1.2 実験及び方法	74
3.1.2.1 試薬	74
3.1.2.2 装置	74
3.1.2.2-1 GC-MS.....	74
3.1.2.2-2 LC-MS/MS	76
3.1.2.2-3 NMR 及び高分解能質量分析.....	76
3.1.2.3 合成	78
3.1.2.3-1 1-フェニル-2-(ピロリジン-1-イル)ブタン-1-オール (α -PBP-M1)	78
3.1.2.3-2 α -(2-オキソ-ピロリジノ)ブチロフェノン (α -PBP-M2)	78
3.1.2.4 尿試料	79
3.1.2.5 試料前処理	79
3.1.2.5-1 GC-MS 用の試料前処理	79
3.1.2.5-2 LC-MS/MS 用の試料前処理.....	80
3.1.3 結果と考察	80
3.1.3.1 α -PBP の尿中代謝物の定性分析	80
3.1.3.1-1 GC-MS による尿中代謝物の定性分析	80
3.1.3.1-2 LC-MS/MS による尿中代謝物の定性分析	83
3.1.3.2 α -PBP 及びその尿中代謝物の定量分析.....	85
3.1.3.3 その他の代謝物の探索	90
3.1.3.4 α -PBP の代謝経路	90
3.1.4 小括	92
第 3.2 節 ヒト尿中の α -PHP 及び α -PHPP の代謝物分析	92
3.2.1 緒言	93

3.2.2	実験及び方法	94
3.2.2.1	試薬	94
3.2.2.2	装置	96
3.2.2.2-1	LC-MS/MS	96
3.2.2.2-2	NMR	96
3.2.2.3	合成	96
3.2.2.3-1	1-フェニル-2-(ピロリジン-1-イル)ヘキサン-1-オール (α -PHP-M1)	96
3.2.2.3-2	1-フェニル-2-(ピロリジン-1-イル)ヘプタン-1-オール (α -PHHP-M1)	98
3.2.2.3-3	α -(2-オキソ-ピロリジノ)ヘキサノフェノン (α -PHP-M2)	99
3.2.2.3-4	α -(2-オキソ-ピロリジノ)ヘプタノフェノン (α -PHPP-M2)	99
3.2.2.4	尿試料	100
3.2.2.5	試料前処理	100
3.2.3	結果と考察	100
3.2.3.1	α -PHP 及び α -PHPP 使用者尿中の代謝物 M1 及び M2	100
3.2.3.2	アルキル側鎖の酸化による代謝物 (M3-M8)	110
3.2.3.2-1	アルキル側鎖の酸化を経た代謝物の探索	110
3.2.3.2-2	アルキル側鎖の酸化を経た代謝物の定量的評価	111
3.2.3.3	PPs の代謝に対するアルキル鎖長の影響	113
3.2.4	小括	116

第 4 章 重水素標識体を用いたカチノン系乱用薬物及びその代謝物の

フラグメンテーションに関する研究.....117

4.1 緒言118

4.2	実験及び方法	120
4.2.1	試薬	120
4.2.2	合成	120
4.2.2.1	重水素標識化合物の合成	120
4.2.2.2	^{18}O 標識化合物の合成	123
4.2.3	分析条件 (LC-MS ⁿ)	123
4.3	結果と考察	125
4.3.1	第一級・第二級アミン構造を有するカチノン系薬物からの 脱水イオンの生成	125
4.3.2	PPs (第三級アミン構造) の主要代謝物からの脱水イオンの 生成	128
4.3.2.1	α -PBP の主要代謝物からの脱水イオンの生成	128
4.3.2.1-1	1-OH- α -PBP の脱水反応	128
4.3.2.1-2	2''-oxo- α -PBP の脱水反応	130
4.3.2.2	PPs のアルキル鎖長が脱水イオンの生成に及ぼす影響	135
4.3.2.2-1	1-OH 体の脱水反応	135
4.3.2.2-2	2''-oxo 体の脱水反応	135
4.3.2.2-3	2''-oxo- α -PPP の脱水反応	137
4.4	小括	139
第5章 結 論		141
謝 辞		146
参考文献		147
略語一覧		157
構造式一覧		159

第 1 章

序 論

1.1 はじめに

覚醒剤メタンフェタミン (MA) 及びアンフェタミン (AP)、並びに、麻薬のコカイン、ヘロイン、3,4-メチレンジオキシメタンフェタミン (MDMA) 及びリゼルギン酸ジエチルアミド (LSD) 等の多種多様な薬物の乱用が世界的に問題となっている^[1-4]。また、我が国では、中枢神経興奮作用をもつ MA の乱用が主流であり、2018 年の薬物事犯の検挙人員は 14,322 人で、このうち覚醒剤の検挙人員は 10,030 人であり社会問題となっている^[5]。覚醒剤をはじめこれらの乱用薬物は、覚醒剤取締法、並びに、麻薬及び向精神薬取締法により、所持や使用、製造、輸入、販売等が厳しく規制されている^[6,7]。

しかし、これらの法規制を逃れるために構造を一部変化させた薬物 (デザイナードラッグと呼ばれる) が、2000 年頃から次々と登場し若者の間を中心に乱用が急増している。これらの薬物が従来の規制薬物と同等あるいはそれ以上の作用を有しているにも関わらず危険性の認識が低いことから、過量摂取による急性中毒、錯乱した乱用者の飛び降り事故、暴力行為や殺人^[8]、危険運転による交通事故^[9-12]が後を絶たず^[13]、深刻な社会問題となっている。このため、厚生労働省と警察庁は 2014 年 7 月に、規制の有無を問わず危険な物質であることを示す「危険ドラッグ」という新たな呼称を選定し^[14]、国民に危険性をアピールしてきた。なお、国際的には、国連薬物犯罪事務所 (UNODC) により定義が示され「新規精神活性物質 (New Psychoactive Substances)」と呼称されており、これは日本における危険ドラッグとほぼ同義となっている。このように、世界中で多岐にわたる危険ドラッグが、粉末、液体、粉末が塗された植物片等の形態で、「バスソルト」、「研究化学物質」、「ビデオクリーナー」、「お香」、「観賞用植物片」などと用途を騙り流通し、日本ではインターネットやアダルトショップを中心に、さらにはカプセルトイ用販売機などの自動販売機^[15]で、老若男女誰でも購入できるような状況であった。

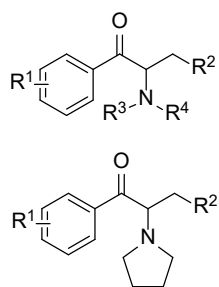
そこで、これらの乱用薬物を規制するために、2007 年 4 月に改正された薬事法 (現 医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律^[16]、薬機法) で、まずは 31 物質が指定薬物として、製造、輸入、販売等の流通

が規制され、次々と指定薬物が増えていった。また、一旦指定薬物として規制を受けていても、麻薬と同等な有害作用を持つことが明らかとなった薬物は麻薬へと格上げされ、さらに厳しく取り締まられるようになった。これら指定薬物と麻薬のこれまでの指定状況を **Table 1.1** に示す。しかしながら、規制対象の薬物が増えるたびに新しいドラッグが続々と登場し、いわゆる「たちごっこ」の様相を呈していたことから、2013年2月には第一弾の包括規制が採用され、化合物単体ではなく基本骨格によって指定され、国内未流通の構造を含め一挙に759種の化合物が指定薬物に追加された。その一方で、販売業者が規制直前に在庫処分セールをしたり、乱用者が規制前にまとめ買いをしたりと、乱用薬物の流通に歯止めが掛からない状態となっており、2014年4月から単純所持と使用についても規制され、より厳しく取り締まられるようになった。その後も様々な指定薬物が追加され、2020年6月現在では、包括規制の約2,100種を含め、2,385種が指定薬物として規制されている。

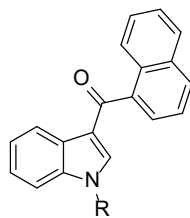
これまでに日本で流通してきた危険ドラッグは化学構造から、カチノン類 (CATs) ^[17-24]、合成カンナビノイド類^[25]、フェネチルアミン類、トリプタミン類、亜硝酸エステル類等に大別される (**Figure 1.1**)。これらは、既に規制されている薬物と共通の骨格を持つものが多く、脳内の同じ受容体に作用するため類似した薬理作用を持つ。中でも、CATsは、カート (Khat、学名 *Catha edulis*) と呼ばれる熱帯に自生する常緑樹の葉に含まれるアルカロイドの「カチノン」を基本骨格とした危険ドラッグである。基本骨格のカチノンが覚醒剤 AP の β 位がカルボニル基となった構造 (**Figure 1.2**) を持つことから、CATs は覚醒剤と同様に中枢神経興奮作用を有していると考えられている^[26,27]。これら流通している CATs には、芳香環、アルキル鎖、アミン部の構造に様々なバリエーションがあり、中でもアミン部がピロリジン環となった α -ピロリジノフェノン類 (PPs) は流通量が非常に多い。これら大半の CATs は包括規制されているもの (**Figure 1.3**)、規制/未規制が混在し多数の構造類縁体が存在し、流通している。

Table 1.1 Regulatory history of “Shitei Yakubutsu” and narcotics

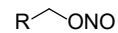
Effective Date	Changes in the number of drugs (total)		Typical regulated cathinones (Remarks)
	Shitei Yakubutsu	Narcotics	
2007.4.1	+31 (31)	(151)	
2008.1.11	+5 (36)		bk-MDEA, bk-MDMA
2008.1.18	-3 (33)	+3 (154)	
2009.1.16	+6 (39)		MDPV, Ethcathinone
2009.11.20	+6 (45)		4-Methylmethcathinone
2010.9.24	+5 (50)		
2011.5.14	+9 (59)		3-FMC, 4-MeOMC
2011.10.20	+9 (68)		4-MEC, Naphyrone, 4-FMC
2012.7.1	+9 (77)		3,4-DMMC
2012.8.3	-4 (73)	+4 (158)	4-MMC, MDPV (to narcotics)
2012.11.16	+17 (90)		α -PVP, Buphedrone, MPPP, Butyrone
2013.1.16	+8 (98)		4-Ethylcathinone
2013.3.1	-6 (92)	+6 (164)	α -PVP, Ethcathinone (to narcotics)
2013.3.22	+759 (851)		(1st comprehensive regulation: Synthetic cannabinoids)
2013.5.26	-2 (849)	+2 (166)	
2013.5.30	+27 (876)		NEB, bk-MDDMA, α -PVT, α -PBP, Pentedrone, MPBP
2013.7.28	+5 (881)		MDPPP
2013.11.20	+7 (888)		α -PHPP, MPHP, 4-MeO-PVP
2014.1.12	+474 (1362)		(2nd comprehensive regulation: Cathinones)
2014.1.19	-2 (1360)	+3 (169)	bk-MDEA (to narcotics)
2014.4.5	+10 (1370)		α -POP; 3,4-diMeO-PBP
2014.7.11–8.11	+9 (1379)	+1 (170)	
2014.8.25	+21 (1400)		4-MeO-PHPP
2014.9.29	+14 (1414)		α -PBT, 4-Fluoro-PHPP, 4-MeO-POP
2014.11.8	+8 (1422)		
2014.11.28	+7 (1429)		5-DBFPB; 3,4-diMeO-PHP; α -PNP; MDPHP
2015.1.5	+8 (1437)		4-Fluoro- <i>N</i> -isopropyl-pentedrone, 4-Fluoro-octedrone
2015.2.9	+11 (1448)		5-PPDI, bk-IBP, bk-IVP, 4-Fluoro-POP
2015.2.28	+6 (1454)		5-BPDI
2015.4.4	+16 (1470)		3,4-dimethyl-PVP; 4-Fluoro-hexedrone
2015.5.11	+827 (2297)		(3rd comprehensive regulation: Cathinones)
2015.6.1–12.5	+27 (2324)	+4 (174)	
2015.12.25	+3 (2327)		TH-PVP
2016.1.31–6.26	+12 (2339)	+4 (178)	
2016.7.2	+6 (2345)		3,4-diMeOMC
2016.9.3	+3 (2348)		Mexedrone
2016.11.11–12.31	+8 (2356)		
2017.3.6–7.1	+10 (2366)		
2017.8.25	-8 (2358)	+8 (186)	4-MEC, Pentedrone (to narcotics)
2017.9.8–12.29	+10 (2368)		
2018.3.10–12.29	+4 (2372)	+11 (197)	
2019.3.1–6.23	+6 (2378)		
2019.7.28	-9 (2369)	+9 (206)	bk-EPDP (to narcotics)
2019.9.8–2019.12.27	+9 (2378)		
2020.3.9	+7 (2385)		<i>N</i> -Butylpentylone



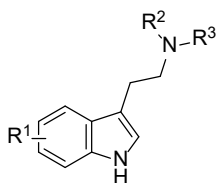
Cathinones



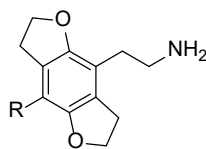
**Synthetic
cannabinoids**



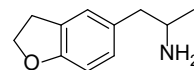
Alkyl nitrites



Tryptamines



2C-B-FLY



5-APDB

Phenethylamines

Figure 1.1. Types of typical designer drugs.

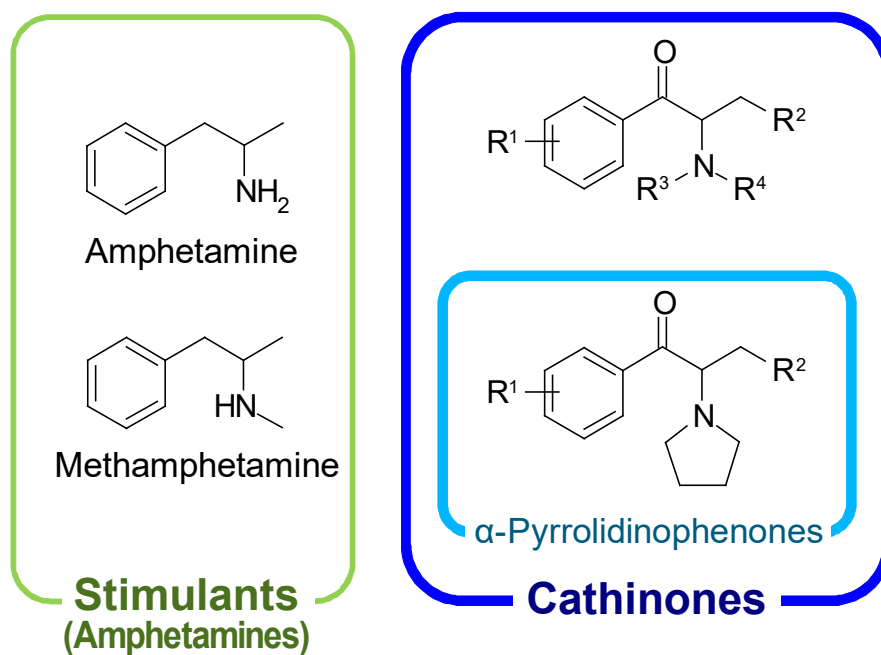
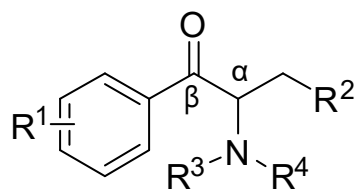


Figure 1.2. Structures of cathinone-type designer drugs and amphetamines.



R^1 (position)	R^2	R^3, R^4
H	H ^a	H, H
CH ₃ (<i>ortho, meta, para</i>)	CH ₃ ^a	CH ₃ , H
CH ₂ CH ₃ (<i>ortho, meta, para</i>)	CH ₂ CH ₃ ^a	CH ₂ CH ₃ , H
OCH ₃ (<i>ortho, meta, para</i>)	<i>n</i> -Propyl ^a	CH ₃ , CH ₃
Methylenedioxy (2,3-; 3,4-)	<i>n</i> -Butyl ^b	CH ₂ CH ₃ , CH ₂ CH ₃
F (<i>ortho, meta, para</i>)	<i>n</i> -Pentyl ^b	CH ₂ CH ₃ , CH ₃
Cl (<i>ortho, meta, para</i>)	<i>n</i> -Hexyl ^b	Pyrrolidinyl
Br (<i>ortho, meta, para</i>)	<i>n</i> -Heptyl ^b	
I (<i>ortho, meta, para</i>)		

Figure 1.3. Comprehensive regulation of cathinone-type designer drugs. *a*: 2nd (January 12, 2014), and *b*: 3rd (May 11, 2015) comprehensive regulation.

1.2 危険ドラッグの構造推定法における現状と課題

一般的に、法科学分野における未知の危険ドラッグ分析では、核磁気共鳴分光分析 (NMR) やガスクロマトグラフィー質量分析 (GC-MS)、液体クロマトグラフィータンデム質量分析 (LC-MS/MS) などを駆使して構造推定^[28-33]を行った後、合成または購入により入手した標準品と比較対照することで化合物同定を行っている。しかし、NMR は枝分かれ等の詳細な構造推定に非常に有用ではあるものの、基本的には目的化合物の単離が必要であり、質量分析 (MS) 法に比べ感度が低いため、試料量が限られている場合や、生体試料中の微量な危険ドラッグ成分や代謝物をターゲットとする場合には適用できない。一方、MS は非常に高感度で微量成分の分析に適していること、GC や LC と組み合わせることで、不純物と分離し夾雑成分の影響を排除し分析が行えるといった利点がある。また、クロマトグラフィー分離による保持時間の情報より異性体識別が可能となることも期待される。

1.2.1 GC-MS による構造推定

GC-MS で得られる電子イオン化 (EI) マススペクトルは、化合物の構造を反映したフラグメントイオンが豊富に観察されることから、構造推定に非常に有用と考えられる。また、膨大な数の既知化合物のマススペクトルが、スペクトルライブラリとして市販^[34]や公開^[35,36]されており、危険ドラッグ分析をはじめとして、覚醒剤や麻薬の分析、睡眠薬等の薬物分析、そして工業製品の成分分析など、法科学分野では最も広く汎用されている。これらの市販のスペクトルライブラリは、GC-MS のデータ解析ソフト中においてワンクリックでサーチでき、スペクトルの類似度が高い化合物から順に結果が表示される。

しかしながら、現在指定されている全ての危険ドラッグを網羅したライブラリや分析法は存在しない。未知化合物が次々と登場している現状では、新規な危険ドラッグを見逃したり、またはスペクトルの類似度の高い他の化合物と誤認したりする危険性をはらんでいる。

1.2.2 GC-MS/MS による構造推定

GC-MS/MS では、GC-MS で汎用されているスキャンモード以外にも、選択反応モニタリング (SRM)、プロダクトイオンスキャンなど様々な測定モードが存在し (Figure 1.4)、危険ドラッグの分析では一般的にスキャンモード及びプロダクトイオンスキャンモードを併用して構造推定が行われている。このプロダクトイオンスキャンモードでは、EI または化学イオン化 (CI) により得られたイオンを衝突誘起解離 (CID) により開裂させることが可能であり、同じ整数質量をもつイオン間や異性体間の識別ができる可能性がある。

しかしながら、現状では MS/MS で得られるプロダクトイオンスペクトルは、スペクトルライブラリがほとんど存在せず、あまり危険ドラッグ分析に利用されていない。その理由として、プロダクトイオンスペクトルが三連四重極型、イオントラップ型等の装置の種類や構造に依存すること等によりライブラリの構築が難しい点、スキャンモードでの分析結果を基に化合物ごとにその都度プロダクトイオンスキャンのメソッドを組まなければならない、複数回の測定が必要な点などが挙げられる。

1.2.3 LC-MS/MS による構造推定

LC-MS/MS においても、GC-MS/MS と同様、シングルスキャン、SRM、プロダクトイオンスキャンなど様々な測定モードが存在し、シングルスキャン及びそのデータに依存したプロダクトイオンスキャンが危険ドラッグ分析で汎用されている。LC のカラムで夾雑物と分離された危険ドラッグ分子が、エレクトロスプレーイオン化 (ESI) によりイオン化され、シングルスキャンのマススペクトル上にプロトン付加分子 ($[M+H]^+$) が観察される。これによって、分子量を明らかにすることができ、さらにこのイオンを CID で開裂させることで化合物の構造を反映したプロダクトイオンスペクトルを得ることができる。

三連四重極型の質量分析装置によるプロダクトイオンスキャンでは、前段の四重極で単離したイオンがコリジョンセル内に導入され、セル内を通過する際にコリジョンガスとの衝突によりフラグメンテーションを起こし、後段の四重

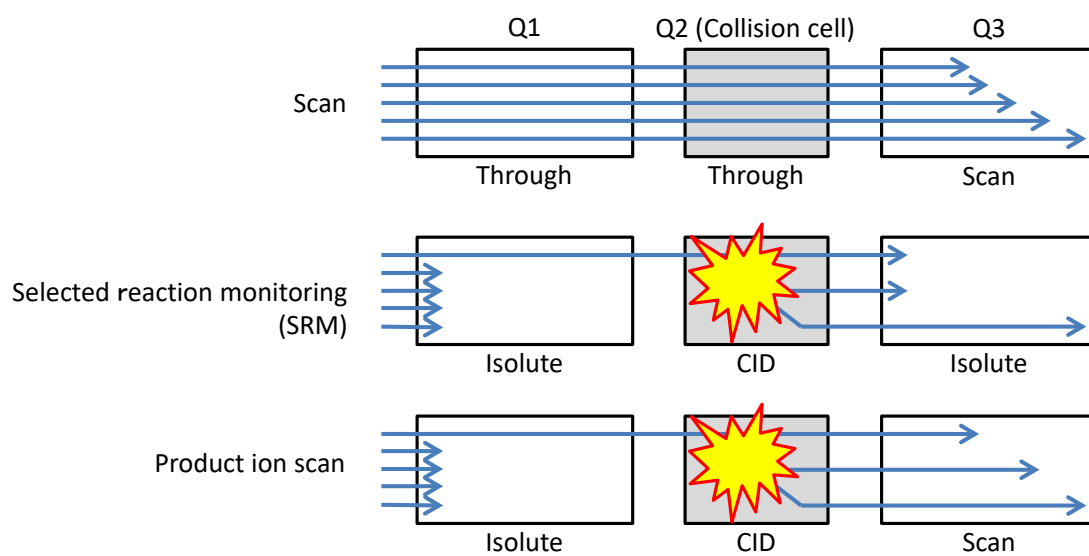


Figure 1.4. Typical acquisition modes for a triple quadrupole mass spectrometer (tandem in space).

極によってスキャンする (**Figure 1.4**)。ここで、コリジョンセル内に導入されたイオンは、多段階の衝突を受けることによって様々なフラグメントイオンを生成する。一方、イオントラップ型の質量分析装置では、イオントラップ内で単離した特定のイオンのみが振動する高周波を印加することによって、CID によるフラグメンテーションを引き起こし、その後スキャンする (**Figure 1.5**)。このため、一度フラグメンテーションしたイオンは振動しなくなり、それ以上のフラグメンテーションはせず、単一段階のみの反応によるフラグメンテーションイオンが観察される。また、イオンの強度が続く限り、イオンの単離と CID を繰り返すことで、多段階のフラグメンテーションも可能である。

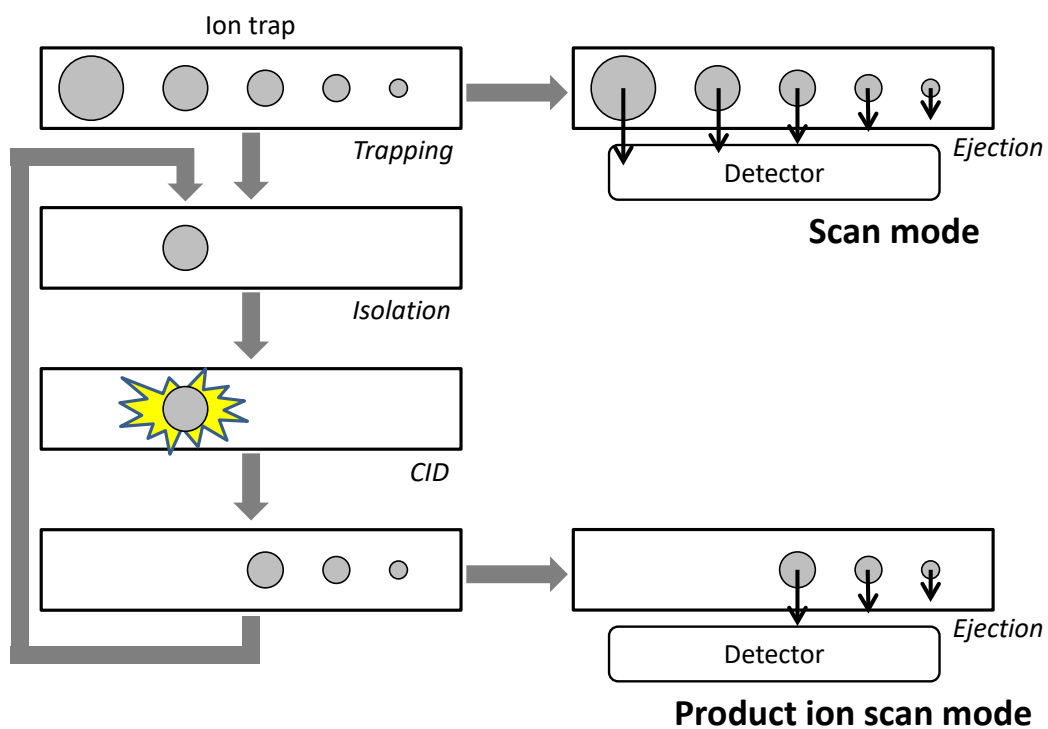
しかしながら、LC-MS/MS においても、GC-MS/MS と同様に、装置の種類や構造によりプロダクトイオンスペクトルが異なること等の理由によりライブラリの構築が難しく、これまで未知の危険ドラッグ分析には不向きであるとされてきた^[37,38]。

このように、新規の危険ドラッグが次々と登場する状況に、分析法の開発が追いつかず、幅広い未知の危険ドラッグにも対応できるようなスペクトルの解析方法を整理すること、もしくは、包括的に検出可能な新規分析手法の開発が求められている。また、危険ドラッグは構造類縁体が多く、規制／未規制の構造が混在して流通しているため、構造類縁体を正確に識別できる構造推定法の開発が求められている。

1.3 危険ドラッグの摂取証明における現状と課題

危険ドラッグを含め、薬物摂取を客観的に証明するための試料として、血液、尿、毛髪、臓器等様々な生体試料が採取されている。また、これらの生体試料の中でも尿試料は、採取が非常に容易で、かつ薬物濃度が比較的高濃度であることから、多くの検体が乱用薬物の摂取者の取り締まりやドーピング検査などの目的で分析に供されている。

また、法科学分野での生体試料分析において、外部からの汚染や混入の可能性を否定し摂取を証明するためには、摂取した薬物そのものだけでなく、体内



Injection	Single scan (MS) (Ejection + Detection)
-----------	---

Injection	Isolation	CID	Product ion scan (MS²) (Ejection + Detection)
-----------	-----------	-----	--

Injection	Isolation	CID	Isolation	CID	2nd Product ion scan (MS³) (Ejection + Detection)
-----------	-----------	-----	-----------	-----	---

⋮

Injection	Isolation	CID	...	Isolation	CID	<i>n</i>-1th Product ion scan (MS^{<i>n</i>}) (Ejection + Detection)
-----------	-----------	-----	-----	-----------	-----	---

Figure 1.5. Typical acquisition cycle for an ion trap mass spectrometer (tandem in time).

を通過していることを示す代謝物を併せて検出する必要がある。このため、摂取を証明する薬物の代謝経路を予め明らかにしておかなければならない。

しかしながら、危険ドラッグは登場して間がなく、そのうえ多種多様に存在することから、個々の薬物について十分に代謝の研究が成されておらず、摂取証明のためにどのような代謝物を検出すべきか明確に定まっていない。危険ドラッグそのものでさえ市販されている標準品は限られており、代謝物に至ってはほとんど市販されておらず、標準品は合成しないと入手できない。このため、全ての代謝物をあらかじめ備えておくことは得策ではなく、代謝経路を予測して真に必要な代謝物のみを備えるべきである。

一般的に、危険ドラッグを含め乱用薬物の代謝の研究は、ラットに投与し、尿や血液、臓器などの生体試料を分析することによって行われている。しかしながら、ヒトとラットの種差により、排出される代謝物の種類や比率が異なることも散見される^[39-42]。一方、ヒトに乱用薬物を投与して代謝経路を解明する実験は、倫理的な観点から行うことは事実上不可能である。

1.4 本研究の目的

本研究では、危険ドラッグの中でも特に流通量の多い CATs を対象とした構造識別法の確立を目指した。また、CATs の中でも特に流通量の多い PPs を対象とし、尿試料中の代謝物分析による、摂取証明を目的とした代謝経路の解明をテーマとした。

第 2 章では、CATs の構造識別法として GC-MS による EI マススペクトルを用いた構造推定法、並びに GC-MS/MS 用いた構造推定法の確立を試みた。

第 2.1 節では、法科学分野において薬物分析に汎用されている GC-MS を用いて、合成した 98 種の CATs で得られる EI マススペクトルを整理し、フラグメンテーションメカニズムを考察した。また、覚醒剤などのフェネチルアミン類の分析でよく使われるトリフルオロアセチル (TFA) 誘導体化による EI マススペクトルについても整理し、フラグメンテーションメカニズムの考察をした。

これらの知見に基づき、EI マススペクトル解析による CATs の構造推定法の確立を試みた。

第 2.2 節では、指定薬物の包括規制において予め規制対象の官能基が決められていること (**Figure 1.3**) に着目し、GC-MS/MS を用いて、部分構造を反映する特徴的な EI で得られるフラグメントイオンを CID によりさらに開裂させ、CATs の包括的な検出と、置換官能基の特定及び置換位置の推定が可能な構造推定法の開発を試みた。

第 3 章では、摂取証明への活用を目指した PPs の代謝経路の解明を試みた。PPs の構造のバリエーションとして、アルキル鎖の鎖長、芳香環上の置換基の違いが挙げられる。そこで、本研究では、アルキル鎖の鎖長の違いに着目し、代謝へと与える影響について検討した。

第 3.1 節では、アルキル鎖がブチル基の α -ピロリジノブチロフェノン (α -PBP) 使用者の尿検体を対象とし、LC-MS/MS による代謝物を含めた分析法について検討した。

第 3.2 節では、アルキル鎖がヘキシル基の α -ピロリジノヘキサノフェノン (α -PHP) 及びヘプチル基の α -ピロリジノヘプタノフェノン (α -PHPP) 使用者の尿検体を対象とし、LC-MS/MS による代謝物を含めた分析法について検討した。また、第 3.1 節の結果、並びにこれまでに報告されているアルキル鎖がペンチル基及びオクチル基の α -ピロリジノバレロフェノン (α -PVP) 及び α -ピロリジノオクタノフェノン (α -POP) での結果をまとめて、アルキル鎖の違いにより PPs の代謝がどのように推移していくのかを考察した。

第 4 章では、LC-MS/MS を用い、CATs のアミン部や代謝物の構造に依存して観察される、CID で生成する脱水イオンに着目した。安定同位体 (重水素 (D)、酸素-18 (^{18}O)) 標識化合物を合成し、測定することによって、この脱水イオンの生成メカニズムの解明を試みた。また、得られた知見により CATs の構造識別に脱水イオンの有無が活用できるか検討した。

第 2 章

カチノン系乱用薬物の構造推定法に関する研究

第 2.1 節 EI マススペクトルによるカチノン系乱用薬物の構造推定法の開発

2.1.1 緒言

我が国における薬物乱用は依然として覚醒剤が中心であるが、2000 年ごろから、覚醒剤等の規制薬物の代替品として、若者を中心に危険ドラッグの乱用が爆発的に拡大してきている。これらの危険ドラッグは、その化学構造から大部分が CATs^[17-20] もしくはインドール系合成カンナビノイド類^[25] などに大別される。中でも、CATs は、 β -ケトフェネチルアミン骨格を有し、覚醒剤 AP と酷似の基本構造を有することから、同様な中枢神経興奮作用を発現することが指摘されている。そのため、危険ドラッグの過量摂取による中毒事故、さらには薬物摂取が引き金となった暴行、傷害、殺人^[8]、危険運転^[9-12] などの重大事件が爆発的に増加し^[13]、これら危険ドラッグの撲滅に向けた一日も早い取締強化とそのため効果的分析法の開発が強く望まれている。

これまでの、法科学分野における未知の危険ドラッグ分析では、NMR や GC-MS、LC-MS/MS など駆使して構造推定^[28-33] を行った後、標準品と比較対照することで化合物同定を行っている。特に、GC-MS で得られる EI マススペクトルは、化合物の構造を反映したフラグメントイオンが豊富に観察されることから、構造推定に非常に有用と考えられる。

CATs の EI マススペクトルは、一般的に、アミンの α 開裂による非常に強度の強いフラグメントイオンが観察されるだけで、構造を反映したイオンに乏しいと言われている^[43]。しかし、他にも強度が低いものの構造を反映した有用なフラグメントイオンも多数観察されており^[43]、構造に特徴的なフラグメントイオンを探索し、その詳細な構造を解析することは、未知化合物の構造を推定するうえで大きな威力を発揮することが期待される。

第 2.1 節では、芳香環上の置換基、アルキル鎖長、アミン部の構造の異なる 98 種の CATs を合成し、それらの遊離塩基及び TFA 誘導体の EI マススペクトルを測定しそれぞれの化学構造に特徴的なフラグメントを見出し、その生成機

構の解明を試みた。また、その生成機構をふまえたうえでアミンの α 開裂をはじめとした各種フラグメントを詳細に解析することにより、未知の CATs における信頼性の高い構造推定法について検討した。

2.1.2 実験及び方法

2.1.2.1 試薬

研究に用いた 98 種類の CATs の構造を **Figure 2.1** に示す。これらの CATs は、2.1.2.3 項にある合成方法に従い合成した。

試料調製の際、溶媒抽出に用いた有機溶媒、pH 調整剤、脱水剤は、いずれも和光純薬工業製の特級試薬を用いた。

誘導體化には、Acros Organics 製の無水トリフルオロ酢酸 (99+ %) を用いた。

2.1.2.2 装置及び測定条件

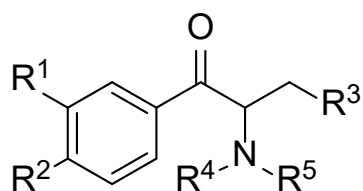
GC-MS は、島津製作所製 GCMS-QP2010 Ultra を用いて以下の条件で行った。

分析カラム：Agilent 製 DB-5MS (0.32 mm i.d. × 30 m、膜厚 0.25 μm)、カラム温度：80 $^{\circ}\text{C}$ (1 分間保持) – 320 $^{\circ}\text{C}$ (昇温速度 15 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$)、キャリアガス：ヘリウム、カラム流量：3.59 mL/min (圧力制御モード)、試料注入法：スプリット (スプリット比 1:10)、注入口温度：250 $^{\circ}\text{C}$ 、イオン化：EI 法、イオン化エネルギー：70 eV、インターフェイス温度：250 $^{\circ}\text{C}$ 、イオン源温度：200 $^{\circ}\text{C}$ 、スキャン範囲： m/z 40–600、試料：約 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ になるように、酢酸エチルで適宜希釈したもの、注入量：1 μL 。

2.1.2.3 カチノン系乱用薬物標準品の合成

既報^[17]を参考に、**Figure 2.2** の反応スキームに従って、CATs の標準品を合成した。

アルキルフェノン 14 種 (1-フェニルプロパン-1-オン、1-フェニルブタン-1-オン、1-フェニルペンタン-1-オン、1-フェニルヘキサン-1-オン、1-(4-メチルフェ



Compound group	R ¹	R ²	R ³	Compound group	R ⁴	R ⁵
1	H	H	H	a	H	H
2	H	H	CH ₃	b	CH ₃	H
3	H	H	CH ₂ CH ₃	c	CH ₂ CH ₃	H
4	H	H	CH ₂ CH ₂ CH ₃	d	CH ₂ CH ₂ CH ₃	H
5	H	CH ₃	H	e	CH(CH ₃) ₂	H
6	H	CH ₃	CH ₃	f	CH ₃	CH ₃
7	H	CH ₃	CH ₂ CH ₃	g	Pyrrolidyl	
8	Methylenedioxy		H			
9	Methylenedioxy		CH ₃			
10	Methylenedioxy		CH ₂ CH ₃			
11	CH ₃	CH ₃	H			
12	H	CH ₂ CH ₃	H			
13	H	OCH ₃	H			
14	Phenyl replaced by 2'-naphthyl		CH ₂ CH ₃			

Figure 2.1. Structures of 98 cathinone-type drugs examined.

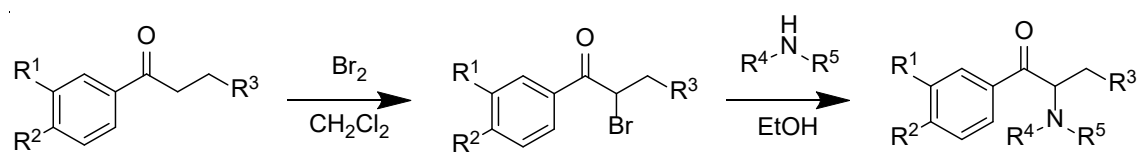


Figure 2.2. Synthesis of cathinone-type drugs.

ニル)プロパン-1-オン、1-(4-メチルフェニル)ブタン-1-オン、1-(4-メチルフェニル)ペンタン-1-オン、1-(3,4-メチレンジオキシフェニル)プロパン-1-オン、1-(3,4-メチレンジオキシフェニル)ブタン-1-オン、1-(3,4-メチレンジオキシフェニル)ペンタン-1-オン、1-(4-エチルフェニル)プロパン-1-オン、1-(4-メトキシフェニル)プロパン-1-オン、1-(3,4-ジメチルフェニル)プロパン-1-オン及び1-(2-ナフチル)ペンタン-1-オン) のジクロロメタン溶液に臭素のジクロロメタン溶液を滴下し、室温で24h 攪拌し反応させ、2-ブロモアルキルフェノンを合成した。得られた2-ブロモアルキルフェノンにアミン7種(アンモニアメタノール溶液、メチルアミンテトラヒドロフラン溶液、エチルアミンテトラヒドロフラン溶液、1-プロピルアミンテトラヒドロフラン溶液、2-プロピルアミンテトラヒドロフラン溶液、ジメチルアミンテトラヒドロフラン溶液及びピロリジン)をそれぞれ加えて、室温で24h 攪拌し反応させ、対応するCATs(合計98種)を合成した。これに塩化水素メタノール溶液を加えて塩酸塩とし、単離精製した。合成した標準品は、GC-MSにより純度が90%以上あることを確認した。

2.1.2.4 分析試料の調製

2.1.2.4-1 抽出操作

合成して得られたCATs標準品塩酸塩の水溶液に、炭酸緩衝液(pH~9)を添加し、酢酸エチルを加えて振とうした。遠心分離後、酢酸エチル相を分取し、無水硫酸ナトリウムを用いて脱水しGC-MSの試料とした。

2.1.2.4-2 トリフルオロアセチル(TFA)誘導体化

2.1.2.4-1項で分取し脱水した酢酸エチル相に塩化水素メタノール溶液を10 μ L 添加し、50 $^{\circ}$ Cの湯浴上で乾燥窒素を穏やかに吹き付けて乾固した。酢酸エチル100 μ L 及び、無水トリフルオロ酢酸50 μ L を添加後密封し、60 $^{\circ}$ Cの湯浴上で30 min 加熱し、TFA化反応を行った。反応液を50 $^{\circ}$ Cの湯浴上で乾燥窒素を穏やかに吹き付けて乾固した。得られた反応物を酢酸エチルに溶解しGC-MS

の試料とした。

2.1.3 実験の結果

2.1.3.1 遊離塩基の EI マススペクトル

GC-MS により得られた CATs 遊離塩基の EI マススペクトルのうち代表的なものを **Figure 2.3** に示す。それぞれのマススペクトルには特徴的なフラグメントパターンが観察された。**Table 2.1** には全 98 化合物のマスパターンをまとめて示す。メトカチノン (**Figure 2.1** における化合物 1b、**Figure 2.3** (a))、エトカチノン (化合物 1c、**Figure 2.3** (b))、*n*-プロピルカチノン (化合物 1d、**Figure 2.3** (c))、イソプロピルカチノン (化合物 1e、**Figure 2.3** (d))、 α -ピロリジノプロピオフェノン (α -PPP、化合物 1g、**Figure 2.3** (e))、 α -PBP (化合物 2g、**Figure 2.3** (f))、 α -PVP (化合物 3g、**Figure 2.3** (g))、 α -PHP (化合物 4g、**Figure 2.3** (h)) 及びペンテドロン (化合物 3b、**Figure 2.3** (i)) のいずれの EI マススペクトルにおいても、ベースピークとして m/z 58、72、86、98、112、126 または 140 の非常に強度の高いフラグメントイオン、並びに m/z 105 及び 77 の微弱なイオンが観察された。また、化合物によって強度が異なるものの m/z 44 のイオンが観察された。

2.1.3.2 TFA 誘導体の EI マススペクトル

第一級・第二級アミン構造を持つ CATs (**Figure 2.1** における a-e 群) における代表的な TFA 誘導体化前後の代表的な EI マススペクトルを **Figure 2.4** に示し、これを含めた TFA 誘導体 70 化合物のマスパターンを **Table 2.2** にまとめて示す。4-メチルメトカチノン (**Figure 2.1** における化合物 5b)、3,4-メチレンジオキシメトカチノン (bk-MDMA、メチロン、化合物 8b)、3,4-ジメチルメトカチノン (3,4-DMMC、化合物 11b)、4-エチルメトカチノン (化合物 12b) 及び 4-メトキシメトカチノン (化合物 13b) の遊離塩基の EI マススペクトル

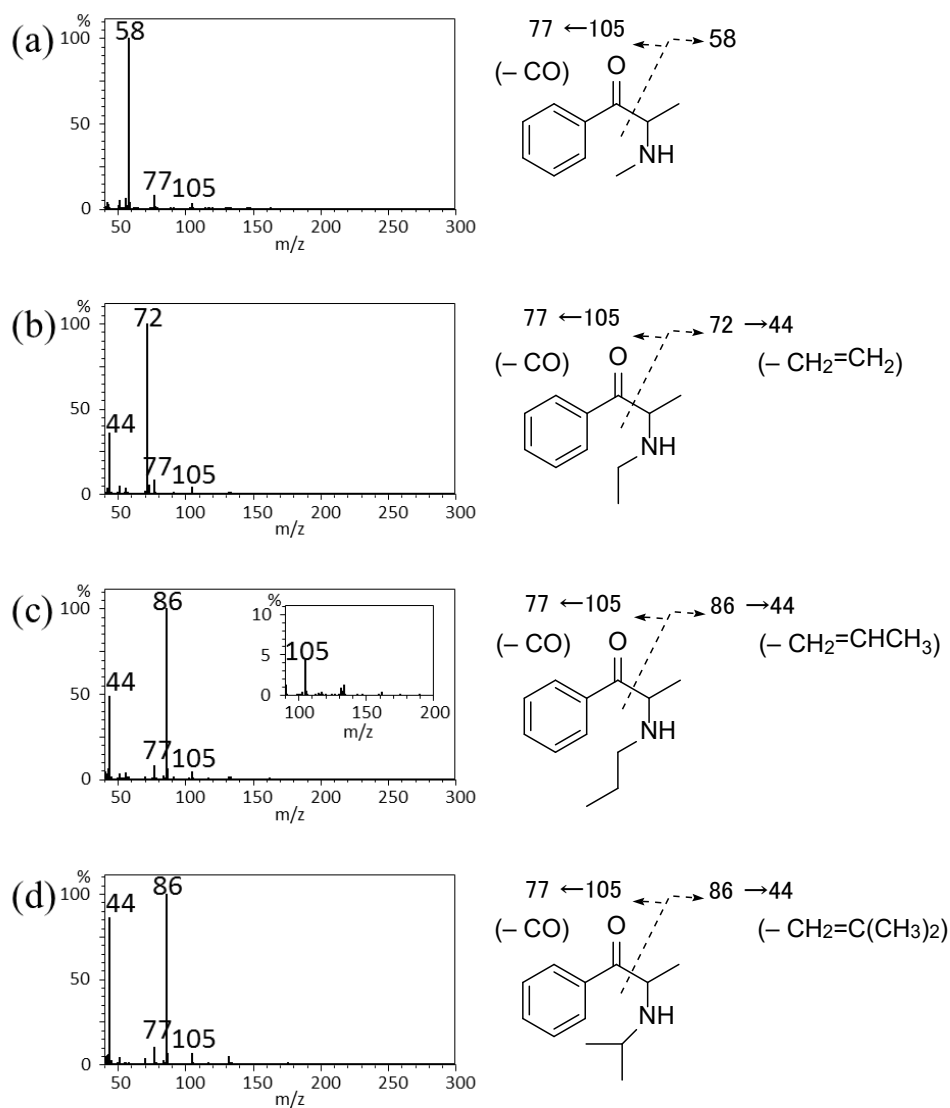


Figure 2.3. EI mass spectra of the free bases of (a) methcathinone, (b) ethcathinone, (c) *n*-propylcathinone, (d) isopropylcathinone, (e) α -PPP, (f) α -PBP, (g) α -PVP, (h) α -PHP and (i) pentedrone.

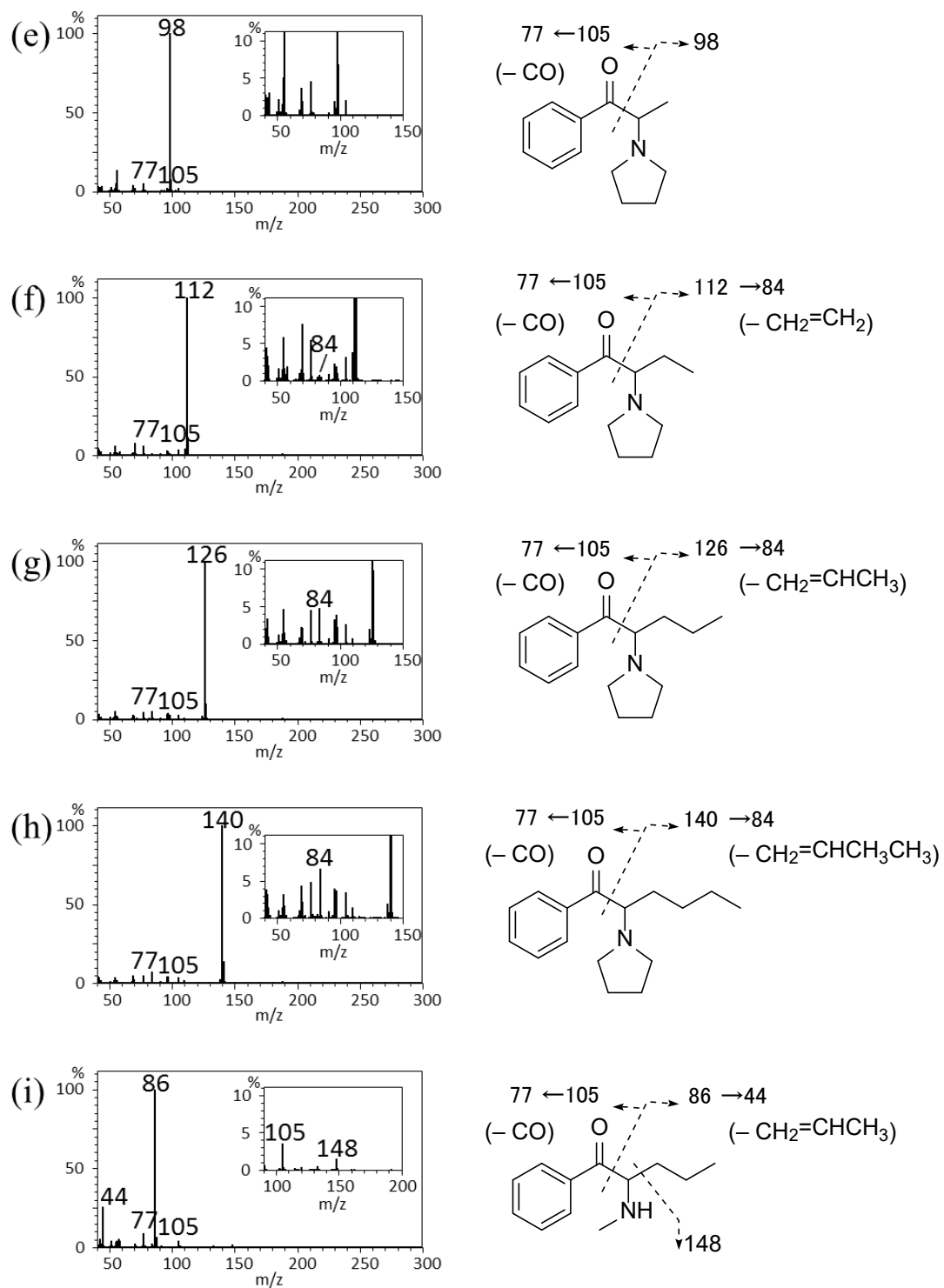


Figure 2.3. (Continued)

Table 2.1 EI mass spectra and retention indices of free bases of the cathinone-type designer drugs

No	Compounds	Fragment patterns of EI mass spectra (top 10 ions) <i>m/z</i> (relative intensity %)	RI ^a
1a	Cathinone	44, 77 (13 %), 51 (9.0 %), 105 (5.7 %), 43 (5.4 %), 42 (4.7 %), 57 (3.3 %), 71 (2.9 %), 50 (2.7 %), 45 (2.7 %)	1317
1b	Methcathinone	58, 77 (7.8 %), 56 (5.6 %), 51 (4.9 %), 59 (3.7 %), 42 (3.5 %), 105 (2.7 %), 43 (2.3 %), 57 (1.8 %), 50 (1.4 %)	1342
1c	Ethcathinone	72, 44 (34 %), 77 (8.3 %), 73 (5.1 %), 51 (4.2 %), 105 (3.9 %), 56 (3.2 %), 42 (2.8 %), 70 (1.5 %), 43 (1.2 %)	1399
1d	<i>n</i> -Propylcathinone	86, 44 (46 %), 77 (7.6 %), 87 (6.2 %), 43 (5.7 %), 105 (4.4 %), 41 (4.2 %), 56 (3.4 %), 51 (3.2 %), 42 (3.0 %)	1494
1e	Isopropylcathinone	86, 44 (82 %), 77 (10 %), 105 (6.9 %), 87 (6.4 %), 43 (5.8 %), 42 (5.2 %), 132 (4.5 %), 41 (4.0 %), 51 (3.9 %)	1421
1f	Dimethylcathinone	72, 44 (7.1 %), 42 (5.3 %), 77 (5.2 %), 73 (4.8 %), 56 (4.4 %), 70 (4.1 %), 51 (2.9 %), 57 (2.4 %), 105 (2.3 %)	1382
1g	α -PPP	98, 56 (11 %), 99 (7.6 %), 55 (4.4 %), 77 (4.3 %), 69 (3.3 %), 44 (2.5 %), 41 (2.3 %), 96 (2.1 %), 105 (2.1 %)	1638
2a	<i>N</i> -Desmethyl buphedrone	58, 41 (17 %), 77 (14 %), 51 (7.6 %), 105 (5.3 %), 59 (3.6 %), 56 (3.1 %), 43 (2.6 %), 134 (2.3 %), 42 (2.2 %)	1404
2b	Buphedrone	72, 57 (18 %), 77 (13 %), 42 (8.3 %), 73 (8.1 %), 44 (7.8 %), 41 (7.6 %), 51 (7.0 %), 56 (6.3 %), 105 (5.6 %)	1410
2c	<i>N</i> -Ethylbuphedrone (NEB)	86, 58 (31 %), 41 (16 %), 77 (14 %), 87 (11 %), 105 (6.7 %), 56 (6.0 %), 51 (5.1 %), 44 (3.9 %), 70 (3.2 %)	1465
2d	<i>N-n</i> -Propylbuphedrone	100, 58 (42 %), 41 (10 %), 101 (8.2 %), 77 (7.6 %), 43 (5.3 %), 105 (4.3 %), 56 (2.6 %), 51 (2.4 %), 70 (2.4 %)	1556
2e	<i>N</i> -Isopropylbuphedrone	100, 58 (74 %), 41 (11 %), 77 (8.7 %), 101 (7.4 %), 105 (5.4 %), 43 (4.8 %), 59 (2.9 %), 51 (2.7 %), 56 (2.4 %)	1484
2f	<i>N,N</i> -Dimethylbuphedrone	86, 71 (15 %), 87 (8.1 %), 77 (6.4 %), 42 (5.6 %), 44 (3.7 %), 56 (3.5 %), 72 (3.4 %), 105 (3.3 %), 70 (3.0 %)	1445
2g	α -PBP	112, 113 (11 %), 70 (7.7 %), 55 (5.9 %), 77 (5.5 %), 41 (4.5 %), 110 (3.9 %), 42 (3.2 %), 105 (3.2 %), 96 (2.4 %)	1700
3a	<i>N</i> -Desmethyl pentedrone	72, 77 (16 %), 51 (7.6 %), 105 (6.2 %), 73 (4.9 %), 55 (4.7 %), 43 (4.2 %), 44 (3.3 %), 56 (2.9 %), 42 (2.5 %)	1494
3b	Pentedrone	86, 44 (25 %), 77 (8.5 %), 87 (5.9 %), 42 (4.7 %), 57 (4.4 %), 58 (3.7 %), 56 (3.6 %), 51 (3.5 %), 105 (3.4 %)	1494
3c	<i>N</i> -Ethylpentedrone	100, 58 (17 %), 101 (7.4 %), 77 (7.3 %), 56 (4.1 %), 105 (3.4 %), 55 (2.9 %), 44 (2.8 %), 51 (2.5 %), 72 (2.1 %)	1543
3d	<i>N-n</i> -Propylpentedrone	114, 72 (15 %), 115 (8.5 %), 77 (5.9 %), 43 (4.6 %), 105 (3.7 %), 41 (3.2 %), 56 (2.4 %), 55 (2.1 %), 70 (1.7 %)	1632
3e	<i>N</i> -Isopropylpentedrone	114, 72 (39 %), 115 (8.3 %), 77 (7.5 %), 43 (5.6 %), 105 (4.9 %), 41 (3.6 %), 56 (2.9 %), 55 (2.8 %), 70 (2.6 %)	1561
3f	<i>N,N</i> -Dimethylpentedrone	100, 58 (14 %), 71 (8.2 %), 101 (8.0 %), 77 (6.2 %), 42 (5.1 %), 72 (3.8 %), 56 (3.7 %), 105 (3.0 %), 70 (2.6 %)	1525
3g	α -PVP	126, 127 (9.8 %), 84 (4.3 %), 55 (4.0 %), 77 (3.9 %), 97 (3.4 %), 42 (2.9 %), 96 (2.9 %), 105 (2.5 %), 69 (2.0 %)	1777

^a: RI, retention indices.

Table 2.1 (Continued)

No.	Compounds	Fragment patterns of EI mass spectra (top 10 ions) <i>m/z</i> (relative intensity %)	RI
4a	<i>N</i> -Desmethylohexedrone	86 , 77 (13 %), 69 (7.6 %), 44 (6.9 %), 41 (6.8 %), 105 (6.7 %), 87 (5.6 %), 51 (5.3 %), 56 (3.4 %), 43 (3.1 %)	1592
4b	Hexedrone	100 , 44 (23 %), 77 (7.7 %), 58 (7.6 %), 101 (7.3 %), 42 (5.0 %), 41 (4.2 %), 105 (3.6 %), 57 (3.5 %), 98 (3.3 %)	1588
4c	<i>N</i> -Ethylhexedrone	114 , 58 (21 %), 115 (10 %), 77 (7.4 %), 44 (5.1 %), 56 (4.7 %), 105 (4.3 %), 41 (4.1 %), 69 (3.3 %), 72 (2.5 %)	1635
4d	<i>N-n</i> -Propylhexedrone	128 , 129 (9.6 %), 86 (7.8 %), 77 (7.4 %), 43 (4.4 %), 41 (4.4 %), 105 (3.4 %), 69 (3.2 %), 72 (3.1 %), 56 (2.6 %)	1722
4e	<i>N</i> -Isopropylhexedrone	128 , 86 (30 %), 129 (9.4 %), 77 (6.1 %), 41 (5.2 %), 43 (5.2 %), 69 (5.0 %), 105 (4.4 %), 44 (3.1 %), 70 (2.3 %)	1649
4f	<i>N,N</i> -Dimethylhexedrone	114 , 58 (14 %), 115 (10 %), 72 (6.1 %), 71 (5.4 %), 77 (5.3 %), 42 (4.4 %), 105 (3.3 %), 56 (3.0 %), 70 (2.7 %)	1618
4g	α -PHP	140 , 141 (14 %), 84 (6.6 %), 77 (4.2 %), 96 (3.5 %), 97 (3.5 %), 69 (3.5 %), 41 (3.1 %), 105 (3.1 %), 42 (2.5 %)	1868
5a	4-Methylcathinone	44 , 91 (11 %), 65 (7.4 %), 119 (6.9 %), 42 (3.1 %), 45 (2.7 %), 89 (1.9 %), 43 (1.9 %), 63 (1.9 %), 92 (1.4 %)	1437
5b	4-Methylmethcathinone	58 , 91 (5.5 %), 56 (4.0 %), 65 (4.0 %), 59 (3.7 %), 42 (3.0 %), 119 (2.6 %), 57 (1.9 %), 43 (1.7 %), 120 (1.5 %)	1462
5c	4-Methylethcathinone (4-MEC)	72 , 44 (26 %), 91 (6.3 %), 73 (5.0 %), 65 (4.1 %), 119 (3.3 %), 56 (2.7 %), 42 (2.6 %), 89 (0.99 %), 63 (0.95 %)	1519
5d	4-Methyl- <i>n</i> -propylcathinone	86 , 44 (38 %), 91 (6.1 %), 87 (6.0 %), 43 (4.7 %), 65 (3.8 %), 41 (3.7 %), 119 (3.3 %), 56 (2.7 %), 42 (2.2 %)	1613
5e	4-Methylisopropylcathinone	86 , 44 (68 %), 91 (7.4 %), 87 (5.9 %), 119 (5.4 %), 65 (4.6 %), 43 (4.5 %), 42 (3.8 %), 41 (3.5 %), 70 (2.9 %)	1541
5f	4-Methyldimethylcathinone	72 , 44 (5.3 %), 73 (5.1 %), 91 (4.1 %), 42 (4.0 %), 56 (3.8 %), 70 (3.2 %), 65 (3.0 %), 57 (2.0 %), 119 (1.7 %)	1501
5g	MPPP (Desethylpyrovalerone)	98 , 56 (9.8 %), 99 (7.5 %), 55 (3.7 %), 91 (3.4 %), 69 (2.8 %), 65 (2.2 %), 44 (2.1 %), 41 (1.9 %), 119 (1.8 %)	1762
6a	4-Methyl- <i>N</i> -desmethylbuphedrone	58 , 41 (12 %), 91 (11 %), 65 (6.7 %), 119 (5.7 %), 59 (3.7 %), 57 (2.5 %), 56 (2.3 %), 148 (1.7 %), 89 (1.7 %)	1525
6b	4-Methylbuphedrone	72 , 57 (11 %), 91 (8.8 %), 73 (6.7 %), 65 (5.6 %), 42 (5.1 %), 41 (4.7 %), 44 (4.6 %), 119 (4.3 %), 56 (4.1 %)	1530
6c	4-Methyl- <i>N</i> -ethylbuphedrone	86 , 58 (20 %), 41 (10 %), 87 (8.8 %), 91 (7.8 %), 65 (5.0 %), 56 (4.6 %), 119 (4.5 %), 70 (2.4 %), 44 (2.4 %)	1583
6d	4-Methyl- <i>N-n</i> -propylbuphedrone	100 , 58 (32 %), 41 (7.4 %), 101 (7.1 %), 91 (5.7 %), 43 (4.0 %), 119 (3.2 %), 65 (3.0 %), 70 (2.1 %), 56 (2.1 %)	1674
6e	4-Methyl- <i>N</i> -isopropylbuphedrone	100 , 58 (62 %), 41 (9.0 %), 101 (7.2 %), 91 (6.9 %), 119 (4.6 %), 43 (3.8 %), 65 (3.6 %), 59 (2.3 %), 56 (2.1 %)	1601
6f	4-Methyldimethylbuphedrone	86 , 71 (17 %), 87 (9.9 %), 91 (6.4 %), 42 (6.3 %), 65 (4.2 %), 44 (4.2 %), 56 (4.2 %), 119 (3.7 %), 70 (3.6 %)	1565
6g	MPBP	112 , 113 (11 %), 70 (7.3 %), 55 (5.5 %), 91 (5.0 %), 41 (4.3 %), 110 (3.4 %), 42 (3.0 %), 65 (2.6 %), 119 (2.6 %)	1823

Table 2.1 (Continued)

No.	Compounds	Fragment patterns of EI mass spectra (top 10 ions) <i>m/z</i> (relative intensity %)	RI
7a	4-Methyl- <i>N</i> -desmethylpentedrone	72 , 91 (11 %), 65 (6.7 %), 119 (5.8 %), 73 (4.8 %), 55 (3.3 %), 43 (2.5 %), 56 (2.4 %), 89 (1.6 %), 148 (1.5 %)	1615
7b	4-Methylpentedrone	86 , 44 (25 %), 91 (7.8 %), 87 (7.8 %), 42 (5.3 %), 65 (5.0 %), 57 (4.8 %), 119 (4.3 %), 56 (4.0 %), 58 (3.8 %)	1613
7c	4-Methyl- <i>N</i> -Ethylpentedrone	100 , 58 (13 %), 101 (8.6 %), 91 (5.9 %), 119 (3.5 %), 56 (3.5 %), 65 (2.9 %), 55 (2.3 %), 44 (2.0 %), 72 (1.9 %)	1662
7d	4-Methyl- <i>N</i> - <i>n</i> -propylpentedrone	114 , 72 (12 %), 115 (8.5 %), 91 (5.1 %), 43 (3.9 %), 119 (3.1 %), 41 (2.7 %), 65 (2.4 %), 56 (2.0 %), 55 (1.8 %)	1750
7e	4-Methyl- <i>N</i> -isopropylpentedrone	114 , 72 (34 %), 115 (8.4 %), 91 (6.4 %), 43 (4.4 %), 119 (4.2 %), 65 (3.1 %), 41 (2.9 %), 70 (2.3 %), 55 (2.3 %)	1678
7f	4-Methyl-dimethylpentedrone	100 , 58 (9.2 %), 101 (8.0 %), 71 (5.6 %), 91 (4.2 %), 72 (2.9 %), 42 (2.9 %), 56 (2.5 %), 119 (2.3 %), 65 (2.1 %)	1645
7g	Pyrovalerone	126 , 127 (11 %), 84 (3.7 %), 91 (3.3 %), 55 (3.1 %), 97 (2.8 %), 96 (2.6 %), 42 (2.4 %), 119 (2.1 %), 124 (1.7 %)	1898
8a	bk-MDA	44 , 149 (9.4 %), 121 (8.5 %), 65 (6.3 %), 63 (5.8 %), 42 (2.8 %), 45 (2.7 %), 193 (2.3 %), 91 (2.2 %), 62 (2.0 %)	1696
8b	bk-MDMA (Methylone)	58 , 59 (6.6 %), 65 (6.1 %), 121 (6.0 %), 63 (5.3 %), 149 (5.2 %), 42 (3.9 %), 56 (3.8 %), 91 (2.9 %), 43 (2.7 %)	1720
8c	bk-MDEA (Ethylone)	72 , 44 (31 %), 42 (7.0 %), 73 (7.0 %), 70 (6.0 %), 65 (5.6 %), 149 (5.3 %), 121 (4.9 %), 63 (4.4 %), 56 (2.8 %)	1777
8d	3,4-Methylenedioxy- <i>N</i> - <i>n</i> -propylcathinone	86 , 44 (38 %), 87 (7.3 %), 65 (3.9 %), 149 (3.6 %), 43 (3.4 %), 121 (3.2 %), 41 (2.7 %), 56 (2.5 %), 135 (2.5 %)	1872
8e	3,4-Methylenedioxy- <i>N</i> -isopropylcathinone	86 , 44 (64 %), 149 (7.9 %), 87 (7.2 %), 65 (5.3 %), 42 (4.4 %), 43 (4.4 %), 121 (4.2 %), 63 (3.5 %), 70 (3.0 %)	1796
8f	bk-MDDMA	72 , 73 (8.1 %), 44 (7.0 %), 42 (5.3 %), 56 (4.8 %), 70 (4.4 %), 65 (4.3 %), 63 (3.5 %), 149 (2.9 %), 121 (2.7 %)	1760
8g	MDPPP	98 , 56 (11 %), 99 (9.3 %), 55 (4.4 %), 69 (3.1 %), 65 (3.1 %), 44 (2.4 %), 149 (2.2 %), 41 (2.0 %), 63 (2.0 %)	2031
9a	3,4-Methylenedioxydesmethyl-buphedrone	58 , 41 (11 %), 121 (7.0 %), 149 (6.8 %), 65 (6.1 %), 57 (5.2 %), 63 (4.8 %), 59 (3.7 %), 56 (2.0 %), 91 (1.9 %)	1787
9b	3,4-Methylenedioxybuphedrone	72 , 57 (8.9 %), 73 (6.2 %), 65 (4.7 %), 121 (4.5 %), 42 (4.4 %), 56 (4.4 %), 149 (4.3 %), 44 (3.8 %), 63 (3.7 %)	1790
9c	3,4-Methylenedioxy- <i>N</i> -ethyl-buphedrone	86 , 58 (13 %), 87 (7.4 %), 41 (5.9 %), 149 (4.2 %), 65 (3.6 %), 121 (3.5 %), 56 (3.5 %), 63 (2.5 %), 70 (1.8 %)	1841
9d	3,4-Methylenedioxy- <i>N</i> - <i>n</i> -propyl-buphedrone	100 , 58 (30 %), 101 (7.8 %), 41 (6.7 %), 149 (4.0 %), 43 (4.0 %), 65 (3.3 %), 121 (3.1 %), 56 (2.1 %), 63 (2.1 %)	1932
9e	3,4-Methylenedioxy- <i>N</i> -isopropyl-buphedrone	100 , 58 (59 %), 41 (8.3 %), 101 (7.2 %), 149 (5.5 %), 65 (4.0 %), 43 (3.7 %), 121 (3.5 %), 63 (2.4 %), 59 (2.2 %)	1857
9f	3,4-Methylenedioxy- <i>N,N</i> -dimethylbuphedrone	86 , 71 (8.5 %), 87 (6.8 %), 42 (3.1 %), 149 (2.4 %), 65 (2.4 %), 56 (2.3 %), 70 (2.2 %), 121 (2.0 %), 44 (2.0 %)	1821
9g	MDPBP	112 , 113 (12 %), 70 (7.3 %), 55 (5.7 %), 41 (4.2 %), 110 (3.6 %), 149 (3.3 %), 65 (3.3 %), 42 (3.1 %), 121 (2.4 %)	2092

Table 2.1 (Continued)

No	Compounds	Fragment patterns of EI mass spectra (top 10 ions) <i>m/z</i> (relative intensity %)	RI
10a	Desmethylpentylone	72 , 149 (7.3 %), 121 (7.2 %), 65 (7.1 %), 63 (4.6 %), 73 (4.5 %), 71 (3.9 %), 55 (3.4 %), 43 (2.2 %), 56 (2.1 %)	1880
10b	Pentylone	86 , 44 (18 %), 87 (6.0 %), 84 (5.4 %), 42 (4.9 %), 65 (3.8 %), 121 (3.4 %), 149 (3.3 %), 57 (3.2 %), 58 (2.6 %)	1874
10c	<i>N</i> -Ethylpentylone	100 , 58 (13 %), 101 (7.1 %), 56 (3.7 %), 65 (3.3 %), 149 (3.2 %), 121 (2.8 %), 55 (2.3 %), 44 (2.0 %), 63 (2.0 %)	1918
10d	<i>N-n</i> -propylpentylone	114 , 72 (11 %), 115 (8.3 %), 43 (4.0 %), 149 (3.4 %), 65 (2.9 %), 121 (2.5 %), 41 (2.5 %), 56 (2.0 %), 55 (1.8 %)	2008
10e	<i>N</i> -Isopropylpentylone	114 , 72 (31 %), 115 (8.0 %), 149 (4.7 %), 43 (4.4 %), 65 (3.8 %), 121 (3.1 %), 41 (2.6 %), 70 (2.4 %), 55 (2.3 %)	1934
10f	<i>N,N</i> -Dimethylpentylone	100 , 58 (9.6 %), 101 (7.0 %), 71 (5.3 %), 42 (3.2 %), 72 (2.9 %), 56 (2.7 %), 65 (2.5 %), 70 (2.2 %), 149 (1.9 %)	1901
10g	MDPV	126 , 127 (9.6 %), 55 (4.3 %), 84 (3.9 %), 97 (3.1 %), 42 (2.9 %), 96 (2.6 %), 65 (2.4 %), 149 (2.2 %), 69 (2.0 %)	2166
11a	3,4-Dimethylcathinone (3,4-DMC)	44 , 135 (10 %), 77 (8.3 %), 133 (7.9 %), 105 (6.6 %), 136 (5.5 %), 79 (4.9 %), 42 (4.6 %), 91 (3.5 %), 103 (3.2 %)	1565
11b	3,4-Dimethylmethcathinone (3,4-DMMC)	58 , 59 (4.1 %), 77 (3.3 %), 56 (3.2 %), 105 (2.6 %), 79 (2.5 %), 133 (2.4 %), 42 (2.2 %), 57 (1.9 %), 103 (1.7 %)	1588
11c	3,4-Dimethylethcathinone	72 , 44 (21 %), 73 (5.3 %), 133 (3.0 %), 77 (3.0 %), 105 (2.8 %), 56 (2.6 %), 42 (2.5 %), 79 (2.4 %), 103 (1.7 %)	1645
11d	3,4-Dimethyl- <i>N-n</i> -propylcathinone	86 , 44 (29 %), 87 (6.2 %), 43 (3.2 %), 133 (2.9 %), 105 (2.7 %), 41 (2.6 %), 77 (2.5 %), 56 (2.3 %), 79 (2.1 %)	1736
11e	3,4-Dimethyl- <i>N</i> -isopropylcathinone	86 , 44 (54 %), 87 (6.4 %), 133 (5.2 %), 105 (3.6 %), 43 (3.5 %), 77 (3.1 %), 42 (2.9 %), 70 (2.7 %), 79 (2.7 %)	1662
11f	3,4-Dimethyl- <i>N,N</i> -dimethylcathinone	72 , 73 (7.3 %), 44 (6.0 %), 42 (4.6 %), 56 (4.6 %), 70 (3.7 %), 77 (2.8 %), 105 (2.4 %), 57 (2.3 %), 79 (2.1 %)	1623
11g	3,4-Dimethyl-PPP	98 , 56 (9.5 %), 99 (8.7 %), 55 (3.5 %), 69 (2.7 %), 44 (2.0 %), 77 (1.8 %), 105 (1.7 %), 133 (1.7 %), 41 (1.6 %)	1884
12a	4-Ethylcathinone	44 , 133 (6.0 %), 79 (4.1 %), 77 (4.0 %), 45 (2.6 %), 103 (2.4 %), 42 (2.1 %), 89 (1.6 %), 51 (1.4 %), 90 (1.3 %)	1536
12b	4-Ethylmethcathinone	58 , 59 (3.7 %), 77 (2.7 %), 56 (2.7 %), 42 (2.5 %), 133 (2.2 %), 120 (2.1 %), 79 (2.0 %), 57 (1.6 %), 103 (1.3 %)	1559
12c	4-Ethylethcathinone	72 , 44 (21 %), 73 (4.9 %), 133 (2.7 %), 56 (2.4 %), 42 (2.2 %), 79 (2.2 %), 77 (2.2 %), 70 (1.8 %), 105 (1.4 %)	1615
12d	4-Ethyl- <i>N-n</i> -propylcathinone	86 , 44 (28 %), 87 (6.0 %), 43 (3.4 %), 133 (2.9 %), 41 (2.5 %), 56 (2.2 %), 77 (2.2 %), 79 (2.1 %), 105 (1.8 %)	1707
12e	4-Ethyl- <i>N</i> -isopropylcathinone	86 , 44 (52 %), 87 (6.0 %), 133 (4.4 %), 43 (3.5 %), 42 (2.9 %), 77 (2.6 %), 79 (2.5 %), 70 (2.5 %), 41 (2.4 %)	1635
12f	4-Ethyl- <i>N,N</i> -dimethylcathinone	72 , 73 (5.5 %), 44 (4.5 %), 42 (3.4 %), 56 (3.4 %), 70 (2.8 %), 77 (1.9 %), 57 (1.7 %), 133 (1.7 %), 79 (1.5 %)	1597
12g	4-Ethyl-PPP	98 , 56 (10 %), 99 (10 %), 55 (4.1 %), 69 (3.2 %), 44 (2.2 %), 133 (2.2 %), 96 (2.0 %), 41 (1.9 %), 77 (1.9 %)	1859

Table 2.1 (Continued)

No.	Compounds	Fragment patterns of EI mass spectra (top 10 ions) <i>m/z</i> (relative intensity %)	RI
13a	4-Methoxycathinone	44 , 135 (15 %), 77 (8.5 %), 92 (5.6 %), 107 (4.0 %), 64 (4.0 %), 45 (2.6 %), 63 (2.5 %), 42 (2.5 %), 136 (2.0 %)	1607
13b	4-Methoxymethcathinone	58 , 135 (7.3 %), 77 (6.8 %), 59 (6.4 %), 92 (5.3 %), 56 (4.3 %), 42 (3.7 %), 64 (3.4 %), 57 (2.8 %), 107 (2.5 %)	1631
13c	4-Methoxyethcathinone	72 , 44 (28 %), 73 (6.9 %), 135 (6.8 %), 77 (5.2 %), 92 (4.1 %), 42 (3.2 %), 64 (2.6 %), 56 (2.4 %), 70 (2.1 %)	1688
13d	4-Methoxy- <i>N-n</i> -propylcathinone	86 , 44 (35 %), 87 (7.1 %), 135 (6.2 %), 42 (6.0 %), 43 (4.9 %), 77 (4.6 %), 84 (4.3 %), 41 (3.2 %), 92 (3.1 %)	1782
13e	4-Methoxy- <i>N-isopropyl</i> cathinone	86 , 44 (61 %), 135 (10 %), 87 (7.2 %), 77 (5.1 %), 43 (4.2 %), 42 (3.9 %), 92 (3.5 %), 70 (3.2 %), 41 (2.7 %)	1707
13f	4-Methoxy- <i>N,N</i> -dimethylcathinone	72 , 73 (8.2 %), 44 (6.7 %), 42 (5.1 %), 56 (4.9 %), 135 (4.1 %), 70 (4.0 %), 77 (3.9 %), 92 (3.2 %), 57 (2.5 %)	1670
13g	4-MeO-PPP (MOPPP)	98 , 56 (9.1 %), 99 (8.0 %), 55 (3.6 %), 135 (2.6 %), 69 (2.5 %), 77 (2.3 %), 44 (1.9 %), 92 (1.7 %), 96 (1.6 %)	1935
14a	1-(2-Naphthalenyl)-2-amino-1-pentanone	72 , 127 (17 %), 128 (5.0 %), 73 (4.9 %), 155 (4.1 %), 126 (3.4 %), 77 (3.2 %), 75 (1.7 %), 101 (1.4 %), 129 (1.4 %)	2071
14b	1-(2-Naphthalenyl)-2-methylamino-1-pentanone	86 , 44 (14 %), 127 (9.6 %), 87 (6.1 %), 42 (3.0 %), 57 (2.7 %), 128 (2.1 %), 126 (2.1 %), 58 (2.0 %), 56 (2.0 %)	2059
14c	1-(2-Naphthalenyl)-2-ethylamino-1-pentanone	100 , 58 (11 %), 127 (8.9 %), 101 (8.3 %), 56 (3.3 %), 155 (2.2 %), 55 (2.1 %), 128 (1.9 %), 44 (1.7 %), 126 (1.7 %)	2102
14d	1-(2-Naphthalenyl)-2- <i>n</i> -propylamino-1-pentanone	114 , 72 (9.5 %), 115 (8.3 %), 127 (7.4 %), 43 (3.6 %), 41 (2.2 %), 155 (2.0 %), 56 (1.8 %), 70 (1.8 %), 55 (1.8 %)	2193
14e	1-(2-Naphthalenyl)-2-isopropylamino-1-pentanone	114 , 72 (24 %), 127 (8.7 %), 115 (8.5 %), 43 (3.3 %), 155 (2.7 %), 70 (2.0 %), 41 (2.0 %), 55 (1.9 %), 128 (1.8 %)	2112
14f	1-(2-Naphthalenyl)-2-(<i>N,N</i> -dimethylamino)-1-pentanone	100 , 101 (8.6 %), 58 (7.7 %), 127 (6.7 %), 71 (4.9 %), 42 (2.7 %), 56 (2.5 %), 72 (2.1 %), 70 (1.6 %), 126 (1.4 %)	2084
14g	Naphyrone	126 , 127 (15 %), 55 (3.1 %), 84 (3.0 %), 97 (2.6 %), 96 (2.3 %), 42 (2.1 %), 69 (1.7 %), 124 (1.4 %), 98 (1.4 %)	2357

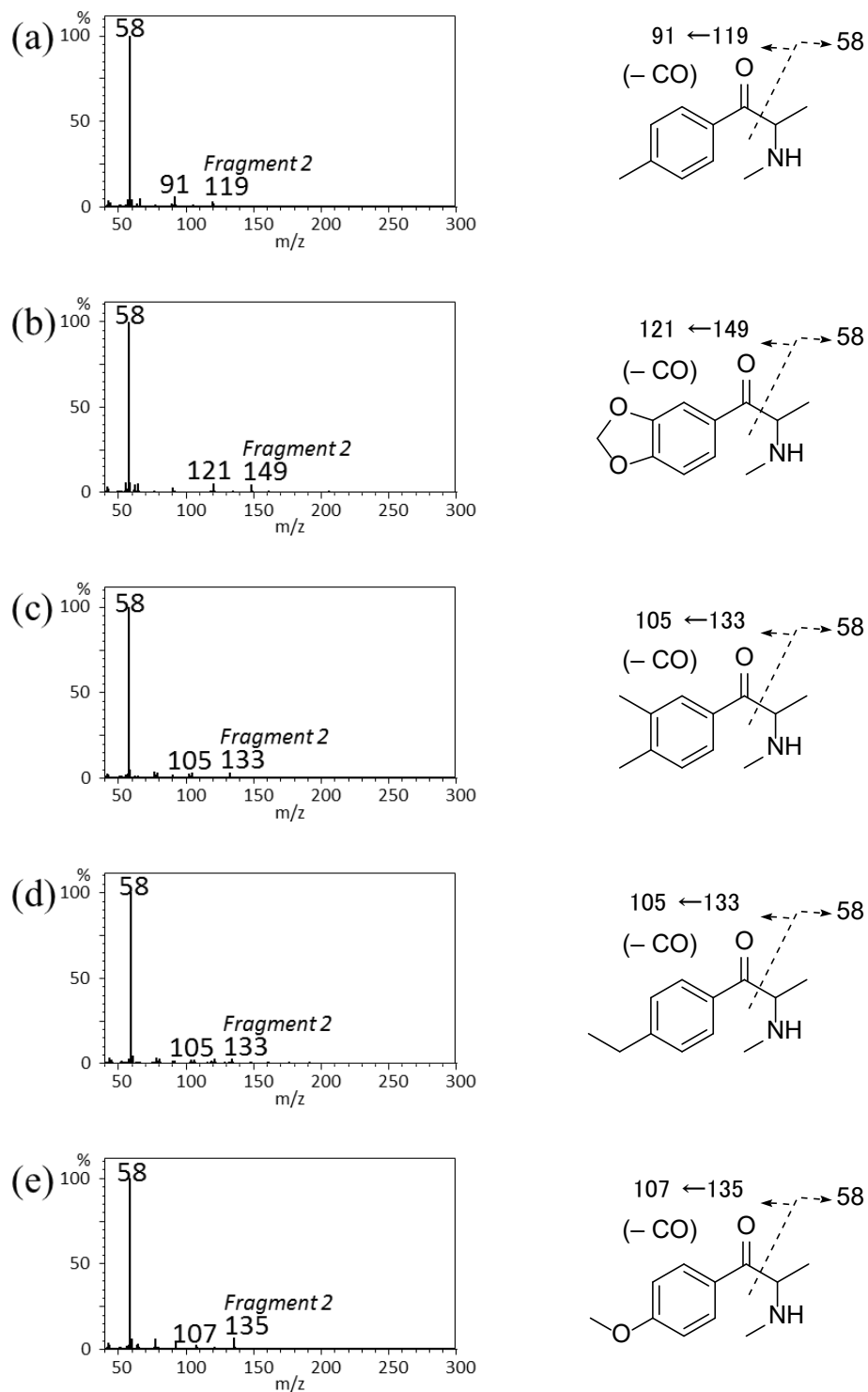


Figure 2.4. EI mass spectra of (a) 4-methylmethcathinone, (b) bk-MDMA, (c) 3,4-DMMC, (d) 4-ethylmethcathinone, (e) 4-methoxymethcathinone, (f) 4-methylmethcathinone-TFA, (g) bk-MDMA-TFA, (h) 3,4-DMMC-TFA, (i) 4-ethylmethcathinone-TFA and (j) 4-methoxymethcathinone-TFA.

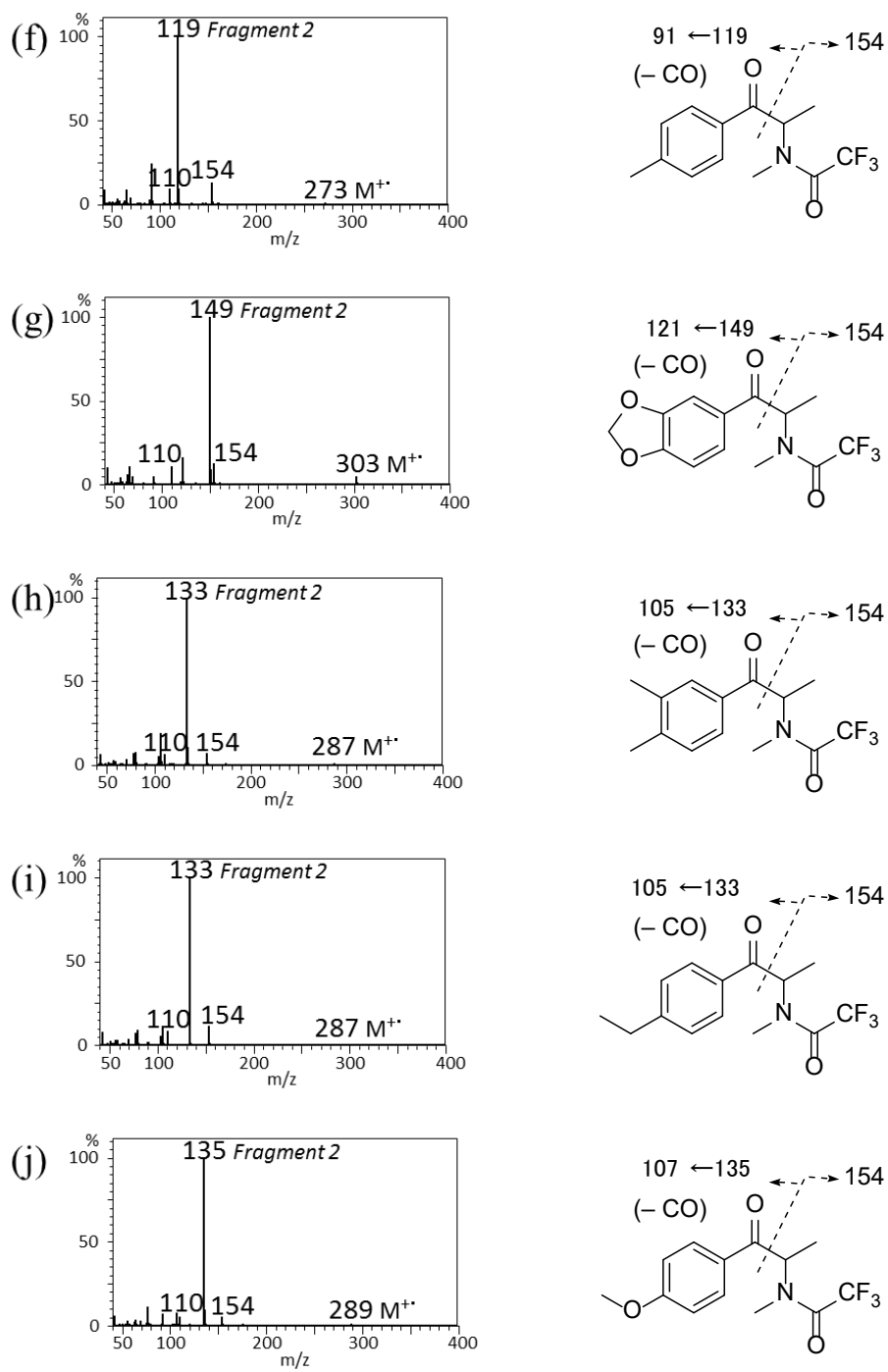


Figure 2.4. (Continued)

Table 2.2 EI mass spectra and retention indices of TFA derivatives of the cathinone-type designer drugs

No	Compounds	Fragment patterns of EI mass spectra (top 10 ions) <i>m/z</i> (relative intensity %)	RI ^a
1a	Cathinone	105 , 77 (41 %), 51 (10 %), 106 (7.0 %), 69 (4.1 %), 140 (3.2 %), 78 (3.1 %), 50 (2.7 %), 132 (1.8 %), 45 (1.5 %)	1420
1b	Methcathinone	105 , 154 (48 %), 77 (32 %), 110 (25 %), 42 (19 %), 51 (11 %), 106 (8.4 %), 56 (6.8 %), 69 (6.4 %), 134 (3.7 %)	1452
1c	Ethcathinone	168 , 105 (86 %), 140 (45 %), 77 (40 %), 51 (14 %), 70 (12 %), 134 (11 %), 56 (8.0 %), 69 (7.6 %), 169 (7.5 %)	1528
1d	<i>n</i> -Propylcathinone	182 , 140 (92 %), 105 (83 %), 43 (45 %), 77 (42 %), 41 (16 %), 51 (12 %), 134 (8.8 %), 56 (8.5 %), 183 (8.2 %)	1590
1e	Isopropylcathinone	140 , 182 (41 %), 105 (34 %), 43 (25 %), 77 (24 %), 41 (9.3 %), 51 (7.5 %), 70 (7.0 %), 141 (4.6 %), 42 (4.3 %)	1593
2a	<i>N</i> -Desmethyl buphedrone	105 , 77 (30 %), 106 (8.1 %), 51 (7.1 %), 41 (6.8 %), 69 (3.0 %), 78 (2.9 %), 154 (2.8 %), 126 (1.9 %), 50 (1.5 %)	1479
2b	Buphedrone	105 , 168 (89 %), 77 (42 %), 42 (41 %), 110 (29 %), 41 (19 %), 51 (13 %), 71 (8.8 %), 69 (8.1 %), 106 (7.8 %)	1507
2c	<i>N</i> -Ethylbuphedrone (NEB)	182 , 105 (52 %), 77 (34 %), 41 (25 %), 56 (20 %), 154 (16 %), 126 (11 %), 51 (10 %), 183 (8.3 %), 59 (7.8 %)	1570
2d	<i>N-n</i> -Propylbuphedrone	196 , 154 (61 %), 105 (47 %), 43 (37 %), 77 (33 %), 41 (31 %), 126 (13 %), 197 (9.2 %), 51 (8.3 %), 59 (6.7 %)	1626
2e	<i>N</i> -Isopropylbuphedrone	154 , 196 (48 %), 105 (30 %), 43 (27 %), 77 (27 %), 41 (25 %), 126 (8.4 %), 51 (7.4 %), 59 (7.2 %), 155 (5.9 %)	1641
3a	<i>N</i> -Desmethyl pentedrone	105 , 77 (26 %), 55 (8.7 %), 106 (8.4 %), 51 (5.7 %), 126 (4.8 %), 78 (3.2 %), 69 (2.4 %), 114 (1.2 %), 43 (1.2 %)	1545
3b	Pentedrone	105 , 140 (97 %), 182 (97 %), 55 (52 %), 77 (51 %), 42 (22 %), 128 (20 %), 110 (15 %), 51 (14 %), 69 (8.6 %)	1582
3c	<i>N</i> -Ethylpentedrone	196 , 154 (52 %), 55 (47 %), 105 (45 %), 77 (33 %), 126 (24 %), 142 (17 %), 197 (8.4 %), 51 (8.3 %), 56 (6.6 %)	1641
3d	<i>N-n</i> -Propylpentedrone	210 , 55 (37 %), 105 (29 %), 168 (25 %), 77 (23 %), 126 (22 %), 211 (9.8 %), 114 (8.6 %), 156 (4.6 %), 315 (4.4 %)	1693
3e	<i>N</i> -Isopropylpentedrone	168 , 55 (90 %), 210 (86 %), 105 (63 %), 126 (55 %), 77 (46 %), 43 (46 %), 114 (22 %), 41 (17 %), 51 (11 %)	1706
4a	<i>N</i> -Desmethyl hexedrone	105 , 77 (22 %), 69 (8.7 %), 106 (8.0 %), 41 (4.7 %), 51 (4.3 %), 133 (3.2 %), 126 (3.1 %), 78 (2.4 %), 43 (1.9 %)	1624
4b	Hexedrone	140 , 196 (99 %), 105 (86 %), 69 (56 %), 77 (44 %), 41 (24 %), 42 (20 %), 128 (16 %), 110 (13 %), 51 (11 %)	1669
4c	<i>N</i> -Ethylhexedrone	210 , 154 (53 %), 69 (42 %), 105 (31 %), 77 (21 %), 41 (14 %), 126 (12 %), 142 (12 %), 211 (11 %), 56 (4.6 %)	1726
4d	<i>N-n</i> -Propylhexedrone	224 , 69 (46 %), 105 (27 %), 43 (26 %), 168 (21 %), 77 (20 %), 41 (18 %), 126 (17 %), 225 (11 %), 114 (6.2 %)	1777
4e	<i>N</i> -Isopropylhexedrone	224 , 69 (95 %), 182 (80 %), 43 (29 %), 105 (27 %), 77 (23 %), 126 (23 %), 41 (21 %), 114 (12 %), 225 (12 %)	1788

a: RI, retention indices.

Table 2.2 (Continued)

No	Compounds	Fragment patterns of EI mass spectra (top 10 ions) <i>m/z</i> (relative intensity %)	RI
5a	4-Methylcathinone	119 , 91 (35 %), 65 (11 %), 120 (8.6 %), 69 (3.5 %), 92 (3.4 %), 89 (2.7 %), 140 (2.0 %), 63 (2.0 %), 90 (1.7 %)	1530
5b	4-Methylmethcathinone	119 , 91 (24 %), 154 (12 %), 110 (9.4 %), 65 (9.2 %), 42 (9.2 %), 120 (9.2 %), 69 (3.9 %), 56 (3.8 %), 58 (2.6 %)	1561
5c	4-Methylethcathinone (4-MEC)	119 , 168 (24 %), 91 (21 %), 140 (13 %), 120 (9.1 %), 65 (7.8 %), 70 (4.1 %), 148 (3.6 %), 92 (2.7 %), 45 (2.3 %)	1636
5d	4-Methyl- <i>n</i> -propylcathinone	119 , 140 (27 %), 182 (21 %), 91 (20 %), 120 (8.5 %), 65 (7.5 %), 43 (5.5 %), 148 (5.2 %), 41 (3.1 %), 92 (2.4 %)	1696
5e	4-Methylisopropylcathinone	140 , 119 (99 %), 182 (34 %), 91 (30 %), 43 (23 %), 65 (12 %), 41 (10 %), 120 (9.2 %), 70 (7.1 %), 141 (4.9 %)	1697
6a	4-Methyl- <i>N</i> -desmethyl-buphedrone	119 , 91 (27 %), 120 (8.8 %), 65 (8.1 %), 41 (4.8 %), 92 (2.2 %), 69 (2.0 %), 89 (2.0 %), 90 (1.6 %), 63 (1.2 %)	1591
6b	4-Methylbuphedrone	119 , 91 (22 %), 168 (16 %), 42 (13 %), 120 (8.7 %), 65 (8.0 %), 110 (7.1 %), 41 (7.0 %), 69 (3.2 %), 71 (2.5 %)	1618
6c	4-Methyl- <i>N</i> -ethylbuphedrone	119 , 182 (39 %), 91 (23 %), 41 (13 %), 56 (9.1 %), 120 (8.7 %), 65 (8.5 %), 154 (6.8 %), 162 (5.3 %), 126 (5.0 %)	1678
6d	4-Methyl- <i>N</i> - <i>n</i> -propylbuphedrone	119 , 196 (45 %), 154 (32 %), 91 (24 %), 43 (21 %), 41 (18 %), 65 (8.7 %), 120 (8.7 %), 126 (7.6 %), 162 (6.0 %)	1733
6e	4-Methyl- <i>N</i> -isopropylbuphedrone	154 , 119 (67 %), 196 (47 %), 91 (27 %), 43 (25 %), 41 (23 %), 65 (10 %), 126 (7.0 %), 155 (6.3 %), 120 (6.2 %)	1746
7a	4-Methyl- <i>N</i> -desmethylpentedrone	119 , 91 (23 %), 120 (9.3 %), 65 (6.8 %), 55 (4.0 %), 126 (2.1 %), 92 (1.9 %), 89 (1.7 %), 69 (1.4 %), 90 (1.3 %)	1655
7b	4-Methylpentedrone	119 , 140 (21 %), 91 (19 %), 182 (14 %), 55 (12 %), 120 (8.6 %), 65 (6.6 %), 42 (5.6 %), 128 (4.7 %), 110 (3.9 %)	1691
7c	4-Methyl- <i>N</i> -Ethylpentedrone	119 , 196 (43 %), 154 (27 %), 55 (25 %), 91 (24 %), 126 (13 %), 142 (8.9 %), 120 (8.7 %), 65 (8.3 %), 56 (4.6 %)	1749
7d	4-Methyl- <i>N</i> - <i>n</i> -propylpentedrone	119 , 210 (70 %), 55 (36 %), 91 (27 %), 168 (20 %), 126 (18 %), 43 (15 %), 120 (8.6 %), 65 (8.3 %), 114 (7.0 %)	1800
7e	4-Methyl- <i>N</i> -isopropylpentedrone	168 , 119 (92 %), 210 (90 %), 55 (74 %), 126 (44 %), 91 (43 %), 43 (39 %), 114 (19 %), 41 (15 %), 65 (15 %)	1811
8a	bk-MDA	149 , 121 (22 %), 65 (12 %), 150 (8.8 %), 63 (7.1 %), 91 (4.4 %), 69 (3.9 %), 289 (3.5 %), 122 (1.9 %), 62 (1.8 %)	1779
8b	bk-MDMA (Methylone)	149 , 121 (16 %), 154 (12 %), 65 (11 %), 110 (10 %), 42 (9.8 %), 150 (8.7 %), 63 (5.8 %), 69 (4.3 %), 91 (4.2 %)	1813
8c	bk-MDEA (Ethylone)	149 , 168 (22 %), 140 (14 %), 121 (14 %), 65 (10 %), 150 (8.9 %), 63 (5.4 %), 91 (4.4 %), 70 (4.4 %), 317 (3.4 %)	1887
8d	3,4-Methylenedioxy- <i>N</i> - <i>n</i> -propylcathinone	149 , 140 (27 %), 182 (18 %), 43 (16 %), 121 (13 %), 65 (9.5 %), 150 (8.9 %), 41 (7.2 %), 91 (4.8 %), 63 (4.4 %)	1948
8e	3,4-Methylenedioxy- <i>N</i> -isopropylcathinone	149 , 140 (86 %), 182 (21 %), 43 (21 %), 121 (16 %), 65 (13 %), 150 (9.3 %), 41 (8.2 %), 63 (6.4 %), 70 (6.2 %)	1950

Table 2.2 (Continued)

No	Compounds	Fragment patterns of EI mass spectra (top 10 ions) <i>m/z</i> (relative intensity %)	RI
9a	3,4-Methylenedioxydesmethylbuphedrone	149 , 121 (19 %), 65 (11 %), 150 (8.8 %), 63 (5.8 %), 41 (5.6 %), 91 (3.3 %), 69 (2.8 %), 303 (2.6 %), 122 (1.8 %)	1841
9b	3,4-Methylenedioxybuphedrone	149 , 168 (15 %), 121 (14 %), 42 (13 %), 150 (8.8 %), 65 (8.8 %), 110 (7.7 %), 41 (6.4 %), 317 (4.9 %), 63 (4.7 %)	1869
9c	3,4-Methylenedioxy- <i>N</i> -ethylbuphedrone	149 , 182 (33 %), 121 (14 %), 41 (11 %), 65 (9.5 %), 150 (9.4 %), 56 (8.4 %), 154 (6.5 %), 126 (5.5 %), 63 (4.6 %)	1929
9d	3,4-Methylenedioxy- <i>N-n</i> -propylbuphedrone	149 , 196 (34 %), 154 (29 %), 43 (21 %), 41 (18 %), 121 (15 %), 65 (10 %), 150 (9.3 %), 126 (8.4 %), 192 (5.6 %)	1984
9e	3,4-Methylenedioxy- <i>N</i> -isopropylbuphedrone	154 , 149 (92 %), 196 (36 %), 43 (29 %), 41 (26 %), 121 (19 %), 65 (15 %), 150 (8.8 %), 63 (7.3 %), 126 (7.3 %)	1997
10a	Desmethylpentylone	149 , 121 (16 %), 65 (9.5 %), 150 (8.4 %), 55 (4.5 %), 63 (4.4 %), 91 (2.7 %), 126 (2.4 %), 317 (2.0 %), 69 (1.9 %)	1904
10b	Pentylone	149 , 140 (21 %), 121 (13 %), 55 (13 %), 182 (10 %), 150 (9.1 %), 65 (8.6 %), 42 (6.4 %), 128 (4.5 %), 63 (4.3 %)	1943
10c	<i>N</i> -Ethylpentylone	149 , 196 (29 %), 55 (23 %), 154 (22 %), 121 (14 %), 126 (13 %), 65 (11 %), 150 (8.5 %), 142 (8.1 %), 63 (4.6 %)	1999
10d	<i>N-n</i> -propylpentylone	149 , 210 (44 %), 55 (28 %), 43 (24 %), 126 (20 %), 168 (16 %), 121 (14 %), 41 (12 %), 65 (11 %), 150 (9.1 %)	2051
10e	<i>N</i> -Isopropylpentylone	149 , 168 (78 %), 55 (66 %), 210 (60 %), 43 (41 %), 126 (36 %), 121 (25 %), 65 (20 %), 41 (19 %), 114 (17 %)	2061
11a	3,4-Dimethylcathinone (3,4-DMC)	133 , 105 (27 %), 79 (11 %), 77 (9.7 %), 134 (9.7 %), 103 (6.4 %), 78 (3.1 %), 69 (2.8 %), 106 (2.4 %), 104 (2.1 %)	1646
11b	3,4-Dimethylmethcathinone (3,4-DMMC)	133 , 105 (18 %), 134 (10 %), 79 (7.5 %), 77 (6.8 %), 154 (6.6 %), 110 (6.1 %), 42 (5.9 %), 103 (4.5 %), 69 (2.9 %)	1666
11c	3,4-Dimethylethcathinone	133 , 105 (16 %), 168 (12 %), 134 (9.8 %), 140 (7.6 %), 79 (7.0 %), 77 (6.6 %), 103 (4.2 %), 70 (3.2 %), 78 (2.3 %)	1740
11d	3,4-Dimethyl- <i>N-n</i> -propylcathinone	133 , 140 (14 %), 105 (11 %), 182 (11 %), 134 (10 %), 79 (5.6 %), 77 (4.6 %), 103 (3.6 %), 162 (3.2 %), 78 (1.4 %)	1797
11e	3,4-Dimethyl- <i>N</i> -isopropylcathinone	133 , 140 (55 %), 105 (16 %), 43 (14 %), 182 (13 %), 134 (9.6 %), 79 (8.2 %), 77 (7.6 %), 41 (5.7 %), 103 (4.8 %)	1803
12a	4-Ethylcathinone	133 , 105 (18 %), 79 (13 %), 134 (9.8 %), 77 (9.2 %), 103 (7.0 %), 69 (2.5 %), 78 (2.3 %), 89 (2.1 %), 104 (2.1 %)	1621
12b	4-Ethylmethcathinone	133 , 154 (11 %), 105 (11 %), 134 (9.8 %), 79 (8.9 %), 110 (8.1 %), 42 (7.3 %), 77 (6.7 %), 103 (4.9 %), 69 (3.5 %)	1651
12c	4-Ethylethcathinone	133 , 168 (25 %), 140 (10 %), 134 (9.9 %), 105 (9.2 %), 79 (7.1 %), 77 (5.4 %), 103 (4.0 %), 70 (3.3 %), 162 (2.9 %)	1725
12d	4-Ethyl- <i>N-n</i> -propylcathinone	133 , 140 (22 %), 182 (18 %), 43 (13 %), 134 (9.8 %), 105 (7.8 %), 79 (7.2 %), 77 (5.2 %), 41 (4.9 %), 103 (4.4 %)	1784
12e	4-Ethyl- <i>N</i> -isopropylcathinone	133 , 140 (80 %), 182 (39 %), 43 (17 %), 105 (11 %), 134 (9.9 %), 79 (9.6 %), 77 (7.6 %), 41 (6.0 %), 103 (5.2 %)	1788

Table 2.2 (Continued)

No.	Compounds	Fragment patterns of EI mass spectra (top 10 ions) <i>m/z</i> (relative intensity %)	RI
13a	4-Methoxycathinone	135 , 77 (15 %), 107 (10 %), 92 (8.9 %), 136 (8.9 %), 64 (4.0 %), 69 (2.9 %), 63 (2.2 %), 76 (1.6 %), 78 (1.4 %)	1692
13b	4-Methoxymethcathinone	135 , 77 (11 %), 136 (8.9 %), 107 (7.4 %), 92 (6.4 %), 42 (5.4 %), 110 (5.1 %), 154 (5.0 %), 64 (3.0 %), 69 (2.7 %)	1720
13c	4-Methoxyethcathinone	135 , 77 (9.5 %), 136 (9.0 %), 168 (7.9 %), 107 (6.1 %), 140 (6.0 %), 92 (5.9 %), 70 (2.4 %), 64 (2.4 %), 69 (1.7 %)	1793
13d	4-Methoxy- <i>N-n</i> -propylcathinone	135 , 140 (11 %), 77 (8.8 %), 136 (8.7 %), 43 (7.8 %), 182 (6.0 %), 107 (5.4 %), 92 (5.0 %), 41 (4.0 %), 64 (2.0 %)	1854
13e	4-Methoxy- <i>N</i> -isopropylcathinone	135 , 140 (37 %), 77 (10 %), 43 (10 %), 136 (9.1 %), 182 (7.6 %), 92 (6.3 %), 107 (6.0 %), 41 (4.2 %), 70 (3.3 %)	1856
14a	1-(2-Naphthalenyl)-2-amino-1-pentanone	155 , 127 (50 %), 156 (12 %), 126 (7.9 %), 128 (6.9 %), 55 (4.1 %), 77 (3.9 %), 244 (2.8 %), 323 (2.6 %), 101 (2.0 %)	2069
14b	1-(2-Naphthalenyl)-2-methyl-amino-1-pentanone	155 , 127 (41 %), 140 (23 %), 55 (13 %), 182 (12 %), 156 (12 %), 128 (9.8 %), 42 (6.3 %), 126 (5.1 %), 337 (4.5 %)	2104
14c	1-(2-Naphthalenyl)-2-ethylamino-1-pentanone	155 , 127 (45 %), 196 (37 %), 154 (24 %), 55 (23 %), 126 (20 %), 156 (12 %), 142 (8.4 %), 128 (6.6 %), 56 (4.7 %)	2162
14d	1-(2-Naphthalenyl)-2- <i>n</i> -propyl amino-1-pentanone	155 , 210 (56 %), 127 (50 %), 126 (32 %), 55 (30 %), 43 (29 %), 168 (17 %), 156 (15 %), 41 (13 %), 114 (7.9 %)	2213
14e	1-(2-Naphthalenyl)-2-isopropyl-amino-1-pentanone	155 , 168 (93 %), 210 (91 %), 127 (87 %), 55 (78 %), 126 (55 %), 43 (53 %), 114 (21 %), 41 (19 %), 140 (18 %)	2231

(Figure 2.4 (a)–(e)) では、いずれも m/z 58 のイオンがベースピークとして観察され、 m/z 119 と 91 の組み合わせ、149 と 121 の組み合わせ、133 と 105 の組み合わせ、または 135 及び 107 の組み合わせのイオンはいずれも微弱であった。一方、これらの TFA 誘導体の EI マススペクトル (Figure 2.4 (g)–(j)) では、遊離塩基における m/z 58 に相当する m/z 154 のイオンの強度が低下し、 m/z 119、149、133 または 135 のイオンがベースピークとなり、いずれの EI マススペクトルにも m/z 110 のイオンが観察された。また、遊離塩基の EI マススペクトルでは観察されなかった分子イオン (M^+) についても、TFA 誘導体では強度が弱いながらも観察された。

2.1.4 考察

2.1.4.1 遊離塩基の EI マススペクトル

CATs 遊離塩基の EI マススペクトルでは、いずれも Figure 2.5 に Fragment 1–3 として帰属される特徴的なフラグメントイオンが観察された。これらのフラグメントイオンの生成機構については後述する。

2.1.4.1-1 アミンの α 開裂 (Fragment 1)

一般に覚醒剤 MA に代表されるフェネチルアミン類から得られる EI マススペクトルでは、アミンの α 開裂により生じるイミニウムカチオンがベースピークとして観察される EI マススペクトルが得られる^[13,43]。分析したいずれの CATs 遊離塩基の EI マススペクトルにおいても、カルボニル基側 (Figure 2.5 に Fragment 1 で示す部位) で開裂するアミンの α 開裂によるイオンがベースピークとして観察された。このアミンの α 開裂の機構は Figure 2.6 に示すように、まず EI によって電子が取り去られラジカルカチオンが生成し、次いでアシルラジカルとイミニウムカチオンに開裂する。

ピロリジン環を有しない CATs (Figure 2.1 における a–f 群) では、Figure 2.1 における R^3 , R^4 , R^5 の組み合わせを反映したイミニウムカチオンが生成する

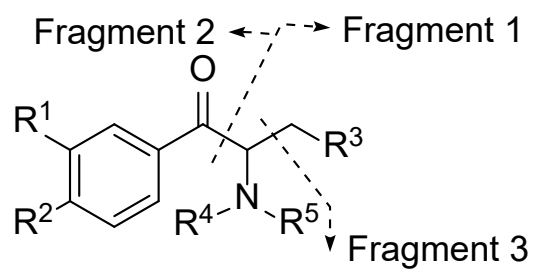


Figure 2.5. Major EI-MS fragmentation pattern of cathinone-type drug.

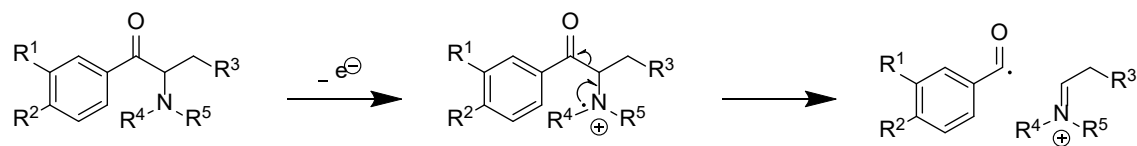


Figure 2.6. Mechanism of the α -cleavage of amine nitrogen (Fragment 1).

ものの、 m/z 44 ($C_2H_6N^+$)、58 ($C_3H_8N^+$)、72 ($C_4H_{10}N^+$)、86 ($C_5H_{12}N^+$)、100 ($C_6H_{14}N^+$)、114 ($C_7H_{16}N^+$) または 128 ($C_8H_{18}N^+$) のイオンが観察されることから、これらのイオンにより、 R^3 、 R^4 及び R^5 の組み合わせを合計した炭素数 (検討した CATs では炭素数 0–6) が決定可能であった。一方、3,4-メチレンジオキシピロバレロン (MDPV) や α -PVP に代表される PPs では、 R^3 の構造が H、 CH_3 、 CH_2CH_3 、 $CH_2CH_2CH_3$ とメチレン基が 1 個ずつ増えるにつれて、対応する α 開裂による m/z 98 ($C_6H_{12}N^+$)、112 ($C_7H_{14}N^+$)、126 ($C_8H_{16}N^+$) または 140 ($C_9H_{18}N^+$) の特徴的なアルキリデンピロリジニウムカチオンが観察されたことから、これらのイオンにより R^3 の構造が推定可能であった。

2.1.4.1-2 アミンの α 開裂 (Fragment 1) からのオレフィン脱離

一般に、3,4-メチレンジオキシ-*N*-エチルアンフェタミン (MDEA) などの窒素原子に結合したアルキル鎖がエチル基あるいはそれよりも炭素数の多いアルキル基の場合、アミンの α 開裂に伴い生じるイミニウムカチオンから、4 員環遷移状態を経て対応するオレフィンが脱離することが知られている^[17,44]。検討した CATs では、 R^4 がエチル基以上のアルキル鎖長をもつ化合物では、 R^4 部分からオレフィンの脱離したフラグメントイオンが観察され、 R^3 がメチル基以上の化合物では、 R^3 部分が 4 員環遷移状態を形成後オレフィンが脱離して生成すると推定されるフラグメントイオンが観察された。これらのフラグメントの生成機構を、*n*-プロピルカチノン及びペンテドロンを例として **Figure 2.7** にそれぞれ示す。アミンの α 開裂によりイミニウムカチオン (いずれも m/z 86) が生じ、その後、*n*-プロピルカチノンではイミンの窒素原子に結合する *n*-プロピル基 (*n*-プロピルカチノンにおけるアミンの窒素原子に結合する *n*-プロピル基) がプロペンとして脱離する。一方、ペンテドロンでは、イミンの α 位に結合する *n*-プロピル基 (ペンテドロンの側鎖部分) がプロペンとして脱離する。

はじめに、アミンの窒素原子に結合するアルキル基のオレフィン脱離について考察する。メトカチノンではアミンのアルキル基 (R^4) がメチル基であるため、オレフィン脱離のフラグメントイオンは観察されなかった (**Figure 2.3 (a)**)。

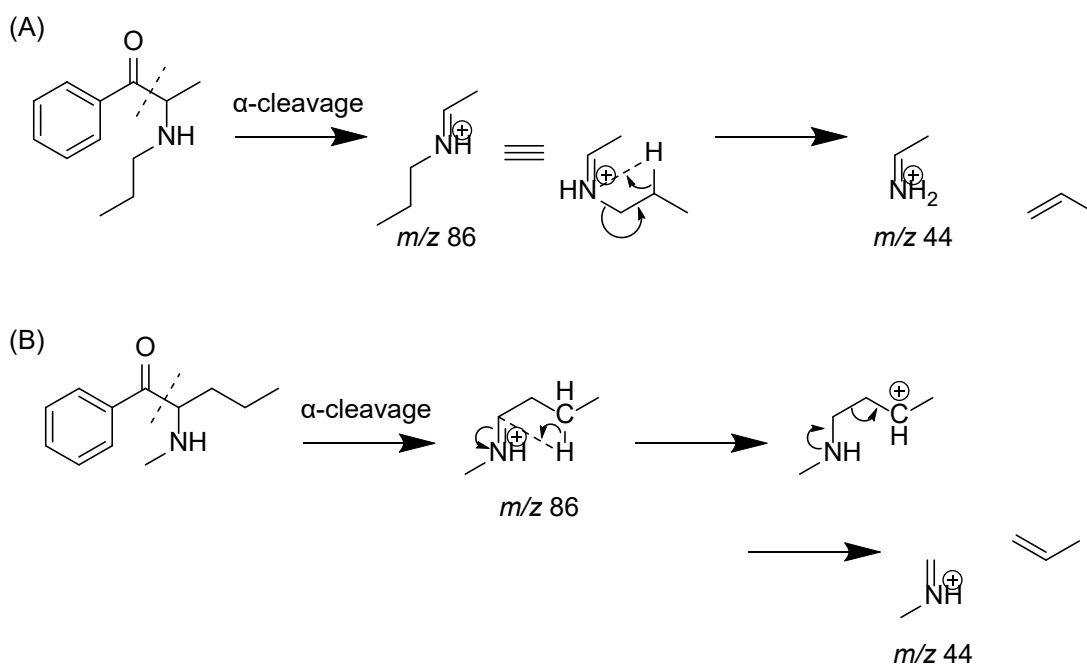


Figure 2.7. Mechanisms of olefin elimination from (A) the *N*-alkyl group of *n*-propylcathinone and (B) the side-chain of pentedrone.

一方、エトカチノン、*n*-プロピルカチノン及びイソプロピルカチノンでは、いずれもアミンのアルキル基がオレフィンとなって脱離し、*m/z* 44 のイオンが観察され、その強度はエトカチノン<*n*-プロピルカチノン<イソプロピルカチノンの順となった (**Figure 2.3 (b)–(d)**)。この傾向は、アミンの窒素原子に結合するアルキル鎖の電子供与性の差によるものと考えられ、電子供与性が高いほどこのオレフィンの脱離が起こりやすくフラグメントイオンの強度が高くなると考えられる。

次に、側鎖のアルキル基のオレフィン脱離について考察する。 α -PPP では R^3 が水素であるため、オレフィン脱離のフラグメントイオンは観察されなかった (**Figure 2.3 (e)**)。一方、 α -PBP、 α -PVP 及び α -PHP ではいずれも側鎖のアルキル鎖がオレフィンとなって脱離し、*m/z* 84 ($C_5H_{10}N^+$) のイオンが観察され、その強度は R^3 のアルキル鎖長順 (α -PBP< α -PVP< α -PHP) となった (**Figure 2.3 (f)–(h)**)。これは、脱離するアルキル基の鎖長が長いほど、生成するカチオンが安定になるためと考えられる。

このように、 R^4 (アミンのアルキル基) がエチル基以上の鎖長を持つ場合だけでなく、 R^3 がメチル基以上の鎖長を持つ化合物 (すなわち側鎖がエチル基以上の化合物) でもオレフィン脱離したイオンが観察され、側鎖のアルキル鎖を推定するうえで有効な手掛かりとなることが判明した。

2.1.4.1-3 カルボニル基の α 開裂 (Fragment 2)

一般にカルボニル化合物では、アミンの α 開裂と同様に、単純開裂であるカルボニル基の α 開裂に基づくイオンが観察されることが知られている^[45]。分析したいずれの CATs の EI マススペクトルにおいても、カルボニル基の α 開裂に由来する特徴的なイオンが観察された。この生成機構を **Figure 2.8** に示す。EI によって電子が取り去られラジカルカチオンが生成し、アミニラジカルとベンゾイルカチオンに開裂する^[45]。さらに、このベンゾイルカチオンより CO 分子が脱離し、フェニルカチオンが **Figure 2.9** に示されるような機構で生成すると考えられ、カルボニル化合物を特徴付けるフラグメントパターンであること

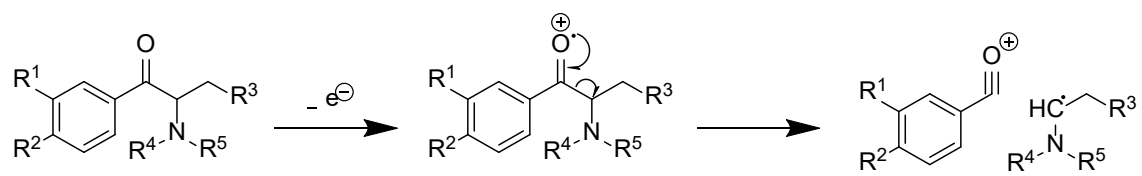


Figure 2.8. Mechanisms of the α -cleavage of carbonyl oxygen (Fragment 2).

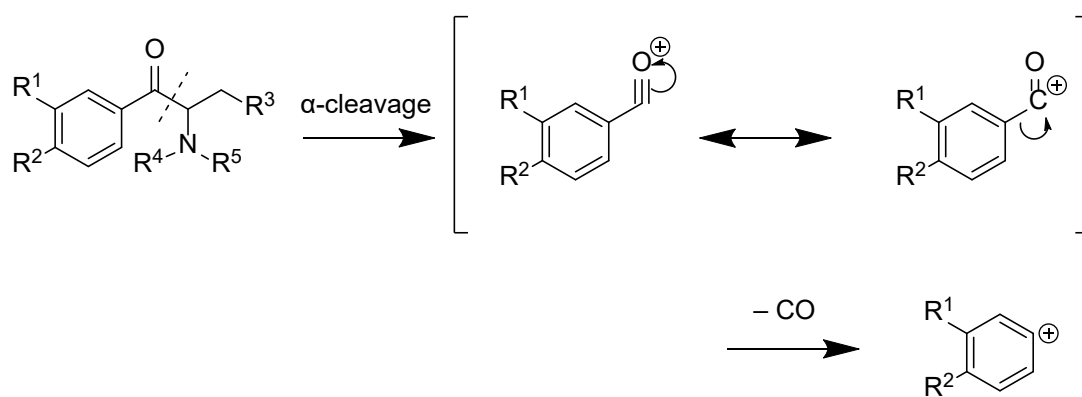


Figure 2.9. Mechanism of CO elimination from the benzoyl cation generated from cathinones.

が示唆された。

分析した CATs で同時に観察されたカルボニル基の α 開裂によるベンゾイルカチオンとそこから CO の脱離したフェニルカチオンの組み合わせを **Table 2.3** に示す。芳香環がフェニル構造の CATs (**Figure 2.1** における化合物 1–4 群) では m/z 105 ($C_7H_5O^+$) 及び 77 ($C_6H_5^+$) のイオンが、4-メチルフェニル構造の CATs (5–7 群) では m/z 119 ($C_8H_7O^+$) 及び 91 ($C_7H_7^+$) のイオンが、3,4-メチレンジオキシフェニル構造の CATs (8–10 群) では m/z 149 ($C_8H_5O_3^+$) 及び 121 ($C_7H_5O_2^+$) のイオンが、3,4-ジメチルフェニル構造の CATs (11 群) 及び 4-エチルフェニルの構造 CATs (12 群) では m/z 133 ($C_9H_9O^+$) 及び 105 ($C_8H_9^+$) のイオンが、4-メトキシフェニル構造の CATs (13 群) では m/z 135 ($C_8H_7O_2^+$) 及び 107 ($C_7H_7O^+$) のイオンが、そしてナフチル構造の CATs (14 群) では m/z 155 ($C_{11}H_7O^+$) 及び 127 ($C_{10}H_7^+$) のイオンがそれぞれ同時に検出された (**Figure 2.4 (a)–(e)**)。このような 2 種類のフラグメントイオンは CATs の芳香環部分の構造を反映しており、構造推定する上で有用なイオンであることが分かった。

ところで、幻覚薬として広く乱用されている MDMA は、メトキシメトカチノンと分子式が同じ構造異性体である。このため、芳香環がメトキシフェニル構造を有する CATs と MDMA などのメチレンジオキシフェネチルアミン類では、非常に類似した EI マススペクトルが得られることが予想される。実際メトキシメトカチノンと MDMA のマススペクトルでは、 m/z 58 ($C_3H_8N^+$) をメインピークとする他、共に m/z 135 ($C_8H_7O_2^+$) のフラグメントイオンが観察される。しかし、前者ではさらに CO が脱離した m/z 107 ($C_7H_7O^+$) のフラグメントイオンも同時に観察されるが、後者はカルボニル基を持たないため、この CO 脱離に由来するフラグメントイオンが観察されず、両者は容易に識別できる。

2.1.4.1-4 アミンの α 開裂による側鎖の脱離 (Fragment 3)

アミン化合物では、2.1.4.1-1 項で述べたアミンの α 開裂のフラグメントイオンが強く観察されることは前述のとおりであるが、理論上、側鎖のアルキル基側 (**Figure 2.5** に Fragment 3 で示す部位) でも α 開裂が生じ、それに由来する

Table 2.3 Combination of the benzoyl and the phenyl cation generated from cathinones

Compound group in Figure 2.1	Aromatic ring	Functional groups in Figure 2.1		Benzoyl cation <i>m/z</i>	Phenyl cation <i>m/z</i>
		R ¹	R ²		
1–4	Phenyl	H	H	105	77
5–7	4-Methylphenyl	H	CH ₃	119	91
8–10	3,4-Methylenedioxyphenyl	Methylenedioxy		149	121
11	3,4-Dimethylphenyl	CH ₃	CH ₃	133	105
12	4-Ethylphenyl	H	CH ₂ CH ₃	133	105
13	4-Methoxyphenyl	H	OCH ₃	135	107
14	Naphtyl	Phenyl replaced by 2'-naphtyl		155	127

イオンが観察されるはずであり、それが観察されれば、側鎖の構造を推定する上で非常に有効な手掛かりと成り得る。そこで、この α 開裂に由来するイオンの有無を詳細に検討したところ、いずれの CATs からも、この側鎖のアルキル基側で起こるアミンの α 開裂に由来するフラグメントイオンが微小ながら観察された。このフラグメントイオンは、**Figure 2.10** に示すように、EI により生成したラジカルカチオンから、側鎖のアルキルラジカルが脱離し生成すると考えられる。また、このフラグメントイオンは、側鎖のアルキル基 (R^3) が長鎖になるほどイオンの強度が高く観察された。一般的に、フラグメントイオンの強度は、生成するカチオンと脱離するアルキルラジカルの安定性に依存するため、アルキル鎖長が長くなるほどアルキルラジカルの安定性が高くなり観測されるフラグメントイオンの強度が増大したと考えられる。前述の Fragment 1 及び 2 並びにオレフィン脱離のフラグメントによる解析結果に加え、このフラグメントイオンの有無を確認することで R^3 の構造が推定可能となり、構造が類似した CATs の識別にも有効である。

たとえば、ペンテドロンと *n*-プロピルカチノンの EI マススペクトルを比較した場合、**Figure 2.3 (c)及び(i)**に示すようにマススペクトルが酷似しているが、ペンテドロンでは、強度は低いものの Fragment 3 に相当する m/z 148 ($C_9H_{10}NO^+$) のイオンが観察される。一方、*n*-プロピルカチノンでは m/z 148 に相当するイオンは生成しないことから、このフラグメントイオンの有無を確認することで、ペンテドロンと *n*-プロピルカチノンを確実に識別することが可能である。

2.1.4.2 TFA 誘導体の EI マススペクトル

MA や MDMA をはじめとしたフェネチルアミン類の遊離塩基の EI マススペクトルでは、前述の通りアミンの α 開裂に由来する非常に強度の高いピークが検出されるが、構造を反映するフラグメントイオンに乏しいことが問題となる。そのため、できるだけ多くの構造情報を反映するフラグメントイオンを得るために、一般的に誘導体化としてアシル化が用いられるが、特にわが国では、感度の向上及びピーク形状の改善が期待できることから TFA 誘導体化が汎用さ

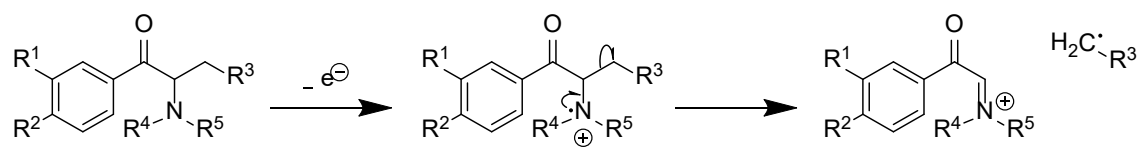


Figure 2.10. Mechanisms of the α -cleavage of amine nitrogen (Fragment 3).

れている^[43,44,47]。

CATs について TFA 誘導体化を適用したところ、第一級アミン (**Figure 2.1** における化合物 a 群) 並びに、第二級アミン (アミンの構造が、メチルアミンである b 群、エチルアミンである c 群、*n*-プロピルアミンである d 群及びイソプロピルアミンである e 群) で、TFA 誘導体化反応が進行した。また、期待したように CATs にでも、他のフェネチルアミン類と同様に、GC-MS のピーク形状の改善と感度の向上が認められ、TFA 誘導体化が有効であることが確かめられた。さらに、遊離塩基ではほとんど観察されなかった分子イオンピークの強度が TFA 誘導体化により高くなり、構造推定する上で重要な情報の一つである分子量の確認が容易になることが分かった (**Figure 2.4 (f)–(j)**)。

そこで、第一級アミン及び第二級アミンの TFA 誘導体について EI マススペクトルを詳細に検討した。

2.1.4.2-1 アミン及びカルボニル基の α 開裂

分析した第一級アミン及び第二級アミン構造を有する CATs 全てにおいて、カルボニル基の α 開裂である **Fragment 2** の強度が TFA 化により顕著に増加した。さらに、それに伴い **Fragment 2** から CO 分子が脱離したイオンも併せて強度が増加した。このため、遊離塩基に比べて、芳香環側の構造を反映したフラグメント強度が増大することとなり、芳香環側の構造がより明確となった。この特徴が第一級及び第二級アミン構造を有する CATs 全てにおいて見られたことから考察すると、TFA 誘導体化によって CATs のアミンがアミド構造となり、窒素原子の電子密度が低下してアミドの α 開裂よりもカルボニルの α 開裂が優位に起こるようになり、**Fragment 2** の強度が高くなると考えられる。TFA 誘導体化することでこれらカルボニル基由来のフラグメントイオンが顕著に増大する点は、CATs をはじめとした β -ケト化合物の大きな特徴であり、他のフェネチルアミン類と区別する上で非常に有用である。

さらに、TFA 化された **Fragment 1** のイオンからも、遊離塩基の場合と同様に、窒素原子に結合したアルキル鎖がエチル基よりも長い場合または R^3 がメチル

基以上の鎖長を持つ場合には、オレフィン脱離したイオンが観察された。これは、遊離塩基と同様な 4 員環遷移状態を経て生成したものと考えられる。

2.1.4.2-2 メチルアミン構造に特異的なフラグメントイオン

フェネチルアミン類の EI マススペクトルでは、MA や MDMA などメチルアミン構造を持つ化合物の TFA 誘導体で、その構造に特異的な m/z 110 ($C_3H_3F_3N^+$) のフラグメントイオンが観察されることが知られている^[18,46,47]。分析した全てのメチルアミン構造を有する CATs (b 群) でも、MA や MDMA と同様に、TFA 誘導体で m/z 110 のフラグメントイオンが観察された。このことは、これらの化合物に共通するフラグメント生成機構があることを示唆している。この生成機構についてペンテドロンの TFA 誘導体を例として **Figure 2.11** に示す。TFA 誘導体における m/z 110 のフラグメントイオンはメチルアミン構造に特異的であると考えられることから、メチルアミン構造を有するか否かを識別する上での重要な指標と成り得る。

2.1.4.3 未知カチノン類化合物の構造推定

今回得られた知見を基に、押収され鑑定嘱託された未知の危険ドラッグ淡黄色液体について、本研究と同様に遊離塩基及び TFA 誘導体の GC-MS による構造解析を試みた。遊離塩基の GC-MS において、**Figure 2.12** に示すような EI マススペクトルが得られた。 m/z 126 のフラグメントイオンがベースピークとして観察され、その他に m/z 84、135、107、218 の微弱なイオンが観察された。

また、上記の液体試料について TFA 誘導体化を試みたが、反応が進行しなかった。

遊離塩基で非常に強度の強い m/z 126 のフラグメントイオンが観察されたこと及び TFA 誘導体化反応が進行しなかったことから、本化合物は第三級アミンであり、ピロリジノペンチオフェノン構造を有すること (アミン部：ピロリジン構造、 R^3 : エチル基) が予測される。また、オレフィン分子 (プロペン分子) が脱離した m/z 84 のフラグメントイオンも観察されることから、上記の結果

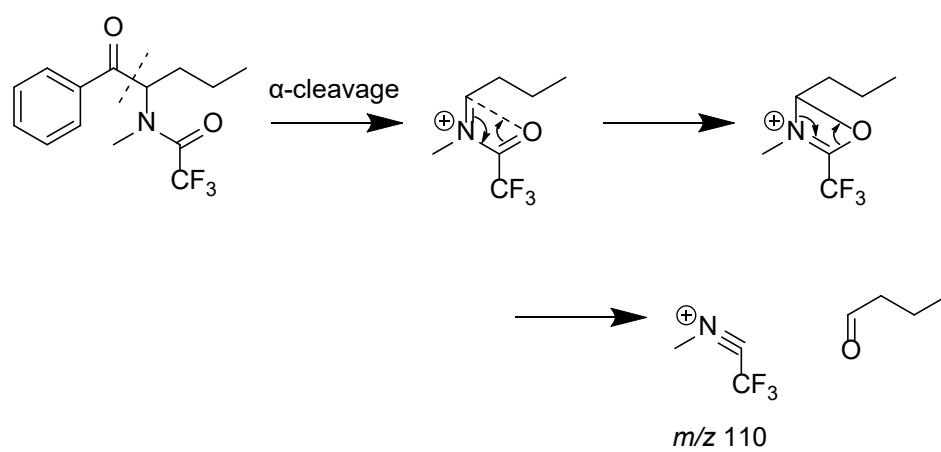


Figure 2.11. Mechanism of the formation of the m/z 110 ion from trifluoroacetyl derivatives of pentedrone.

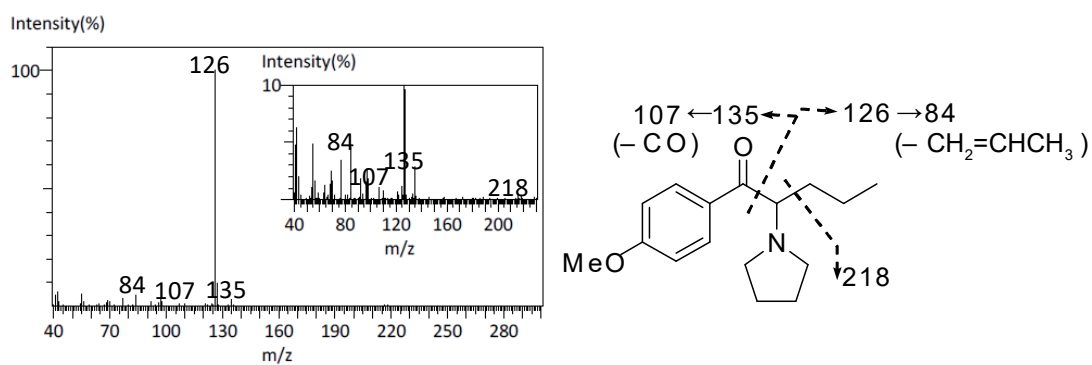


Figure 2.12. EI mass spectrum of an unknown drug. It was finally identified as 1-(4-methoxyphenyl)-2-(1-pyrrolidinyl)-1-pentanone (4-MeO-PVP).

が支持される。

一方、 m/z 135 及び CO 分子が脱離した m/z 107 のフラグメントイオンが共に観察されることから、芳香環側の構造として、メチレンジオキシフェネチルアミン類ではなく、メトキシフェニル構造を有する CATs であることを示している。また、強度が非常に弱いものの m/z 218 のイオンが観察されることも、ピロリジン環を有することを示しており、上述した構造と矛盾しない。以上のフラグメントイオンの解析情報から、この危険ドラッグの成分が、1-(x -メトキシフェニル)-2-(ピロリジン-1-イル)ペンタン-1-オン (x -メトキシ-PVP、 x -MeO-PVP、 $x=2, 3$ または 4 のいずれか) であると推定できる。

そこで、この構造を確定するため、4-MeO-PVP の標準品を合成し、同様に GC-MS を行ったところ、未知試料と 4-MeO-PVP の保持時間及び EI マススペクトルがともに非常によく一致した。なお、NMR による分析結果も一致することが確認されたため、この試料は 4-MeO-PVP と同定された。

以上のように、未知試料においても EI マススペクトルを詳細に解析することで CATs の構造推定が可能であった。しかし、分析した CATs において、EI マススペクトルのみでは区別が困難な組み合わせが存在した。たとえば、互いに構造異性体の関係にある 3,4-DMMC (化合物 11b) 及び 4-エチルメトカチノン (化合物 12b) は、いずれもアミンの α 開裂による m/z 58、カルボニルの α 開裂による m/z 133 並びに CO 脱離の m/z 105 が共通して観察され、これらの強度に差異は認められなかった (Figure 2.4 (c), (d))。このため EI マススペクトルが酷似しており、マススペクトルによる判別は困難であった。しかし、遊離塩基及び TFA 誘導体の保持指標を比較したところ、3,4-DMMC 遊離塩基では 1588、TFA 誘導体では 1666、4-エチルメトカチノン遊離塩基では 1559、TFA 誘導体では 1651 であり (Table 2.1 及び 2.2 参照)、遊離塩基の保持指標により容易に識別可能であることが分かった。

このように、本研究で得られた EI マススペクトルの知見に保持指標情報を加えることにより、より確かな構造推定が可能である。

2.1.5 小括

遊離塩基の EI マススペクトルにおいて、アミンの α 開裂及びそこからのおレフィン脱離したフラグメントイオンにより側鎖及びアミンのアルキル基の構造が推定可能となった。また、カルボニル基の α 開裂及びそこから CO 脱離したフラグメントイオンにより芳香環側の構造が推定可能であった。さらに、TFA 誘導体化を行うことで、カルボニル基の α 開裂及びそこから CO 脱離したフラグメントイオンの強度が向上し、芳香環側の構造を推定するのが容易となったほか、TFA 化した際の m/z 110 のイオンはメチルアミン構造に特異的であり、メチルアミン構造を有するか否かを判別する上で重要な指標であることが分かった。

本研究で得られた知見は CATs の構造推定は勿論のこと、その他のフェネチルアミン類の構造推定において、非常に有用である。

第 2.2 節 GC-MS/MS によるカチノン系乱用薬物の包括的な構造推定法の開発

2.2.1 緒言

CATs は、ベンゼン環に結合する官能基の種類と位置、 α 位の炭素に修飾するアルキル基の種類 (いわゆる側鎖)、窒素に修飾するアルキル基の種類の異なるさまざまな新規な CATs が危険ドラッグとして流通している。

厚生労働省では、当初、これらの薬物を取り締まるため、薬事法 (現 薬機法) の指定薬物として新規化合物を個別に規制していたが、指定薬物に指定してもすぐに化学構造を一部改変させた新規危険ドラッグが流通し、その対応に苦慮してきた。これを受けて、特定の基本骨格を持つ化合物群に対して規定された官能基の種類によって包括的に規制する包括指定を導入し、2013 年 2 月には、(1*H*-インドール-3-イル)(ナフタレン-1-イル)メタノン骨格 (ナフトイルインドール) を持つ合成カンナビノイド類を、また 2013 年 12 月には、2-アミノ-1-フェニル-プロパン-1-オンを基本骨格とする CATs を指定薬物として規制してきた。しかし、その後も包括指定を逃れるため、新たな官能基に改変した CATs の流通が続いたことから、2015 年 5 月には、包括指定となる CATs のアルキル鎖長がさらに長い C_8 にまで拡張され、指定薬物として規制される CATs が 504 種類から 1,334 種類に急増した。そのため、これら多数の指定薬物を迅速かつ包括的に検出できる分析法の開発が急務となってきた。**Figure 1.3** に包括規制対象 CATs の構造を示す。

これら危険ドラッグの分析では、標準品を用いて得られた結果と比較して同定を行うことが不可欠である。しかし、包括指定対象の危険ドラッグの場合、標準品はもちろんのこと、分析データさえ存在しないことがほとんどである。従って、標準品がなくても検出された化合物が包括指定に該当するか否かの判定が可能で、構造推定にも応用可能な分析手法の確立が強く望まれている。

これら危険ドラッグのうち、新規 CATs の構造推定には、特にベンゼン環に結合する官能基とその位置異性体、側鎖のアルキル基の種類及び窒素に修飾す

るアルキル基の種類とそれらの構造異性体を推定することが重要である。第 2.1 節で検討したように、GC-MS で得られる CATs の EI マススペクトル上において、ベースピークとして観察されるアミンの α 開裂のイオン及び相対強度の小さいフラグメントイオンが芳香環に結合する官能基の種類やアミンに修飾するアルキル基の構造を反映しており、構造推定に役立つことが明らかとなっている。GC-MS/MS では、EI でフラグメンテーションしたイオンを選択し、コリジョンセル内で CID を行うことで、より詳細な化学構造解析が可能になると期待できる。これまでに、GC-MS/MS を用いた、CI で得られたフラグメントイオンのプロダクトイオンスキャンにより、芳香環に結合する官能基の位置異性体識別を行った例が報告されている^[48]。

本研究では、包括指定ではあらかじめ官能基の種類が決められていることに注目し、GC-MS/MS を用いて、EI により得られる部分構造を反映する特徴的なフラグメントイオンを CID でさらに開裂させ、CATs の包括的な検出と、CATs の官能基の推定と位置異性体識別を簡便に行える構造推定手法について検討した。

2.2.2 実験及び方法

2.2.2.1 試薬

研究に用いた 62 種類の CATs の構造を **Table 2.4** に示す。これらの CATs は 2.2.2.3 項にある合成方法に従い合成した。

試料調製に用いた抽出溶媒、pH 調整剤、脱水剤は、いずれも 2.1.2.1 項と同じであった。

2.2.2.2 装置及び測定条件

GC-MS/MS は、島津製作所製の三連四重極型ガスクロマトグラフタンデム質量分析計 GCMS-TQ8040 を用いて以下の条件で測定した。

分析カラム：Agilent 製 DB-5MS (0.25 mm i.d. × 30 m、膜厚 0.25 μ m)、カラム

Table 2.4 Functional groups of cathinones examined

No.	Compound	Functional groups in Table 1.2			
		R ¹ (position)	R ²	R ³	R ⁴
1	Methcathinone	H	H	CH ₃	H
2	<i>N</i> -Ethyl- <i>N</i> -methylcathinone	H	H	CH ₃	CH ₂ CH ₃
3	Ethcathinone	H	H	CH ₂ CH ₃	H
4	<i>N,N</i> -Diethylcathinone	H	H	CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃
5	α -PPP	H	H	Pyrrolidinyl	
6	Buphedrone	H	CH ₃	CH ₃	H
7	<i>N</i> -Ethyl- <i>N</i> -methylbuphedrone	H	CH ₃	CH ₃	CH ₂ CH ₃
8	<i>N</i> -Ethylbuphedrone (NEB)	H	CH ₃	CH ₂ CH ₃	H
9	<i>N,N</i> -Diethylbuphedrone	H	CH ₃	CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃
10	α -PBP	H	CH ₃	Pyrrolidinyl	
11	Pentredone	H	CH ₂ CH ₃	CH ₃	H
12	<i>N</i> -Ethyl- <i>N</i> -methylpentredone	H	CH ₂ CH ₃	CH ₃	CH ₂ CH ₃
13	<i>N</i> -Ethylpentredone	H	CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	H
14	<i>N,N</i> -Diethylpentredone	H	CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃
15	α -PVP	H	CH ₂ CH ₃	Pyrrolidinyl	
16	<i>N</i> -Desmethyllhexedrone	H	<i>n</i> -Propyl	H	H
17	Hexedrone	H	<i>n</i> -Propyl	CH ₃	H
18	<i>N,N</i> -Dimethyllhexedrone	H	<i>n</i> -Propyl	CH ₃	CH ₃
19	α -PHP	H	<i>n</i> -Propyl	Pyrrolidinyl	
20	α -PHPP	H	<i>n</i> -Butyl	Pyrrolidinyl	
21	α -POP	H	<i>n</i> -Pentyl	Pyrrolidinyl	
22	α -PNP	H	<i>n</i> -Hexyl	Pyrrolidinyl	
23	2-Methylmethcathinone	CH ₃ (<i>ortho</i>)	H	CH ₃	H
24	3-Methylmethcathinone	CH ₃ (<i>meta</i>)	H	CH ₃	H
25	4-Methylmethcathinone	CH ₃ (<i>para</i>)	H	CH ₃	H
26	4-Methylethcathinone (4-MEC)	CH ₃ (<i>para</i>)	H	CH ₂ CH ₃	H
27	MPPP (Desethylpyrovalerone)	CH ₃ (<i>para</i>)	H	Pyrrolidinyl	
28	4-Methylbuphedrone	CH ₃ (<i>para</i>)	CH ₃	CH ₃	H
29	4-Methyl- <i>N</i> -ethylbuphedrone	CH ₃ (<i>para</i>)	CH ₃	CH ₂ CH ₃	H
30	MPBP	CH ₃ (<i>para</i>)	CH ₃	Pyrrolidinyl	
31	4-Methylpentredone	CH ₃ (<i>para</i>)	CH ₂ CH ₃	CH ₃	H
32	4-Ethyl- <i>N</i> -ethylpentredone	CH ₂ CH ₃ (<i>para</i>)	CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	H
33	MPVP	CH ₃ (<i>para</i>)	CH ₂ CH ₃	Pyrrolidinyl	
34	4-Ethylcathinone	CH ₂ CH ₃ (<i>para</i>)	H	H	H
35	2-Ethylmethcathinone	CH ₂ CH ₃ (<i>ortho</i>)	H	CH ₃	H
36	3-Ethylmethcathinone	CH ₂ CH ₃ (<i>meta</i>)	H	CH ₃	H
37	4-Ethylmethcathinone	CH ₂ CH ₃ (<i>para</i>)	H	CH ₃	H
38	4-Ethyl- <i>N,N</i> -dimethylcathinone	CH ₂ CH ₃ (<i>para</i>)	H	CH ₃	CH ₃
39	2-Bromomethcathinone	Br (<i>ortho</i>)	H	CH ₃	H
40	3-Bromomethcathinone	Br (<i>meta</i>)	H	CH ₃	H
41	4-Bromomethcathinone	Br (<i>para</i>)	H	CH ₃	H
42	4-Chloromethcathinone	Cl (<i>para</i>)	H	CH ₃	H
43	2-Fluoromethcathinone	F (<i>ortho</i>)	H	CH ₃	H
44	3-Fluoromethcathinone	F (<i>meta</i>)	H	CH ₃	H
45	4-Fluoromethcathinone	F (<i>para</i>)	H	CH ₃	H
46	4-Fluorooctedrone (4F-Octedrone)	F (<i>para</i>)	<i>n</i> -Pentyl	CH ₃	H
47	4-Iodomethcathinone	I (<i>para</i>)	H	CH ₃	H
48	2-Methoxymethcathinone	OCH ₃ (<i>ortho</i>)	H	CH ₃	H
49	3-Methoxymethcathinone	OCH ₃ (<i>meta</i>)	H	CH ₃	H
50	4-Methoxymethcathinone	OCH ₃ (<i>para</i>)	H	CH ₃	H
51	4-Methoxyethcathinone	OCH ₃ (<i>para</i>)	H	CH ₂ CH ₃	H
52	MOPPP	OCH ₃ (<i>para</i>)	H	Pyrrolidinyl	
53	2,3-Methylenedioxy-methcathinone	Methylenedioxy (2,3-)	H	CH ₃	H
54	Methylone (bk-MDMA)	Methylenedioxy (3,4-)	H	CH ₃	H
55	Ethylone (bk-MDEA)	Methylenedioxy (3,4-)	H	CH ₂ CH ₃	H
56	MDPPP	Methylenedioxy (3,4-)	H	Pyrrolidinyl	
57	bk-BDB	Methylenedioxy (3,4-)	CH ₃	H	H
58	Butylone (bk-MBDB)	Methylenedioxy (3,4-)	CH ₃	CH ₃	H
59	3,4-Methylenedioxy- <i>N,N</i> -dimethylbuphedrone	Methylenedioxy (3,4-)	CH ₃	CH ₃	CH ₃
60	<i>N</i> -Desmethylpentylone	Methylenedioxy (3,4-)	CH ₂ CH ₃	H	H
61	Pentylone	Methylenedioxy (3,4-)	CH ₂ CH ₃	CH ₃	H
62	<i>N,N</i> -Dimethylpentylone	Methylenedioxy (3,4-)	CH ₂ CH ₃	CH ₃	CH ₃

温度：60 °C (2 分保持) – (昇温速度 +20 °C/分) – 320 °C (5 分保持)、キャリアガス：ヘリウム、キャリアガス制御：線速度一定(45.6 cm/秒)、試料注入法：スプリットレス、試料注入量：1 μ L、注入口温度：260 °C、イオン化法：EI 法、イオン化エネルギー：70 eV、インターフェイス温度：280 °C、イオン源温度：200 °C、CID ガス：アルゴン(200 kPa; 設定圧力)、スキャン範囲： m/z 43–500。

分析モードは、EI-スキャンに加えて、(1)–(3)の 3 種類の MS/MS 測定を組み合わせたスキャン/プロダクトイオンスキャン/SRM 同時測定を用いた。

- (1) プリカーサイオンをベンゾイル、プロダクトイオンをフェニルとしたトランジション (以降ベンゾイル>フェニルのように表記する) の組み合わせにおいて、ベンゼン環への包括指定で規定された 9 種類の官能基の修飾を考慮した SRM
- (2) 包括指定で規定された官能基を持つアミンが α 開裂して生じる、 m/z の異なる 20 種類のイミニウムカチオンをプリカーサイオンとするプロダクトイオンスキャン
- (3) 包括指定で規定された官能基を持つベンゾイル基の α 開裂で生じる m/z の異なる 9 種類のベンゾイルカチオンをプリカーサイオンとするプロダクトイオンスキャン

ベンゾイルカチオンをプリカーサイオンとする SRM 及びプロダクトイオンスキャンの詳細な MS/MS 条件を **Table 2.5** に、イミニウムカチオンをプリカーサイオンとするプロダクトイオンスキャンの詳細な MS/MS 条件を **Table 2.6** にそれぞれ示す。また、これらの測定で得られたプロダクトイオンスペクトルについてデータベースを作成した。

2.2.2.3 カチノン系乱用薬物標準品の合成

2.1.2.3 項に記載の方法に従って 62 種の CATs を合成した。

アルキルフェノン 32 種 (1-フェニルプロパン-1-オン、1-フェニルブタン-1-オン、1-フェニルペンタン-1-オン、1-フェニルヘキサン-1-オン、1-フェニルヘプタン-1-オン、1-フェニルノナン-1-オン、1-フェニルオクタン-1-オン、1-(2-メチ

Table 2.5 Detailed MS conditions of product ion scan and SRM for benzoyl cation

Precursor m/z	SRM transition	R ¹ in Table 1.2	Collision Energy (eV)
105	105>77	H	10
119	119>91	CH ₃	10
123	123>95	F	10
133	133>105	CH ₂ CH ₃	10
135	135>107	OCH ₃	10
139	139>111	Cl	10
149	149>121	Methylenedioxy	10
183	183>155	Br	10
231	231>203	I	10

Table 2.6 Detailed MS conditions of product ion scan for iminium cation

Precursor <i>m/z</i>	Functional groups in Table 1.2			Collision Energy (eV)	Precursor <i>m/z</i>	Functional groups in Table 1.2			Collision Energy (eV)
	R ²	R ³	R ⁴			R ²	R ³	R ⁴	
44	H	H	H	15		CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	
58	H	CH ₃	H	15	128	<i>n</i> -Propyl	CH ₂ CH ₃	CH ₃	15
	CH ₃	H	H			<i>n</i> -Butyl	CH ₃	CH ₃	
72	H	CH ₃	CH ₃	15		<i>n</i> -Butyl	CH ₂ CH ₃	H	
	H	CH ₂ CH ₃	H			<i>n</i> -Pentyl	CH ₃	H	
	CH ₃	CH ₃	H		<i>n</i> -Hexyl	H	H		
86	CH ₂ CH ₃	H	H	15	140	<i>n</i> -Propyl	Pyrrolidinyl		15
	H	CH ₂ CH ₃	CH ₃		<i>n</i> -Propyl	CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃		
	CH ₃	CH ₃	CH ₃		<i>n</i> -Butyl	CH ₂ CH ₃	CH ₃		
	CH ₃	CH ₂ CH ₃	H		<i>n</i> -Pentyl	CH ₃	CH ₃		
	CH ₂ CH ₃	CH ₃	H		<i>n</i> -Pentyl	CH ₂ CH ₃	H		
<i>n</i> -Propyl	H	H		<i>n</i> -Hexyl	CH ₃	H			
98	H	Pyrrolidinyl			<i>n</i> -Heptyl	H	H		
100	H	CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	15	154	<i>n</i> -Butyl	Pyrrolidinyl		15
	CH ₃	CH ₂ CH ₃	CH ₃		<i>n</i> -Butyl	CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃		
	CH ₂ CH ₃	CH ₃	CH ₃		<i>n</i> -Pentyl	CH ₂ CH ₃	CH ₃		
	CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	H		<i>n</i> -Hexyl	CH ₃	CH ₃		
	<i>n</i> -Propyl	CH ₃	H		<i>n</i> -Hexyl	CH ₂ CH ₃	H		
<i>n</i> -Butyl	H	H		<i>n</i> -Heptyl	CH ₃	H			
112	CH ₃	Pyrrolidinyl			168	<i>n</i> -Pentyl	Pyrrolidinyl		15
114	CH ₃	CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	15	<i>n</i> -Pentyl	CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃		
	CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	CH ₃		<i>n</i> -Hexyl	CH ₂ CH ₃	CH ₃		
	<i>n</i> -Propyl	CH ₃	CH ₃		<i>n</i> -Heptyl	CH ₃	CH ₃		
	<i>n</i> -Propyl	CH ₂ CH ₃	H		<i>n</i> -Heptyl	CH ₂ CH ₃	H		
	<i>n</i> -Butyl	CH ₃	H		182	<i>n</i> -Hexyl	Pyrrolidinyl		15
<i>n</i> -Pentyl	H	H		<i>n</i> -Hexyl	CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃			
126	CH ₂ CH ₃	Pyrrolidinyl			<i>n</i> -Heptyl	CH ₂ CH ₃	CH ₃		
				184	<i>n</i> -Heptyl	CH ₂ CH ₃	CH ₃	15	
				196	<i>n</i> -Heptyl	Pyrrolidinyl		15	
				198	<i>n</i> -Heptyl	CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	15	

ルフェニル)プロパン-1-オン、1-(3-メチルフェニル)プロパン-1-オン、1-(4-メチルフェニル)プロパン-1-オン、1-(4-メチルフェニル)ブタン-1-オン、1-(4-メチルフェニル)ペンタン-1-オン、1-(2-エチルフェニル)プロパン-1-オン、1-(3-エチルフェニル)プロパン-1-オン、1-(4-エチルフェニル)プロパン-1-オン、1-(4-エチルフェニル)ペンタン-1-オン、1-(2-フルオロフェニル)プロパン-1-オン、1-(3-フルオロフェニル)プロパン-1-オン、1-(4-フルオロフェニル)プロパン-1-オン、1-(4-フルオロフェニル)オクタン-1-オン、1-(4-クロロフェニル)プロパン-1-オン、1-(2-ブロモフェニル)プロパン-1-オン、1-(3-ブロモフェニル)プロパン-1-オン、1-(4-ブロモフェニル)プロパン-1-オン、1-(4-ヨードフェニル)プロパン-1-オン、1-(2-メトキシフェニル)プロパン-1-オン、1-(3-メトキシフェニル)プロパン-1-オン、1-(4-メトキシフェニル)プロパン-1-オン、1-(2,3-メチレンジオキシフェニル)プロパン-1-オン、1-(3,4-メチレンジオキシフェニル)プロパン-1-オン、1-(3,4-メチレンジオキシフェニル)ブタン-1-オン、1-(3,4-メチレンジオキシフェニル)ペンタン-1-オン) のジクロロメタン溶液に臭素のジクロロメタン溶液を滴下し、室温で 24 h 攪拌し反応させ、対応する 2-ブロモアルキルフェノンを合成した。得られた 2-ブロモアルキルフェノンにアミン 7 種(アンモニア-メタノール溶液、メチルアミン-テトラヒドロフラン溶液、エチルアミン-テトラヒドロフラン溶液、エチルメチルアミン-テトラヒドロフラン溶液、ジメチルアミン-テトラヒドロフラン溶液、ジエチルアミン-テトラヒドロフラン溶液及びピロリジン) をそれぞれ加えて、室温で 24 h 攪拌し反応させ、CATs (合計 62 種) を合成した。これに塩化水素のメタノール溶液を加えて塩酸塩とし、単離精製した。

2.2.2.4 分析試料の調製

合成し得られた CATs 標準品塩酸塩の水溶液に、炭酸緩衝液を添加して pH 約 9 に調整し、酢酸エチルを加えて振とうした。遠心分離後、酢酸エチル相を分取し、無水硫酸ナトリウムを用いて脱水し、最終試料濃度が約 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ となるように希釈して GC-MS/MS 用の試料とした。

2.2.3 結果と考察

2.2.3.1 SRM によるベンゾイル骨格の識別

CATs の EI マススペクトルでは、2.1.4.1-3 項で述べたように、カルボニル基の α 開裂で生じるベンゾイルカチオンとさらに CO 分子が脱離したフェニルカチオンが観察されることが知られているが、アミンの α 開裂に起因するイミニウムカチオンに比べてその強度は非常に小さい。しかし、メトキシメトカチオンと MDMA をはじめとした CATs とフェネチルアミン類を識別するにあたり、 β 位カルボニル基の存在の有無を確認することは非常に重要である。そこで、ベンゾイルカチオンをプリカーサとして選択し、CID によりそこから CO 分子が脱離する反応を、SRM によりモニターすることで、カルボニル基を有する CATs を選択的に検出することを試みた。一般的に SRM は、特異性の高いクロマトグラムが得られることから、バックグラウンドノイズが低下するためシグナルノイズ比 (S/N) が向上し、相対的に高い感度を得られることが知られている。CATs の包括指定では、ベンゼン環に結合する異なる 9 種類の官能基が規定されており、これらの官能基が修飾された「ベンゾイル>フェニル」の組み合わせに相当する 9 種類の SRM トランジションを設定した。

CID のコリジョンエネルギー (CE) については、上記で設定した全ての SRM トランジションのうち、できるだけ多くの SRM で最も高感度となる値を調べ、全ての SRM の CE を 10 eV に設定した。また、検討した 62 種類の CATs すべてで、「ベンゾイル>フェニル」の組み合わせに相当する SRM クロマトグラム上にピークが観察された。ここで、EI マススペクトルにより、CATs であることを判断するために、カルボニル基の α 開裂で生じるベンゾイルカチオンとさらに CO 分子が脱離したフェニルカチオンの 2 種類のイオンの存在を確認する必要があるが、これらのイオンの相対強度は非常に小さいため、マススペクトル解析に時間と経験を要する。また、生体試料あるいは特に濃度が低い試料では、バックグラウンドノイズに埋もれる場合もあり、別の CATs と誤認したり、あるいは CATs か否かの判断を誤ったりするリスクも高まってくる。SRM では、

ベンゾイルカチオンからの CO の脱離を選択的にモニターし、その反応に起因する 2 種類のイオンの存在を SRM クロマトグラムのピークの有無で確認できるため、それらの相対強度が小さくても CATs の特徴であるベンゾイル骨格の識別が可能であった。また、設定した SRM トランジションはベンゼン環に結合する官能基に対応しているため、検出されたピークの SRM トランジションからベンゼン環に結合する官能基の種類を識別することが可能である。

2.2.3.2 ベンゾイル基の α 開裂で生じるイオンのプロダクトイオンスキャン

薬機法における CATs の包括規制では、ベンゼン環に結合する官能基として **Table 2.5** に記載したような 9 種類の官能基とそれらの各位置異性体が規定されている。前項 2.2.3.1 の SRM により、CATs である可能性が示唆された場合、さらに芳香環の構造を特定することは構造推定を行ううえで非常に重要となる。そこで、芳香環に結合する官能基の種類だけでなくその結合位置の特定も併せて可能かどうか検討した。検討対象化合物として、メトカチノンの基本骨格とし、それに加えて、芳香環に結合する官能基としてメチル基、エチル基、メトキシ基、メチレンジオキシ基、ブロモ基及びフルオロ基を有する CATs を選定した。なお、各化合物の構造異性体として *o*-、*m*-及び *p*-位置換体並びにメチレンジオキシ基については 2,3-及び 3,4-位置換体を選定した。

各化合物について、ベンゾイルカチオンをプリカーサとし、CID における CE を変化させ、プロダクトイオンスペクトルを測定した。その結果、ベンゼン環にメチル基やエチル基が結合している場合、CE を 15 eV のように高くすると、ベンゾイルカチオンの CO 分子の脱離よりもベンゼン環に結合するメチル基及びエチル基の脱離が優位となり、芳香環側の構造を反映するイオン強度が小さくなることから、CE を 10 eV に設定した。得られたプロダクトイオンスペクトルパターンを **Table 2.7** に示す。

ベンゼン環にエチル基、メトキシ基、メチレンジオキシ基が置換した場合、各プロダクトイオンスペクトルにおいて相対強度が大きい特徴的なイオンが 3 種類以上観察された。また、同じ置換基でも、置換位置の違いにより相対イオ

Table 2.7 Product ion spectra for benzoyl cations

Precursor <i>m/z</i>	R ¹ in Table 1.2	Position	Examined Cathinone	Relative intensity of product ion spectra (more than 5.0%)
105	H	—	Methcathinone	77 (100%), 105 (14.8%)
119	CH ₃	<i>ortho</i>	2-Methylmethcathinone	91 (100%), 119 (12.6%)
		<i>meta</i>	3-Methylmethcathinone	91 (100%), 119 (18.8%)
		<i>para</i>	4-Methylmethcathinone	91 (100%), 119 (21.2%)
123	F	<i>ortho</i>	2-Fluoromethcathinone	95 (100%), 123 (45.3%)
		<i>meta</i>	3-Fluoromethcathinone	95 (100%), 123 (20.3%)
		<i>para</i>	4-Fluoromethcathinone	95 (100%), 103 (10.5%), 123 (39.8%)
133	CH ₂ CH ₃	<i>ortho</i>	2-Ethylmethcathinone	55 (25.4%), 77 (11.8%), 79 (27.6%), 91 (19.5%), 103 (18.1%), 105 (100%), 115 (19.7%), 133 (43.4%)
		<i>meta</i>	3-Ethylmethcathinone	77 (10.5%), 79 (46.4%), 103 (24.1%), 105 (100%), 133 (29.5%)
		<i>para</i>	4-Ethylmethcathinone	77 (14.2%), 79 (64.3%), 103 (27.9%), 105 (100%), 133 (63.5%)
135	OCH ₃	<i>ortho</i>	2-Methoxymethcathinone	77 (100%), 79 (15.7%), 92 (9.5%), 105 (5.3%), 120 (5.8%), 135 (44.5%)
		<i>meta</i>	3-Methoxymethcathinone	77 (59.5%), 79 (9.6%), 92 (11.4%), 105 (5.5%), 107 (100%), 135 (24.4%)
		<i>para</i>	4-Methoxymethcathinone	77 (100%), 79 (11.9%), 92 (17.7%), 107 (55.6%), 135 (64.6%)
149	Methylenedioxy	2,3-	2,3-Methylenedioxy-methcathinone	65 (100%), 121 (22.3%), 149 (58.4%)
		3,4-	Methylone (bk-MDMA)	65 (40.5%), 121 (100%), 149 (58.1%)
183	Br	<i>ortho</i>	2-Bromomethcathinone	155 (100%), 183 (50.5%)
		<i>meta</i>	3-Bromomethcathinone	104 (5.9%), 155 (100%), 183 (34.5%)
		<i>para</i>	4-Bromomethcathinone	155 (100%), 183 (91.0%)

ン強度比が明確に異なるほか、置換位置の違いによりそれぞれに特徴的なプロダクトイオンスペクトルが観察され、位置異性体の識別が可能であった。一方、ベンゼン環にメチル基、ブロモ基、フルオロ基が置換した場合、各プロダクトイオンスペクトルにおいて各プリカーサイオン、及びプリカーサイオンから CO 分子が脱離したイオンの 2 種類のみ、もしくはそれに加えて比較的強度の小さいイオンが観察された。しかし、各プリカーサイオン、及びプリカーサイオンから CO 分子が脱離したイオンについては位置異性体間でそれらイオンの相対強度比にはほとんど差異はみられなかった。また、そのほかのイオンが検出されても比較的強度の小さいイオンであることから、バックグラウンドノイズの影響を大きく受ける危険性があり再現性に問題のある結果となった。そのため、メチル基、ブロモ基、フルオロ基では、置換基の種類は特定できるものの位置異性体の識別は困難であった。

2.2.3.3 アミンの α 開裂で生じるイオンのプロダクトイオンスキャン

第 2.1 節で言及したように、CATs の EI マススペクトルでは、アミンの α 開裂に由来するイミニウムカチオンが非常に大きい強度で検出されることが知られている。一方、 α 開裂で生じるイミニウムカチオンを形成するアミン骨格は多くの構造異性体を有するが、EI マススペクトルのみではアミン骨格の構造異性体の識別が困難である。そこで、アミンの α 開裂で生じたイミニウムカチオンをさらに CID により開裂させ、得られるプロダクトイオンスペクトルから、アミン骨格の同定を試みた。

CID で得られるプロダクトイオンスペクトルは、CE に大きく依存する。そこで構造異性体の識別が可能な最適 CE を検討した。その結果、プロダクトイオンスペクトルにおいて、アミン構造の違いを反映するプロダクトイオンが比較的大きい強度で観察される 15 eV が最適であった。

アミンの α 開裂で生じるイミニウムカチオンをプリカーサイオンとしたプロダクトイオンスペクトルを **Table 2.8** に示す。また、代表的な例として、アミンの α 開裂によって生じるイミニウムカチオン (m/z 72) をプリカーサイオ

Table 2.8 Product ion spectra for iminium cations

Precursor <i>m/z</i>	Functional groups in Table 1.2			Examined Cathinone	Relative intensity of product ion spectra (more than 5.0%)
	R ²	R ³	R ⁴		
44	H	H	H	4-Ethylcathinone	27 (15.2%), 29 (17.6%), 44 (100%), 42 (6.3%), 43 (5.9%)
58	H	CH ₃	H	Methcathinone	28 (20.6%), 29 (9.9%), 30 (41.0%), 42 (23.7%), 43 (46.2%), 44 (7.5%), 56 (14.1%), 58 (100%)
	CH ₃	H	H	bk-BDB	30 (24.8%), 39 (5.3%), 41 (47.9%), 42 (10.9%), 43 (100%), 58 (32.7%)
72	H	CH ₃	CH ₃	4-Ethyl- <i>N,N</i> -dimethylcathinone	29 (7.4%), 42 (89.3%), 44 (45.1%), 56 (16.0%), 57 (31.0%), 70 (22.8%), 72 (100%)
	H	CH ₂ CH ₃	H	Ethcathinone	27 (5.2%), 29 (43.3%), 44 (100%), 72 (22.0%)
	CH ₃	H	CH ₃	4-Methylbuphedrone	29 (6.3%), 30 (8.4%), 41 (11.6%), 44 (14.8%), 56 (21.3%), 57 (100%), 72 (36.2%)
	CH ₂ CH ₃	H	H	<i>N</i> -Desmethylpentylone	29 (17.6%), 30 (100%), 43 (11.0%), 72 (9.4%)
86	H	CH ₂ CH ₃	CH ₃	<i>N</i> -Ethylmethylcathinone	29 (36.2%), 30 (31.6%), 43 (10.8%), 56 (11.3%), 58 (100%), 86 (34.0%)
	CH ₃	CH ₃	CH ₃	3,4-Methylenedioxy- <i>N,N</i> -dimethylbuphedrone	43 (15.5%), 44 (7.2%), 56 (51.7%), 70 (6.2%), 71 (100%), 84 (5.1%), 86 (48.7%)
	CH ₃	CH ₂ CH ₃	H	<i>N</i> -Ethylbuphedrone (NEB)	29 (70.3%), 30 (46.1%), 41 (100%), 43 (18.3%), 58 (88.9%), 86 (52.6%)
	CH ₂ CH ₃	CH ₃	H	Pentedrone	44 (100%), 55 (5.7%), 56 (7.9%), 57 (55.6%), 86 (14.7%)
	<i>n</i> -Propyl	H	H	<i>N</i> -Desmethylhexedrone	30 (100%), 41 (30.4%), 43 (33.8%), 44 (7.0%), 69 (6.3%), 86 (6.9%)
98	H	Pyrrolidinyl		α -PPP	29 (8.9%), 30 (5.1%), 41 (7.6%), 44 (10.2%), 55 (41.5%), 56 (100%), 69 (7.8%), 98 (84.4%)
	CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	H	<i>N</i> -Ethylpentedrone	29 (35.3%), 30 (95.5%), 44 (9.3%), 55 (14.8%), 56 (14.1%), 58 (100%), 71 (8.9%), 72 (7.3%), 100 (38.9%)
	CH ₂ CH ₃	CH ₃	CH ₃	<i>N,N</i> -Dimethylpentylone	43 (10.1%), 56 (30.1%), 58 (66.2%), 70 (5.8%), 71 (100%), 72 (7.9%), 100 (37.0%)
	CH ₃	CH ₂ CH ₃	CH ₃	<i>N</i> -Ethyl- <i>N</i> -methylbuphedrone	29 (38.7%), 30 (25.9%), 41 (21.5%), 42 (6.5%), 44 (31.8%), 56 (5.3%), 57 (81.8%), 58 (5.8%), 70 (14.6%), 72 (100%), 85 (6.8%), 100 (70.0%)
100	H	CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	<i>N,N</i> -Diethylcathinone	29 (25.1%), 44 (100%), 72 (30.8%), 100 (29.8%)
	<i>n</i> -Propyl	CH ₃	H	Hexedrone	41 (16.5%), 43 (26.7%), 44 (100%), 57 (18.3%), 58 (12.6%), 100 (15.2%)
112	CH ₃	Pyrrolidinyl		α -PBP	29 (5.1%), 30 (7.1%), 41 (19.0%), 42 (37.1%), 43 (9.5%), 55 (54.6%), 58 (8.2%), 69 (10.1%), 70 (53.8%), 97 (12.6%), 110 (15.0%), 112 (100%)
	CH ₃	CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	<i>N,N</i> -Diethylbuphedrone	29 (32.8%), 30 (20.7%), 41 (52.2%), 43 (5.1%), 44 (12.7%), 56 (10.4%), 58 (100%), 71 (5.1%), 72 (5.4%), 84 (5.0%), 86 (57.8%), 114 (70.0%)
114	CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	CH ₃	<i>N</i> -Ethyl- <i>N</i> -methylpentedrone	29 (15.0%), 42 (16.4%), 44 (100%), 55 (10.4%), 56 (6.7%), 57 (73.2%), 58 (17.6%), 70 (44.5%), 72 (57.5%), 85 (50.9%), 86 (18.9%), 114 (74.5%)
	<i>n</i> -Propyl	CH ₃	CH ₃	<i>N,N</i> -Dimethylhexedrone	41 (8.3%), 43 (20.6%), 56 (19.6%), 57 (5.2%), 58 (100%), 70 (7.2%), 71 (87.6%), 72 (21.9%), 114 (43.9%)
126	CH ₂ CH ₃	Pyrrolidinyl		α -PVP	30 (6.1%), 42 (26.3%), 55 (31.2%), 56 (9.0%), 69 (33.2%), 70 (6.6%), 84 (46.2%), 96 (12.7%), 97 (54.7%), 98 (8.8%), 124 (10.4%), 126 (100%)
128	CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	<i>N,N</i> -Diethylpentedrone	29 (18.0%), 30 (39.5%), 44 (12.1%), 55 (12.8%), 56 (41.4%), 58 (93.0%), 70 (16.7%), 71 (47.9%), 72 (16.4%), 84 (14.4%), 86 (38.3%), 99 (20.2%), 100 (27.3%), 128 (100%)
	<i>n</i> -Pentyl	CH ₃	H	4 <i>F</i> -Octedorone	43 (42.8%), 44 (100%), 55 (23.8%), 58 (11.8%), 128 (20.3%)
140	<i>n</i> -Propyl	Pyrrolidinyl		α -PHP	41 (8.5%), 42 (12.7%), 55 (10.7%), 56 (8.7%), 69 (35.5%), 84 (58.8%), 96 (12.3%), 97 (49.7%), 98 (15.1%), 138 (9.0%), 140 (100%)
154	<i>n</i> -Butyl	Pyrrolidinyl		α -PHPP	42 (8.7%), 55 (24.7%), 56 (8.1%), 69 (17.1%), 84 (68.1%), 96 (10.3%), 97 (39.5%), 98 (15.2%), 152 (6.7%), 154 (100%)
168	<i>n</i> -Pentyl	Pyrrolidinyl		α -POP	42 (6.4%), 43 (11.7%), 55 (22.2%), 56 (7.0%), 69 (11.3%), 84 (70.8%), 96 (8.4%), 97 (30.5%), 98 (17.2%), 166 (5.1%), 168 (100%)
182	<i>n</i> -Hexyl	Pyrrolidinyl		α -PNP	42 (6.2%), 43 (13.2%), 55 (9.4%), 69 (20.4%), 84 (66.8%), 96 (6.7%), 97 (22.9%), 98 (15.1%), 182 (100%)

ンとしたプロダクトイオンスキャンで検出される CATs のプロダクトイオンスキャンスペクトルを **Figure 2.13** に示す。4-メチルブフェドロンのイミニウムカチオンをプリカーサイオンとしたプロダクトイオンスペクトルでは、メチル基の脱離により生じたと考えられる m/z 57 のフラグメントイオンがベースピークとして観察された。また、エトカチノンではエチレン脱離の m/z 44 のイオン、*N*-デスメチルペンチロンではプロペン脱離の m/z 30 イオンとそれぞれ考えられるフラグメントイオンがいずれもベースピークとして観察された。一方、4-エチル-*N,N*-ジメチルカチノンでは2回のメチル基脱離を経たと考えられる高い強度の m/z 42、1回のメチル基脱離の m/z 57、ベースピークとして開裂していない m/z 72 のイオンがそれぞれ観察された。

このように、アミンの α 開裂によって生じるイミニウムカチオンをプリカーサとしたプロダクトイオンスペクトルでは、同じ m/z のプリカーサイオンを選択した場合でも、アミンの級数と窒素原子に結合するアルキル基の種類によって、ベースピークの m/z が異なるなど、スペクトルパターンが明確に異なり、構造異性体が容易に識別できる。

2.2.3.4 本手法を用いた包括検出と構造推定

上記 2.2.3.1–2.2.3.3 項の 3 種類の MS/MS 測定を組み合わせることで、CATs の包括検出と検出された CATs の構造推定が理論上可能となる。すなわち、包括指定された CATs が検出された場合、3 種類の MS/MS 測定からそれぞれ得られたクロマトグラムのピークが同一保持時間で検出される。SRM クロマトグラムのピークが検出されたトランジションから、CATs に特徴的なカルボニル骨格を有すること及びベンゼン環に結合する官能基が 9 種類のうちのどの官能基に相当するかが推定される。また、ベンゾイル基の α 開裂で生じるイオンのプロダクトイオンスキャンの結果から、クロマトグラム上にピークが検出されると同時に、得られたプロダクトイオンスペクトルをあらかじめ登録したデータベースで自動検索することにより、ベンゼン環に結合する官能基が特定される。この際、官能基の種類によっては環上の置換位置の特定も可能

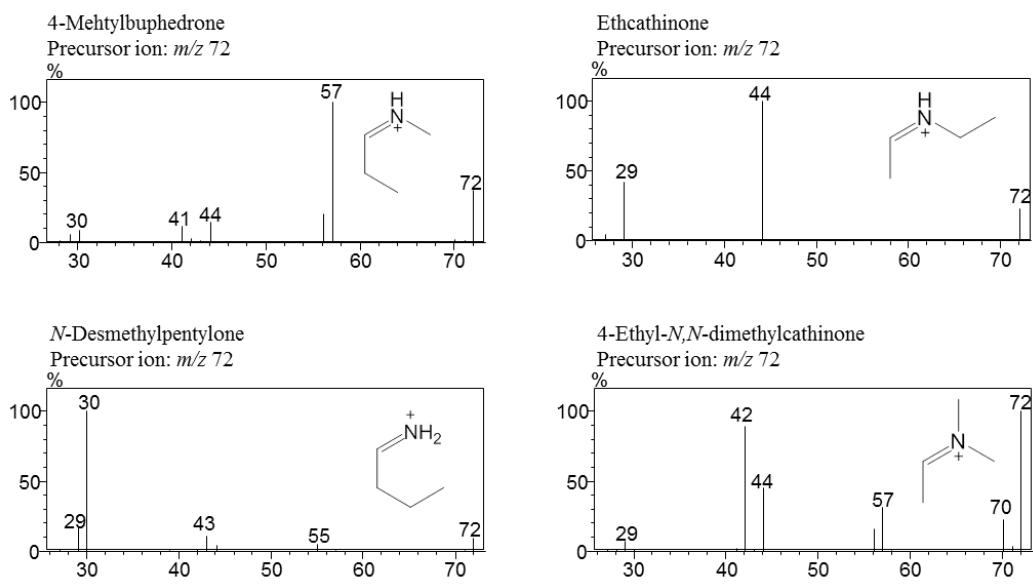


Figure 2.13. Product ion spectra for iminium cations (m/z 72).

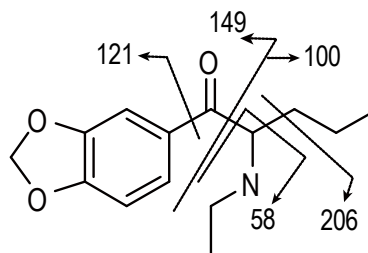
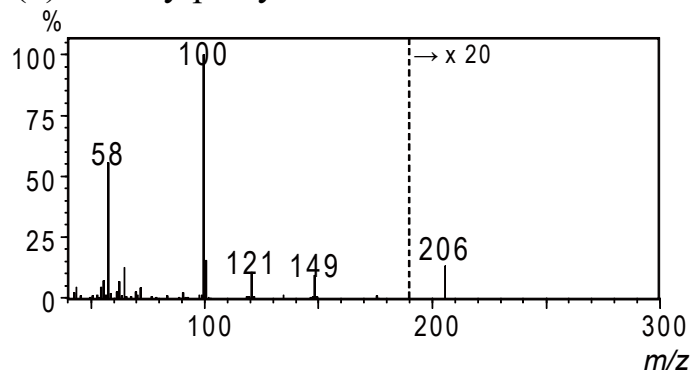
である。さらに、アミンの α 開裂で生じるイミニウムカチオンをプリカーサとしたプロダクトイオンスペクトルをデータベースで自動検索することにより、アミン骨格の同定が可能となる。得られたこれらの結果を組み合わせることで分析対象となった化合物が、包括規制に該当する CATs か否かの判定、さらには該当する場合はその CATs の構造決定も可能となる。

2.2.3.5 本手法と従来法の比較

従来 GC-MS 法では保持時間が非常に近接、さらに EI マススペクトルでの識別が困難な構造異性体の組み合わせとして、*N*-エチルペンチロン (Table 1.2 における R^1 : 3,4-Methylenedioxy、 R^2 : CH_2CH_3 、 R^3 : CH_2CH_3 、 R^4 : H、包括指定薬物に該当) 及び *N-n*-プロピルブチロン (R^1 : 3,4-Methylenedioxy、 R^2 : CH_3 、 R^3 : $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ 、 R^4 : H、包括指定対象外かつ未規制) が挙げられる。これらの標準品を合成し、第 2.1 節で検討した GC-MS 及び GC-MS/MS による本法で分析した。

従来法を用いて得られた EI マススペクトルを Figure 2.14 に示す。第 2.1 節にて得られた知見に基づき解析した。これらの化合物の EI マススペクトルは、いずれもアミンの α 開裂による m/z 100 のイミニウムカチオンが非常に大きい強度で検出され、ベースピークとなっている。また、強度が多少異なるものの比較的強度の大きなフラグメントイオンとして、いずれも m/z 58 のイオンが検出される。これは、フラグメンテーションの機構が異なるものの、共に m/z 100 のイミニウムカチオンからオレフィン脱離により生成したフラグメントイオンであり、*N*-エチルペンチロンでは側鎖から、*N-n*-プロピルブチロンではアミンに修飾するアルキル基からプロペンが脱離し生成したものと考えられる。さらにカルボニル基の α 開裂による m/z 149 及びそれから CO 分子の脱離した m/z 121 のイオンが共に観察される。しかし、これらのフラグメントイオンはエチルペンチロン及び *N-n*-プロピルブチロンでいずれも共通に観察されるフラグメントイオンであり、CATs の構造をある程度絞り込むには有用なイオンではあるものの、両者を識別するための指標とはならない。これに対して、EI マス

(1) *N*-Ethylpentylone



(2) *N*-*n*-Propylbutylone

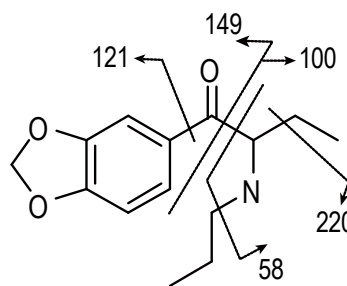
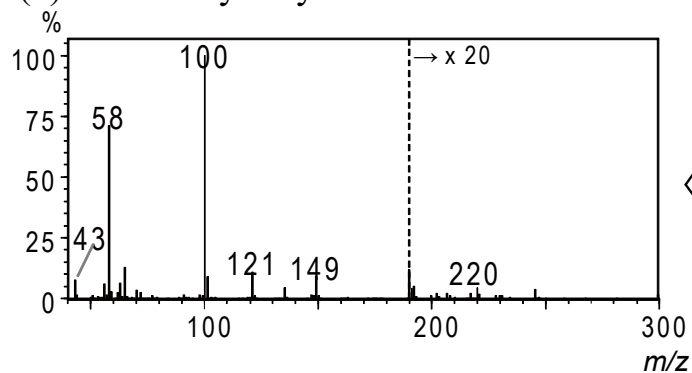


Figure 2.14. EI mass spectra for (1) *N*-ethylpentylone and (2) *N*-*n*-propylbutylone.

ペクトル上で両者を識別する際に決め手となるイオンとしては *N*-エチルペンチロンで検出される m/z 206 のフラグメントイオン、*N-n*-プロピルブチロンで検出される m/z 220 のフラグメントイオンが挙げられる。なお、これらのイオンはアミンの α 開裂が側鎖側で起こったものと考えられている。しかしながら、このイオンは両者を確実に識別するうえで特に重要なイオンであるが強度が非常に小さく、特に低濃度の場合や生体試料ではバックグラウンドノイズの影響を大きく受ける恐れがある。

一方、本法を用いた場合の分析結果を、**Figure 2.15** に示す。それぞれ 3 種類の MS/MS 測定のカロマトグラムにおいて同一保持時間にピークが検出され、SRM カロマトグラム (**Figure 2.15 (A)**) のピークのトランジション (m/z 149>121) から、CATs に特徴的なカルボニル骨格を有すること及びベンゼン環に結合する官能基がメチレンジオキシ基であることが推定される。また、ベンゾイルカチオン (m/z 149) をプリカーサイオンとしたプロダクトイオンスペクトル (**Figure 2.15 (B)**) をデータベースで自動検索することにより、メチレンジオキシ基がベンゼン環の 3,4 位に結合していることが確認された。さらに、アミンの α 開裂で生じる m/z 100 のイオンをプリカーサイオンとしたプロダクトイオンスペクトル (**Figure 2.15 (C)**) をデータベースで検索することにより、*N*-エチルペンチロンのアミン及び側鎖の構造が正しく判定できていることが確認された。なお、*N-n*-プロピルブチロンについては今回データベースに登録したアミン及び側鎖の組み合わせの構造に該当しないためヒットしなかった。このことから、データベースに未登録の構造を持つ化合物を、登録された構造として誤判定しないことも確認できた。このような薬機法で包括指定されている構造以外の化合物を分析しプロダクトイオンスペクトルを登録していくことで、データベースが拡充され分析対象化合物のさらなる拡張が期待される。

2.2.4 小括

GC-MS/MS の SRM とプロダクトイオンスキャン法を用いた CATs の包括検出と構造推定手法について詳細に検討した。EI で生じる α 開裂したイミニウ

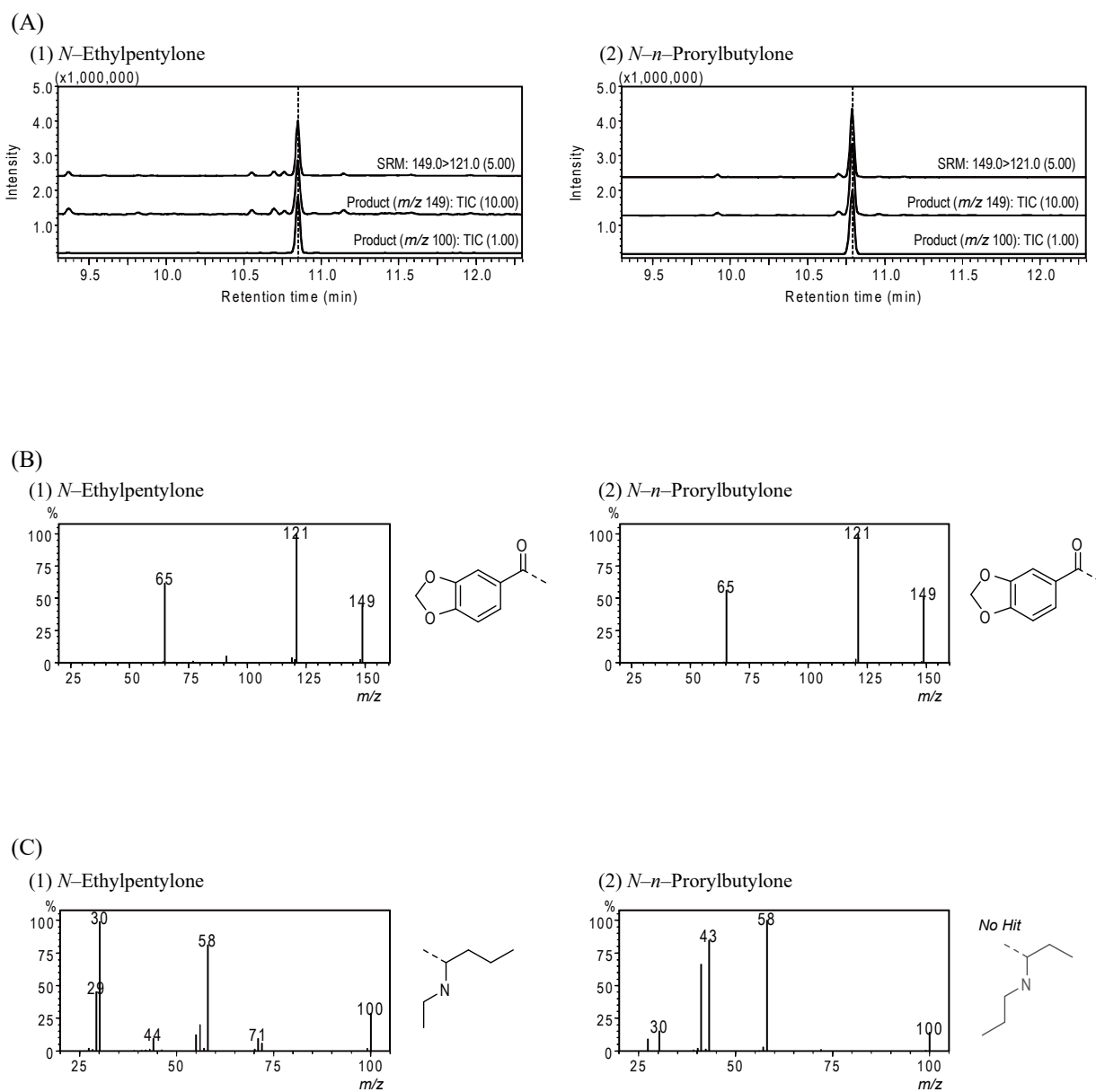


Figure 2.15. Structural estimation using the method developed in this study for (1) *N*-ethylpentylone and (2) *N*-*n*-propylbutylone. (A), SRM chromatogram (m/z 149>121) and total ion current chromatograms in product ion scan for benzoyl cation and iminium cation; (B), product ion spectra of benzoyl cations at m/z 149; (C), product ion spectra of iminium cations at m/z 100.

ムカチオン及びベンゾイルカチオンをプリカーサイオンとしたプロダクトイオンスキャン並びにベンゾイル骨格の識別のための SRM を組み合わせた分析モードで測定することにより、すべての CATs で、包括指定に該当する CATs を網羅的に検出することが可能であった。

アミンの α 開裂で生じるイミニウムカチオンをプリカーサイオンとしたプロダクトイオンスペクトルは、ベースピーク及び各フラグメントイオンの相対強度比は構造異性体間で明確な差異が認められ、GC-MS では識別困難な構造異性体の識別が可能であった。ベンゾイル基の α 開裂で生じるベンゾイルカチオンをプリカーサイオンとしたプロダクトイオンスキャンでは、一部の官能基の位置異性体については識別が困難であったが、エチル基、メトキシ基、メチレンジオキシ基の位置異性体は識別が可能であった。

GC-MS/MS では、EI によって開裂したイオンを任意に選択して、CID によりさらに開裂させることができるため、CATs の主要骨格をアミンとベンゾイルのように 2 つの部分構造に分けて、それぞれ独立して解析を行い、構造推定を行うことができる。本手法では、包括指定で規制される CATs を 56 種のイミニウムカチオン及び 24 種のベンゾイルカチオンで表現することが出来るため、あらかじめ合計 80 種類のプロダクトイオンスペクトルをデータベースとして登録しておけば、従来の個別対象成分ごとに EI マススペクトルを採取する方法よりも標準品や測定に必要な労力を大幅に減らすことができる。

近年、ベンゾイル基の代わりにチエニル基をもつ 2-(ピロリジン-1-イル)-1-(チオフェン-2-イル)ペンタン-1-オン(α -PVT)などの新規の CATs が出回っており、今後も包括規制の対象外の官能基が修飾された CATs の流通が予測される。これらの部分構造を反映した SRM トランジションやプロダクトイオンスペクトル情報を蓄積することにより、派生する新規 CATs の構造推定に大いに役立つと期待される。

第 3 章

α -ピロリジノフェノン類の代謝経路に関する研究

第 3.1 節 ヒト尿中の α -PBP の代謝物分析

3.1.1 緒言

PPs は CATs に該当する危険ドラッグの一群であり、CATs の中でも流通量が多い薬物群である。PPs の一種である α -PVP^[39,49] は特に流通量が多く、日本では 2012 年 11 月 16 に薬事法（現 薬機法）の指定薬物として規制され、2013 年 3 月 1 日には麻薬としてさらに厳しく規制されている。これらの薬物は一旦規制されると、規制を逃れるために、構造を変化させた新種の危険ドラッグが次々と登場する。これまでに α -PVP の構造から、アルキル鎖長が異なる α -PPP^[40]、 α -PBP、 α -PHP、 α -PHPP 及び α -POP、芳香環に置換基を持つ MDPV^[27,50]、4-MeO- α -PVP、4-フルオロ- α -PVP 及びピロバレロン^[27,51,52]、並びにこれら両方の構造が異なる 4-メチル- α -PPP (MPPP)^[40,53]、4-メチル- α -PBP (MPBP)^[41]、4-メチル- α -PHP 及び 4-フルオロ- α -PHPP をはじめとした、多種多様な PPs が世界中で流通してきた^[27,54]。中でも α -PBP は、 α -PVP が指定薬物として規制された際にすぐさま急増し、 α -PBP が指定薬物として規制される 2013 年 5 月 30 日頃までの間に非常に多く流通し、乱用されてきた。

これら規制薬物の使用者を取り締まるためには、使用者の尿から薬物を検出するのみならず、使用薬物の構造を反映した代謝物も併せて検出し、摂取証明を行う必要がある。このためには、使用した薬物について代謝経路を把握し、どのような代謝物が尿から検出されうるか把握することが不可欠である。

これまで PPs の代謝に関して、Shima ら^[49]により α -PVP 使用者尿 19 検体の定量分析の結果から、ヒトでの α -PVP の主要な代謝経路がカルボニル還元及びピロリジン環酸化であると報告されている。また、Springer ら^[40,53]及び Peters ら^[41]によるラットでの α -PPP、MPPP 及び MPBP の代謝経路の研究が報告されている。 α -PPP の代謝経路はカルボニル還元、ピロリジン環酸化、フェニル基 4'-位水酸化、第一級アミン化を経ていること^[40]、MPPP 及び MPBP の代謝経路はいずれもトルイル基の酸化を経たカルボキシル化、ピロリジン環酸化、酸化的脱アミノ化を経ていること^[40,41,53]が報告されている。しかしながら、ラットで

はカルボニル還元のみを受けた代謝物の検出例がほとんど無いことから、ヒトとラット間の種差が顕著なことが示唆されている^[39-41,54]。このため、ヒトでの α -PVPの代謝経路^[49]が最も参考になり、 α -PBP摂取者尿から検出される代謝物は、 α -PBPがカルボニル還元を受けた代謝物1-フェニル-2-(ピロリジン-1-イル)ブタン-1-オール (α -PBP-M1)、ピロリジン環酸化を受けた代謝物 α -(2-オキソピロリジノ)ブチロフェノン (α -PBP-M2)であることが予想される。これらの構造を **Figure 3.1** に示す。

本研究では、これら2種の代謝物を主要なターゲットとし、GC-MS及びLC-MS/MSを用いて、ヒト尿中における α -PBPの第一相代謝物を同定及び定量し、この結果に基づき、 α -PBPの第一相代謝の解明を試みた。

3.1.2 実験及び方法

3.1.2.1 試薬

α -PBPは2.1.2.3項で合成したものをを用いた。 α -PBP-M1、 α -PBP-M2については既報^[49]を参考に合成した。合成方法については3.1.2.2項に示す。合成した化合物はNMR及び四重極-飛行時間型質量分析(QTOF-MS)により、純度98%以上であることを確認した。

ジベンジルアミン(DBA)は和光純薬より購入し、定量分析の際の内部標準(IS)として用いた。全てのストック溶液はメタノール溶液とし、分析前に超純水で希釈し用いた。 β -グルクロニダーゼ/スルファターゼ(*Helix Pomatia*, Type H-1)は、シグマアルドリッチジャパンより購入した。メタノールはLC-MSグレード、その他の試薬は特級のものを和光純薬より購入した。

3.1.2.2 装置

3.1.2.2-1 GC-MS

GC-MSは、島津製作所製GCMS-QP2010 Ultraを用いて以下の条件で行った。

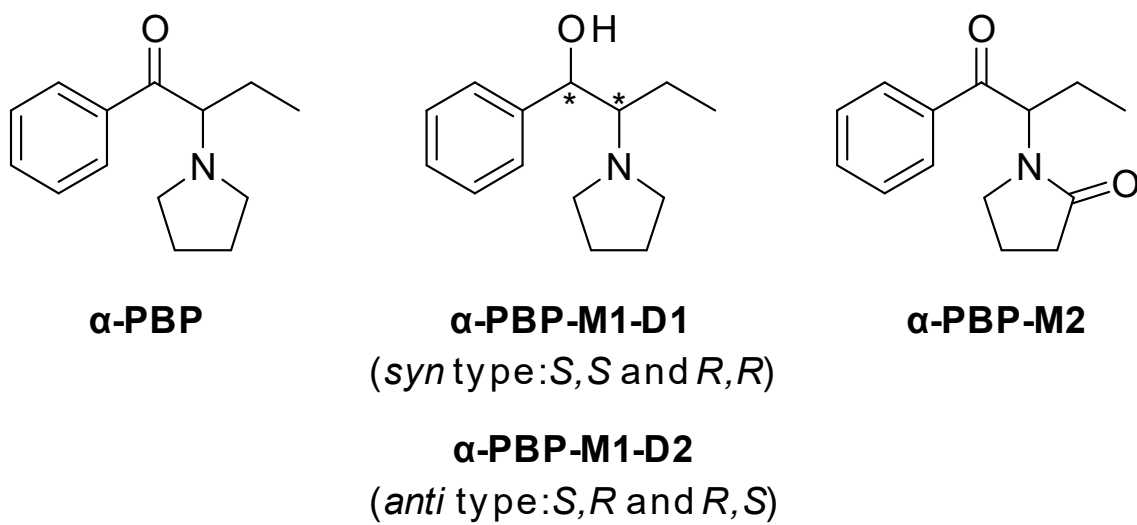


Figure 3.1. Chemical Structures of α -PBP and their phase I metabolites.

分析カラム：Agilent 製 DB-5MS (0.32 mm i.d. × 30 m、膜厚 0.25 μm)、カラム温度：80 °C (1 分間保持) - 320 °C (昇温速度 15 °C/min)、キャリアガス：ヘリウム、カラム流量：3.59 mL/min (圧力制御モード)、試料注入法：スプリットレス、注入口温度：250 °C、イオン化：EI 法、イオン化エネルギー：70 eV、インターフェイス温度：250 °C、イオン源温度：200 °C、スキャン範囲： m/z 40-600、注入量：1 μL。

3.1.2.2-2 LC-MS/MS

LC-MS/MS は、島津製作所製高速液体クロマトグラフ Prominence に AB Sciex 製ハイブリッド三連四重極/リニアイオントラップ型質量分析装置 API 3200 QTRAP を接続し用いた。LC 条件は、カラム：L-Column 2 ODS (150 mm × 1.5 mm i.d.、粒子径 5 μm、化学物質評価機構製)、移動相：(A) 10 mmol/L のギ酸アンモニウム緩衝液を含む 水-メタノール(95:5, v/v)及び(B) 10 mmol/L のギ酸アンモニウム緩衝液を含む水-メタノール(5:95, v/v)によるリニアグラジエント (B%=0-100 (0-20 min), 100 (20-25 min))、移動相流量：0.1 mL/min、カラム温度：40 °C、試料注入量：10 μL とした。MS 条件は、イオン化法：エレクトロスプレーイオン化 (ESI)、極性：ポジティブ、ネブライザーガス：窒素、コリジョンガス：窒素、測定モード：定性分析はプロトン付加分子をプリカーサイオンとしたエンハンスドプロダクトイオンスキャン、定量分析は SRM。プロダクトイオンスキャン分析での脱クラスター電圧 (DP)：30 V、CE：25 eV とした。各化合物の SRM パラメーターは **Table 3.1** に示す通りである。

3.1.2.2-3 NMR 及び高分解能質量分析

合成した標準品の構造及び純度は、NMR 及び高分解能質量分析 (HRMS) で確認した。

NMR は JEOL 製の JNM-ECS 400 フーリエ変換 NMR 装置を用いて、内標準物質としてテトラメチルシランを含む重クロロホルム及び重メタノールに溶解して測定した。

Table 3.1 Targeted compounds and their optimized SRM parameters

Compound	Precursor ion (<i>m/z</i>)	Quantifier ion (<i>m/z</i>)	Dwell time (ms)	DP (V)	EP (V)	CEP (V)	CE (eV)	CXP (V)
α -PBP	218.2	91.1	30	41	8	16	32	3
α -PBP-M1-D1	220.2	202.2	30	25	6	16	19	3
α -PBP-M1-D2	220.2	91.1	30	25	6	16	40	3
α -PBP-M2	232.1	91.1	30	43	8	15	35	3
IS (Dibenzylamine)	198.1	91.1	30	31	7	12	27	4

DP, declustering potential; EP, entrance potential; CEP, collision cell entrance potential; CE, collision cell energy; CXP, collision cell exit potential; M, metabolite; D diastereomer; IS, internal standard.

HRMS は AB Sciex 製四重極一飛行時間型質量分析装置 Triple TOF 5600 で、ESI イオン源を用い、プロトン付加分子 ($[M+H]^+$) をターゲットとして TOF によるシングルスキャン分析した。

3.1.2.3 合成

3.1.2.3-1 1-フェニル-2-(ピロリジン-1-イル)ブタン-1-オール (α -PBP-M1)

2.1.2.3 項で合成した α -PBP をエタノール溶液とし、水素化ホウ素ナトリウムを加えて 60 °C で 1 h 攪拌した。減圧下で反応溶液の溶媒を溜去し、得られた残渣に 10%塩酸を加えて酸性とし、ジエチルエーテルを加えて振とうし、洗浄した。水相を 10%炭酸ナトリウム水溶液で塩基性とした後、酢酸エチルを加えて振とうし、目的物を抽出した。回収した有機相を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで脱水し、ロータリーエバポレーターで溶媒を溜去し、淡黄色オイル状の α -PBP-M1 をジアステレオマー (α -PBP-M1-D1 (*syn* 型)及び α -PBP-M1-D2 (*anti* 型)) 混合物として得た。このジアステレオマー比は NMR により測定した。

^1H NMR のデータを、(多重度、積分値、カップリング定数(Hz)、帰属)の順で示す。 ^1H NMR (400 MHz, 重クロロホルム; ジアステレオマー混合物, α -PBP-M1-D1 (*syn* 型)は§、 α -PBP-M1-D2 (*anti* 型)は*で示す): δ 7.40–7.30 (m, $4H^*$, $4H^\S$, ArH), 7.30–7.21 (m, $1H^*$, $1H^\S$, ArH), 5.00 (d, $J = 3.6$ Hz, $1H^*$, $-\text{CH}(\text{OH})-$), 4.18 (d, $J = 9.2$ Hz, $1H^\S$, $-\text{CH}(\text{OH})-$), 2.85–2.61 (m, $4H^*$, $5H^\S$, $-\text{CH}_2-\text{N}-\text{CH}_2-$ 及び $-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}^\S-$), 2.48 (dt, $J = 3.6, 4.4$ Hz, $1H^*$, $-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}^*-$), 1.85–1.75 (m, $4H^*$, $4H^\S$, $-\text{N}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$), 1.61–1.40 (m, $1H^*$, $1H^\S$, $-\text{CHCH}_2\text{CH}_3$), 1.34–1.18 (m, $1H^*$, $1H^\S$, $-\text{CHCH}_2\text{CH}_3$), 0.80 (t, $J = 7.6$ Hz, $3H^*$, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$), 0.61 (t, $J = 7.6$ Hz, $3H^\S$, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$). ジアステレオマー比 : 1.3 (*syn/anti*). HRMS : 計算値 $[M+H]^+$ 220.1696, 測定値 220.1698.

3.1.2.3-2 α -(2-オキソ-ピロリジノ)ブチロフェノン (α -PBP-M2)

2-ブロモ-ブチロフェノンの THF 溶液に、2-ピロリジノン を 15 % ナトリウムメトキシド メタノール溶液にあらかじめ溶解したものを加え、室温で 48 h 攪拌した。反応溶液に 10 % 塩酸を加えて酸性とし、ジエチルエーテルを加えて振とうし、未反応の 2-ピロリジノン を除去した。水相を 10 % 炭酸ナトリウム水溶液で塩基性とし、酢酸エチルを加えて振とうし、目的物を抽出した。回収した有機相を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで脱水し、ロータリーエバポレーターで溶媒を溜去した。残渣を酢酸エチル-*n*-ヘキサン (1:1, v/v) を用いたシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、 α -PBP-M2 を単離した。減圧下で溶媒を除去し、 α -PBP-M2 の淡黄色オイルを得た。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 重メタノール): δ 8.07–8.03 (m, 2H, ArH), 7.60–7.55 (m, 1H, ArH), 7.50–7.44 (m, 2H, ArH), 5.57 (dd, $J = 6.0, 9.2$ Hz, 1H, -COCH $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ -), 3.36 (ddd, $J = 6.0, 8.0, 9.6$ Hz, 1H, -CH $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ -NCO-), 3.24 (ddd, $J = 5.6, 8.0, 9.6$ Hz, 1H, -CH $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ -NCO-), 2.44 (ddd, $J = 7.2, 9.6, 17$ Hz, 1H, -NCO-CH $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ -), 2.34 (ddd, $J = 6.4, 9.6, 17$ Hz, 1H, -NCO-CH $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ -), 2.04–1.85 (m, 3H, -NCO-CH $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ -及び-CHCH $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ CH $\underline{\text{C}}\text{H}_3$), 1.85–1.65 (m, 1H, -CHCH $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ CH $\underline{\text{C}}\text{H}_3$), 0.94 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H, -CH $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ CH $\underline{\text{C}}\text{H}_3$). HRMS : 計算値 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 232.1332, 測定値 232.1331.

3.1.2.4 尿試料

尿試料は、科学捜査研究所に鑑定嘱託された α -PBP 使用者尿 11 検体であり、 -20°C で保管した。これらの尿検体は α -PBP の使用量や、使用から採尿までの期間は不明であった。

バリデーションに用いたブランク尿試料は、健康な成人男性より提供を受けた。

3.1.2.5 試料前処理

3.1.2.5-1 GC-MS 用の試料前処理

尿試料 100 μL に炭酸緩衝液 (1 mol/L) を加えて pH 9 に調整し、塩析剤として塩化ナトリウムを飽和させた。この溶液に 500 μL のクロロホルム-イソプロピルアルコール (3:1) を加え、ボルテックスミキサーで 1 min 振とうした。遠心分離 (10 min、7000 $\times g$) 後、有機相をガラスバイアルに回収し、酢酸を 50 μL 添加し、窒素気流下、40 $^{\circ}\text{C}$ で乾固した。残渣を 100 μL のクロロホルム-イソプロピルアルコール (3:1) に溶解し、GC/MS 用の試料とした。

また、乾固し得られた残渣に、*N*-メチル-*N*-(トリメチルシリル)トリフルオロアセトアミド (MSTFA) を添加し、密栓し 70 $^{\circ}\text{C}$ で 30 min 反応させて、トリメチルシリル (TMS) 化を行い、GC-MS 用の試料とした。

3.1.2.5-2 LC-MS/MS 用の試料前処理

尿試料 1 mL に酢酸緩衝液 (1 mol/L) を加えて pH 5 に調整し、 β -グルクロニダーゼ/スルファターゼ (それぞれ 15000 U/mL、750 U/mL) を加えて、37 $^{\circ}\text{C}$ で 5 h 水浴上で加熱しながらゆるやかに振とうし、酵素加水分解した。

加水分解前及び加水分解後の尿試料 100 μL に、それぞれ IS として DBA 水溶液 (100 ng/mL) 100 μL を添加した。軽く混和した後、600 μL のメタノールを添加し、ボルテックスミキサーを用いて 1 min 攪拌した。これを、7000 $\times g$ で 10 min 遠心分離し、上清をガラスバイアルに回収し、窒素気流下、50 $^{\circ}\text{C}$ で乾固した。残渣を 100 μL の超純水に溶解し、孔径 0.22 μm のメンブランフィルターでろ過し、LC-MS/MS 用の試料とした。

3.1.3 結果と考察

3.1.3.1 α -PBP の尿中代謝物の定性分析

3.1.3.1-1 GC-MS による尿中代謝物の定性分析

Figure 3.2 に、 α -PBP の未変化体、 α -PBP-M1-D1、 α -PBP-M1-D2、 α -PBP-M2 標準品添加尿試料の GC-MS クロマトグラム (**Figure 3.2A** 及び **B**) 及び EI マスス

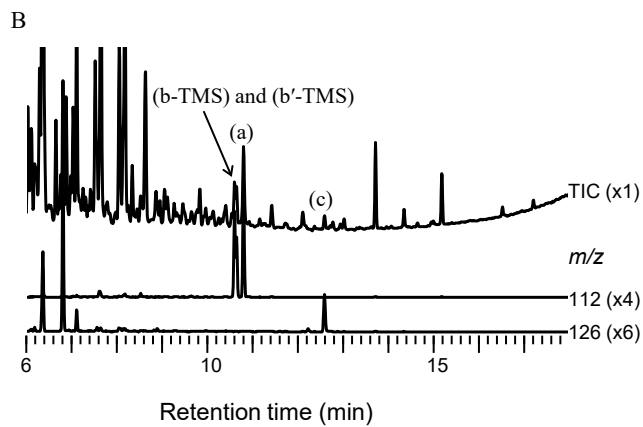
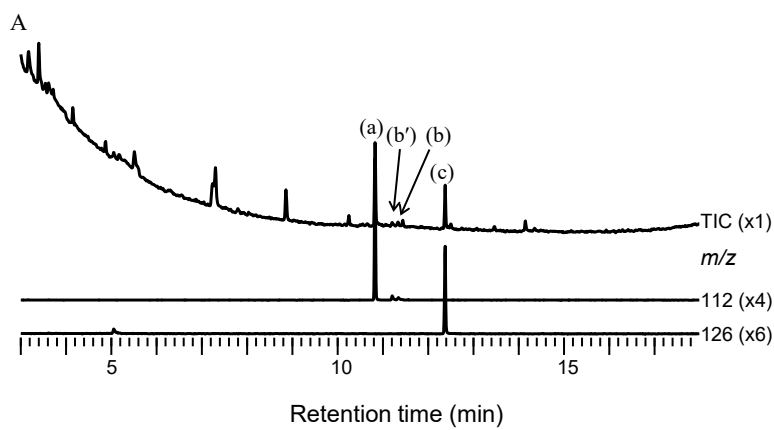


Figure 3.2. A GC-MS chromatograms obtained from an authentic standard mixture (1 $\mu\text{g/mL}$ each) without derivatized and **B** with TMS derivatized, and **C** EI mass spectra of α -PBP and its metabolites without TMS derivatized. Peaks and mass spectra: (a), α -PBP; (b), α -PBP-M1-D1; (b'), α -PBP-M1-D2; (c), α -PBP-M2. Numbers in parentheses represent magnification ratios.

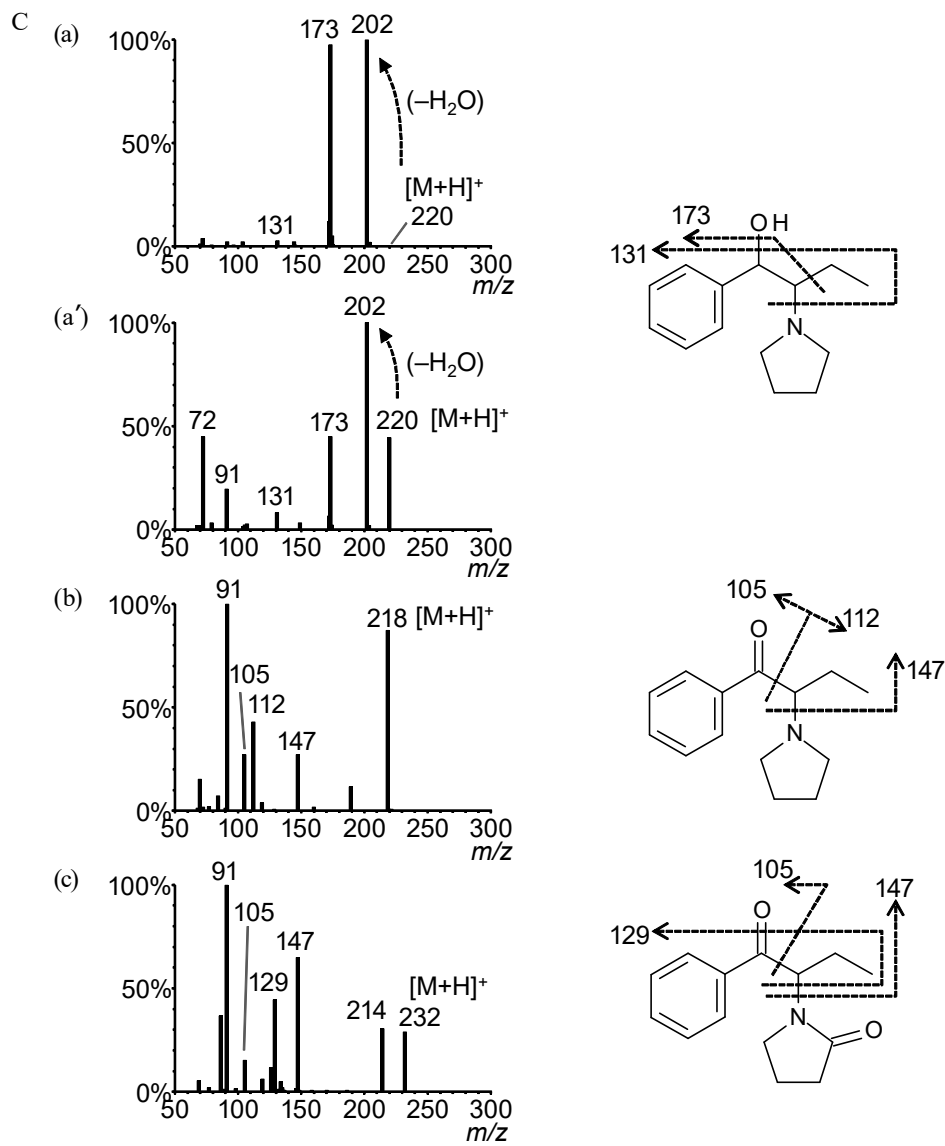


Figure 3.2. (Continued)

ペクトル (**Figure 3.2C**) を示す。遊離塩基の TIC 上で、 α -PBP-M1 はジアステレオマーが分離して検出されたが (**Figure 3.2A** 中のピーク (b) 及び (b'))、EI マススペクトルは酷似していた (**Figure 3.2C(b)**)。この結果はこれまでの Shima らによる 3,4-DMMC^[20] 及び α -PVP^[49] の結果と同様である。

また、TMS 誘導体化により α -PVP のヒドロキシ体の感度が約 10 倍向上したことが報告されている^[49]。そこで、 α -PBP の尿試料に関しても、MSTFA により TMS 誘導体化した試料について GC/MS を実施したが、 α -PBP-M1 の TMS 誘導体が検出されたが、ジアステレオマーの分離は達成できなかった (**Figure 3.2B**)。このため、 α -PBP-M1 をジアステレオマーごとに定量する際、GC/MS は不向きであると示唆される。

ここで、 α -PBP-M2 の EI マススペクトル (**Figure 3.2C(c)**) は、 α -PVP の EI マススペクトル (**Figure 2.3(g)**) と類似していた。いずれもアミンの α 開裂による m/z 126 の非常に強度の高いイミニウムカチオンのフラグメントイオンがベースピークとして観察される。しかし、このイミニウムカチオンからオレフィンが脱離したイオン (2.1.4.1-2 項参照) は強度が低いものの、 α -PBP-M2 が m/z 98 ($C_9H_8NO^+$)、 α -PVP が m/z 84 ($C_5H_{10}N^+$) と異なる。従って、強度が弱いながらもこのフラグメントイオンに着目することで、これらの明確な識別が可能である。

3.1.3.1-2 LC-MS/MS による尿中代謝物の定性分析

LC-MS/MS は、 α -PVP において既に報告されている分析条件^[49]を参考に、 α -PBP 使用者尿の前処理及び測定を行った。その結果、 α -PBP、 α -PBP-M1-D1、 α -PBP-M1-D2、 α -PBP-M2 の 4 成分は、ジアステレオマーを含めて LC で明確に分離が達成でき、プロダクトイオンスペクトルも取得可能であった。**Figure 3.3** に α -PBP 使用者尿より得られた、クロマトグラム及びプロダクトイオンスペクトルを示す。 α -PVP の既報^[49]と同様に、 α -PBP-M1 のジアステレオマー間で、プロダクトイオンスペクトルが異なり (**Figure 3.3B (a) 及び (a')**)、 m/z 72 及び 91 の強度に差異が認められ、これは標準品を分析した際も同様な傾向であった。こ

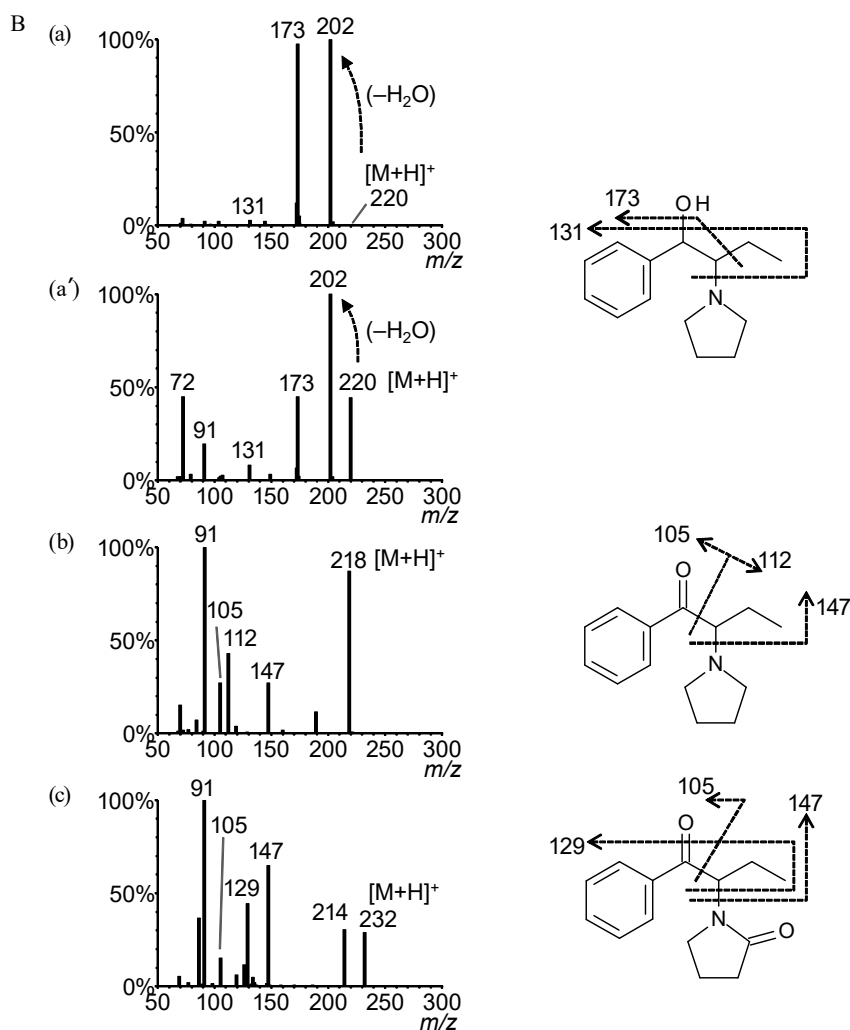
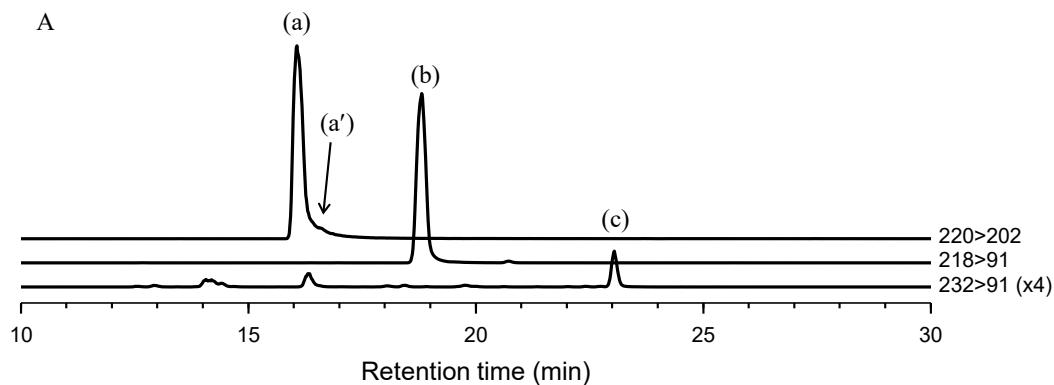


Figure 3.3. **A** LC-MS/MS chromatograms obtained from an α -PBP user's urine specimen, and **B** product ion mass spectra of α -PBP and its metabolites. Peaks and mass spectra: (a), α -PBP-M1-D1; (a'), α -PBP-M1-D2; (b), α -PBP; (c), α -PBP-M2. Each protonated molecule was selected as a precursor ion.

れは、ピロリジン環とヒドロキシ基の立体的距離が近い *syn* 体の α -PBP-M1-D1 と、立体的距離が遠い *anti* 体の α -PBP-M1-D2 でフラグメンテーションの進行しやすさに差があるためと考えられる。

3.1.3.2 α -PBP 及びその尿中代謝物の定量分析

LC-MS/MS の SRM モードで、 α -PBP 使用者尿中の α -PBP 及びその代謝物濃度を定量した。Table 3.2 にドラッグフリー尿に標準品を添加しバリデーションを行った結果をまとめた。前処理はメタノール沈殿法を用いたため、89%以上の高い回収率が得られた。また、検量線の直線性も 30–3000 ng/mL の範囲で良好であった。検量線範囲を超える尿試料については、ドラッグフリー尿で希釈し、再測定を行った。尿マトリックスにおけるイオンサプレッションの影響について、3 種類の尿と超純水を比較し評価したところ、いずれの尿試料についてもイオンの強度の僅かな定量値の減少が認められたが、減少率は 10%以下で影響はほとんど無かった。精度及び確度はいずれの化合物も 12%未満であり、良好であった。

GC-MS 及び LC-MS/MS によって α -PBP が検出された 11 検体の尿試料について、バリデーションを行った LC-MS/MS のメソッド及び検量線にて α -PBP 及びその 3 種類の代謝物を定量した。得られた定量値を Table 3.3 に示す。全ての尿試料において、未変化体及び 3 種類の代謝物がいずれも検出され、中でも α -PBP-M1-D1 が最も高濃度で検出された。 α -PBP-M1-D1 は母化合物の構造を良く反映している代謝物であることから、摂取を証明する指標として最適であると考えられる。

ここで、 α -PBP-M1 のうちジアステレオマーD1 が占める割合 (α -PBP-M1-D1 / α -PBP-M1) は、 0.995 ± 0.003 ($n=11$) であり偏倚が大きいことが示された。代謝反応でのこの顕著な偏倚は、カルボニル還元酵素の *R*-及び *S*- α -PBP の基質特異性あるいはカルボニル基還元反応の特異性、あるいはその両方によるものと考えられる^[49,55,56]。

Table 3.2 Validation data for the LC-MS/MS procedure established in the present study

Item for validation	α -PBP	α -PBP-M1-D1	α -PBP-M1-D2	α -PBP-M2	
Recovery (%) (1000 ng/mL) ^a	93.0	89.8	90.2	91.9	
Correlation coefficient (R^2) ^b	0.9989	0.9980	0.9980	0.9984	
Addition samples, mean \pm SD (ng/mL) ^c					
(200 ng/mL)	186 \pm 4	204 \pm 20	211 \pm 8	180 \pm 3	
(2000 ng/mL)	2210 \pm 30	2210 \pm 90	2070 \pm 40	2090 \pm 30	
Intraday accuracy relative error (%) ^c					
(200 ng/mL)	-7.11	+2.10	+5.74	-9.88	
(2000 ng/mL)	+10.5	+10.5	+3.61	+4.40	
Precision RSD (%) ^c					
Intraday	(200 ng/mL)	1.95	10.2	3.81	1.45
	(2000 ng/mL)	1.63	4.73	2.08	1.37
Interday	(200 ng/mL)	3.73	4.76	6.14	8.45
	(2000 ng/mL)	4.04	11.3	10.0	2.14

^a The recoveries were calculated by comparing peak areas of the analytes extracted from spiked samples with those spiked in urinary extract ($n = 5$).

^b Linearity ranges were tested with 5 different concentrations (30–3000 ng/mL) of analytes spiked into drug-free urine.

^c Accuracy and precision data were obtained from 5 spiked samples for each concentration.

Table 3.3 Urinary concentration of α -PBP and its metabolites in α -PBP users' urine specimens

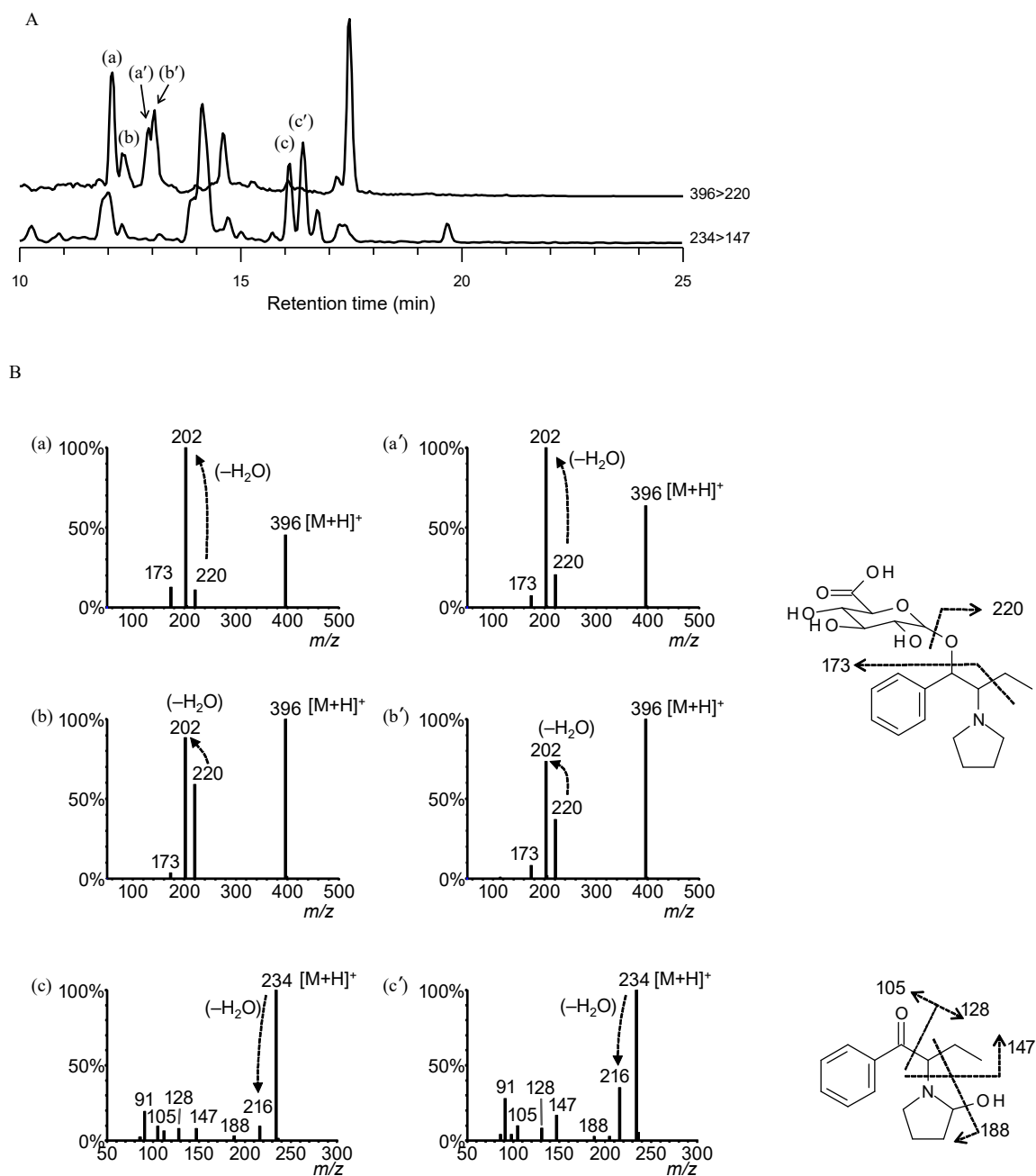
Subject No.	Urinary Concentration (ng/mL)			
	α -PBP	α -PBP-M1-D1	α -PBP-M1-D2	α -PBP-M2
1	31600	61600	538	2080
2	9040	10700	50.6	1530
3	8580	86000	706	529
4	7780	40600	148	1930
5	4330	9250	41.3	187
6	2660	13500	74.3	1190
7	1730	7800	77.0	210
8	1140	5550	36.8	63.5
9	562	3615	n. q. ^a	69.4
10	542	10900	59.9	615
11	485	143	n. q.	79.4

^a n. q., not quantitated.

また、 α -PBP-M1 と α -PBP-M2 の比 (α -PBP-M1 / α -PBP-M2) は、 43.7 ± 47.0 ($n = 11$ 、範囲：1.8–160) であり、いずれの試料も α -PBP-M2 より α -PBP-M1 へ代謝されやすかった。このため、ピロリジン環の酸化よりカルボニル還元を経路のほうが主要であると示唆される。ここで、 α -PBP-M1 のうちジアステレオマー-D1 が占める割合 (α -PBP-M1-D1 / α -PBP-M1) は、 0.995 ± 0.003 ($n = 11$) であり偏倚が大きいことが示された。代謝反応でのこの顕著な偏倚は、カルボニル還元酵素の *R*-及び *S*- α -PBP の基質特異性あるいはカルボニル基還元反応の特異性、あるいはその両方によるものと考えられる^[49,55,56]。

また、 α -PBP-M1 と α -PBP-M2 の比 (α -PBP-M1 / α -PBP-M2) は、 43.7 ± 47.0 ($n = 11$ 、範囲：1.8–160) であり、いずれの試料も α -PBP-M2 より α -PBP-M1 へ代謝されやすかった。このため、ピロリジン環の酸化よりカルボニル還元を経路のほうが主要であると示唆される。

ここで、酵素加水分解処理を行うことによって、 α -PBP-M1 の濃度が約 1 割上昇したことから、 α -PBP-M1-D1 及び α -PBP-M1-D2 は、グルクロン酸抱合あるいは硫酸抱合を受ける経路で尿中へ排泄されることが示唆された。なお、酵素加水分解処理後の尿試料においてもグルクロン酸抱合体が残留しており、完全には加水分解反応が進行しなかった。また、加水分解処理した尿試料及び加水分解していない尿試料を分析し比較したところ、加水分解処理で消滅あるいは減少した 4 本のピークが、SRM クロマトグラム (トランジション: m/z 396 > 220) 上に観察された (Figure 3.4A のピーク (a)、(a')、(b) 及び (b'))。これら 4 成分のプロダクトイオンスペクトルはお互いに類似しており (Figure 3.4B)、プリカーサイオンの m/z 396 より 176 (グルクロニル基に相当) だけ小さい m/z 220 (アグリコン α -PBP-M1 のプロトン付加分子に相当)、 m/z 173 及び 202 のフラグメントイオンが、いずれのスペクトルからも観察された (Figure 3.4B (a)、(a')、(b) 及び (b'))。このため、これら 4 本のピークは α -PBP-M1 のグルクロン酸抱合体のジアステレオマーであることが示唆された。そこで、これら 4 本のジアステレオマーピークを帰属するために、インソース CID により、グルクロン酸を脱離させアグリコンとなった α -PBP-M1 のプロトン付加分子に相当する m/z 220



をプリカーサイオンとして、プロダクトイオンスキャン分析を行った。**Figure 3.4B** のピーク(a)及び(a')は α -PBP-M1-D1 (**Figure 3.4B(a)**)、ピーク(b)及び(b')は α -PBP-M1-D2 (**Figure 3.4B(a')**) と同様なプロダクトイオンスペクトルが得られたことから、ピーク(a)及び(a')は α -PBP-M1-D1 のグルクロン酸抱合体、ピーク(b)及び(b')は α -PBP-M1-D2 のグルクロン酸抱合体であると帰属される。以上のように、 α -PBP-M1 がグルクロン酸抱合を受け、ジアステレオマーの 4 本のピークとして検出されることが明らかとなった。これは、これまでに報告されている α -PVP の第二相代謝^[49]と一致する。

3.1.3.3 その他の代謝物の探索

その他の推定代謝物を、プロダクトイオンスペクトル及び保持時間情報より探索した。加水分解後の試料において、2 本のピークが SRM クロマトグラム (トランジション: m/z 234>147) 上に観察された (**Figure 3.4A** のピーク(c)及び(c'))。これらのピークは、プロダクトイオンスペクトルより、いずれもピロリジン環の酸化体である 2''-ヒドロキシ体であり、そしてプロダクトイオンスペクトルが酷似していることからジアステレオマーの関係であると示唆された (**Figure 3.4B(c)**及び(c'))。2''-ヒドロキシ体が検出されることは、 α -PBP が、これを中間体とし、 α -PBP-M2 へと代謝されることを示している。つまり、 α -PBP の代謝は、同じくピロリジン環構造を持つ α -PVP の代謝^[49]と同じ挙動であることを示唆する。

3.1.3.4 α -PBP の代謝経路

本研究で得られた定量結果に基づき、予想される α -PBP の代謝経路を **Figure 3.5** に示す。カルボニル還元を経由した代謝物である α -PBP-M1 及びピロリジン環 2''位の酸化を経由した代謝物 α -PBP-M2 が同定されたことから、 α -PBP の代謝は主に以下の 2 つの経路、(1)カルボニル還元を受け α -PBP-M1 となり主にグルクロン酸抱合を受ける経路、及び(2)ピロリジン環の 2''位が酸化

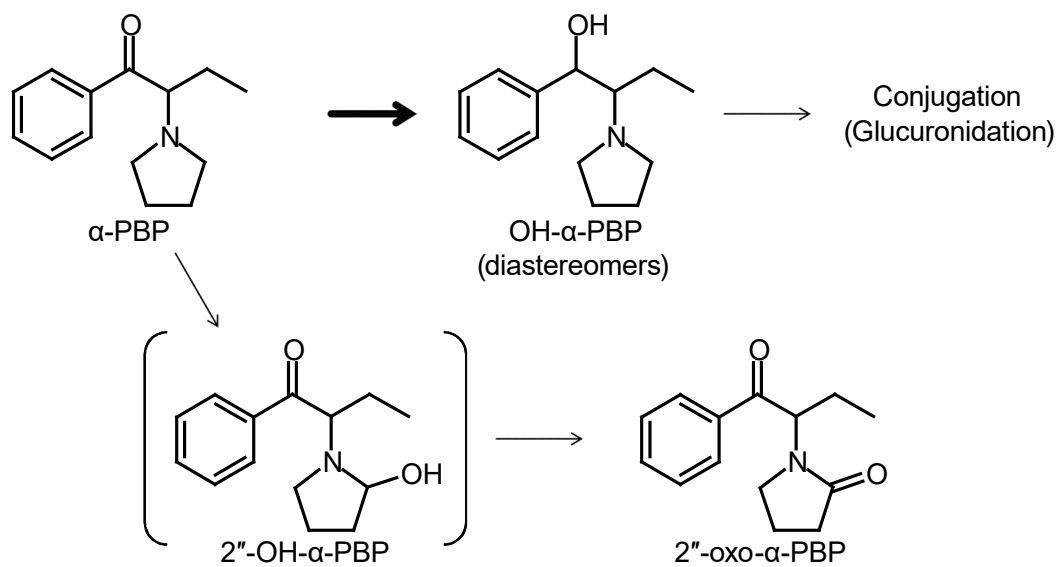


Figure 3.5. Proposed major phase I metabolic pathways for α -PBP in humans.

され、2''-ヒドロキシ体を中間体とし、 α -PBP-M2 へと酸化される経路によるものと考えられる。これらの主要代謝経路は α -PBP と構造の類似した、 α -PVP のヒトでの主要代謝経路^[49]、並びに Peter ら^[41]と Springer ら^[53]による MPBP 及び α -PPP のラットでの主要代謝経路と共通している。Peter ら^[41]により、MPBP のラットでの代謝は複数の経路（トルイル基の水酸化を経由したカルボキシル化、ピロリジン環の水酸化を経由し脱水素によるピロリドン化、4'-カルボキシ体の1位カルボニル基還元による第二級アルコール化）が存在すると報告されている。また、Springer ら^[53]によりラットの尿中から α -PPP の代謝物として 2''-oxo- α -PPP、4'-ヒドロキシ- α -PPP、ノルエフェドリンが検出されたと報告されている。しかしながら、本研究での α -PBP-M1 はヒトにおける最も主要な代謝物であることが明らかとなったが、これに相当するカルボニル還元反応のみにより生成する代謝物は MPBP 及び α -PPP において検出された報告はない。一方、 α -PBP の 4'-ヒドロキシ体代謝物は検出されなかった。これらの結果に基づけば、PPs の第一相代謝反応（ケトン基の還元、芳香環のヒドロキシ化など）には、ヒト及びラット間で顕著な種差が存在すると考えられる。

3.1.4 小括

合成した標準品を用いて、 α -PBP 使用者尿中から、未変化体及びジアステレオマーを含めた3種の代謝物を検出し、合成した標準品により同定した。そして、未変化体代謝物の定量結果により、 α -PBP は2種類の主要な代謝経路が存在することを明らかにした。Figure 3.5 に示すように、1つ目の主要代謝経路はケトン基の還元によりジアステレオマーの α -PBP-M1-D1 及び α -PBP-M1-D2 が生成する経路である。2つ目の主要代謝経路はピロリジン環の2''位が酸化され2''-ヒドロキシ体を中間体とし、それが脱水素され α -PBP-M2 が生成する経路である。

第 3.2 節 ヒト尿中の α -PHP 及び α -PHPP の代謝物分析

3.2.1 緒言

PPs の中でも日本で最も流通量の多い α -PVP を基準として、アルキル鎖や芳香環、そしてそれらの両方の構造が変化した構造類似体が流通している。芳香環がフェニルである PPs に絞りアルキル鎖の違いのみに着目するならば、 α -PBP 及び α -PVP が指定薬物や麻薬として、アルキル鎖の短い α -PPP が包括指定薬物として規制された後に、アルキル鎖の長い α -PHP、 α -PHPP、 α -POP 及び α -ピロリジノナノフェノン (α -PNP) が次々と流通するようになった。

PPs に関するこれまでの研究としては、第 2 章で述べてきたような構造推定法以外に、空気中での安定性^[57]や分析法^[58,59]、定量法^[60]など、未変化体を対象とした報告は多いものの、生体試料中の代謝物も含めて分析対象とした報告は非常に少ない。

これまでに、芳香環がフェニル基の PPs の代謝として、第 3.1 節において α -PBP 使用者の尿中代謝物を探索し、ヒトにおける代謝経路を明らかにした。また、Shima らにより、同様に α -PVP^[49]及び α -POP^[61]を使用者の尿中代謝物を探索し、ヒトにおける代謝経路を解明し報告がなされている。これらの研究によって、 α -PBP 及び α -PVP については、(1)いずれも 1 位カルボニル還元及びピロリジン環 2"位酸化が尿中の主要な代謝経路であること、(2) α -PBP は α -PVP よりも 1 位カルボニル還元を経由する割合が大きいこと、(3) α -PBP は α -PVP よりも 1 位カルボニル還元体のジアステレオマー比の偏りが大きいことが明らかとなった。一方、 α -POP については、 α -PBP 及び α -PVP とは代謝経路が大きく異なり、カルボニル還元及びピロリジン環 2"位酸化を経た代謝物は検出されるもののマイナーな代謝経路であり、アルキル鎖の ω 位あるいは ω -1 位の酸化を経由した代謝物が主要な代謝物であることが明らかとなっている^[61]。従って、 α -PBP から α -POP まで、PPs の代謝経路がアルキル鎖長の伸長によって大きく変遷していることが予想された。

これら芳香環がフェニル基の PPs の代謝経路については、Tyrkkö らによる α -

PVP の代謝経路を *in silico* で予測した報告^[62]や、*in vitro* で実験した報告^[63-65]がある。また、Paul らによる α -PHP^[63]及び Swortwood らによる α -PHPP^[67]の実際に摂取者の尿を分析した報告も僅かながらある。しかしながら、これらの報告はごく少数の検体の分析結果によるものであり、代謝物についてもマススペクトル解析によってのみ検出しており、標準品を用いた同定を行ったものではないため、あくまで推定の域を出ない。

そこで本研究は、芳香環がフェニル基をもつ PPs についてアルキル鎖と代謝経路の関係を調べるために、新たに α -PHP 及び α -PHPP 摂取者尿を分析し主代謝物を探索し、予想される代謝物 (Figure 3.6 に構造を示す) である 1 位カルボニル還元体 (M1) 及びピロリジン環 2"位酸化体 (M2) を合成することにより主代謝物の同定を行った。さらに、合成した 1 位カルボニル還元体及びピロリジン環 2"位酸化体の標準品を用いて定量分析を行い、尿中排泄プロファイルを探索することで、これらの代謝経路の解明を試みた。すでに得られている α -PBP、 α -PVP 及び α -POP の尿中排泄プロファイルと併せて考察することにより、PPs のアルキル鎖と代謝経路の関係を総合的に解明することを目的とした。

3.2.2 実験及び方法

3.2.2.1 試薬

α -PHP 及び α -PHPP については、2.2.2.3 項で合成したものを用いた。また、1-フェニル-2-(ピロリジン-1-イル)ヘキサン-1-オール (α -PHP-M1)、1-フェニル-2-(ピロリジン-1-イル)ヘプタン-1-オール (α -PHPP-M1)、 α -(2-オキソ-ピロリジノ)ヘキサノフェノン (α -PHP-M2) 及び α -(2-オキソ-ピロリジノ)ヘプタノフェノン (α -PHPP-M2) については、3.1.2.3 項及び既報^[49,61]を参考に、3.2.2.3 項に示す方法で合成した。その他の試薬は 3.1.2.1 項と同様である。

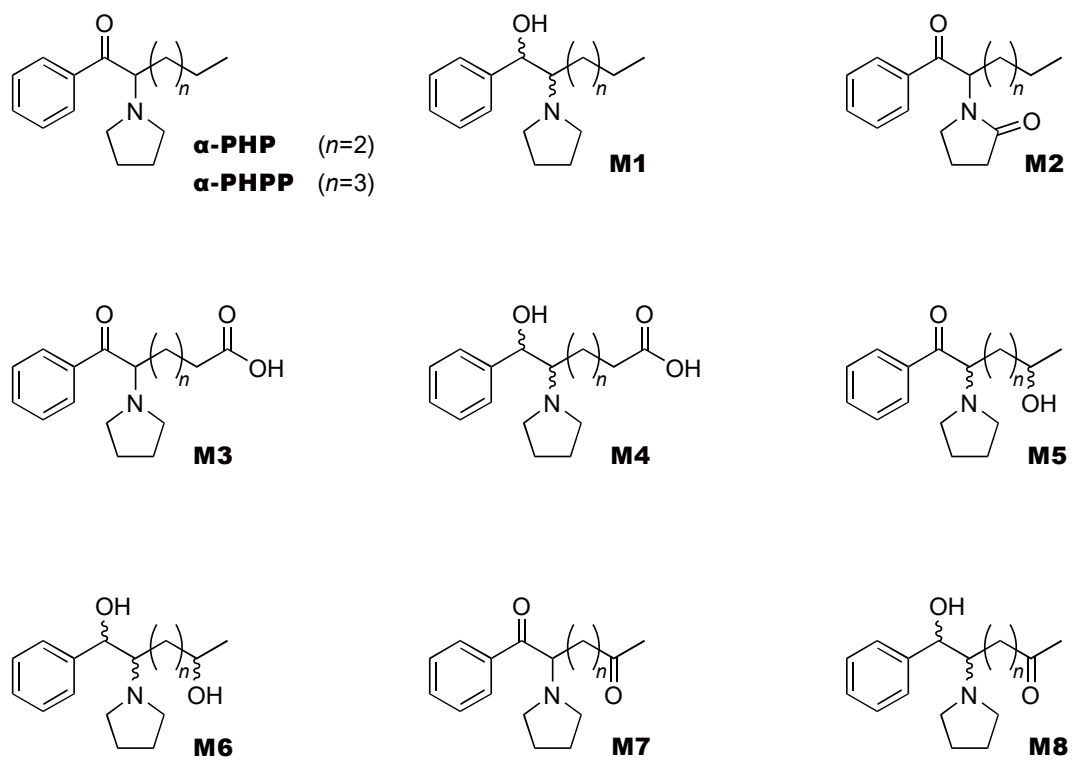


Figure 3.6. Structures of expected urinary metabolites of α -PHP and α -PHPP in humans.

3.2.2.2 装置

3.2.2.2-1 LC-MS/MS

定量分析に用いた LC-MS/MS の装置及び条件は 3.1.2.2-2 項と同様である。各化合物の SRM パラメーターは **Table 3.4** に示すとおりである。

代謝物探索及び同定には、島津製作所製高速液体クロマトグラフ Prominence に AB Sciex 製の ESI 部を備えた四重極-飛行時間 (Q-TOF) 型ハイブリッド質量分析装置 Triple TOF 5600 を接続し用いた。LC 条件は、カラム : L-column 2 ODS (150 mm × 1.5 mm i.d.、粒子径 5 µm、化学物質評価機構製)、移動相 : (A) 10 mmol/L の酢酸アンモニウム緩衝液を含む 水-メタノール(95:5, v/v)及び(B) 10 mmol/L の酢酸アンモニウム緩衝液を含む水-メタノール(5:95, v/v)によるリニアグラジエント (B% = 0-100 (0-20 min), 100 (20-25 min))、移動相流量 : 0.1 mL/min、カラム温度 : 40 °C とした。MS 条件は、イオン化法 : ESI、極性 : ポジティブ、ネブライザーガス : 窒素、コリジョンガス : 窒素、測定モード : プロトン付加分子をプリカーサイオンとした高分解能プロダクトイオンスキャンモード、DP : 30 V、CE : 25 eV とした。

3.2.2.2-2 NMR

NMR の条件は 3.1.2.2-3 項と同様である。

3.2.2.3 合成

3.1.2.3-1 1-フェニル-2-(ピロリジン-1-イル)ヘキサン-1-オール (α -PHP-M1)

3.1.2.3 項で合成した α -PHP をエタノール溶液とし、水素化ホウ素ナトリウムを加えて 60 °C で 1 h 攪拌した。減圧下で反応溶液の溶媒を溜去し、得られた残渣に 10 %塩酸を加えて酸性とし、ジエチルエーテルを加えて振とうし、洗浄した。水相を 10 %炭酸ナトリウム水溶液で塩基性とした後、酢酸エチル

Table 3.4 Target compounds and their optimized SRM parameters for quantification by liquid chromatography-tandem mass spectrometry

Compound	Precursor ion (<i>m/z</i>)	Quantifier ion (<i>m/z</i>)	Dwell Time (ms)	DP (V)	EP (V)	CEP (V)	CE (eV)	CXP (V)
α -PHP (unchanged)	246.2	91.1	30	40	8	16	25	3
M1-D1	248.2	230.2	30	25	8	16	19	3
M1-D2	248.2	91.1	30	25	8	16	30	3
M2	260.2	91.1	30	40	8	15	19	3
α -PHPP (unchanged)	260.2	91.1	30	40	8	16	25	3
M1-D1	262.2	244.2	30	25	8	16	19	3
M1-D2	262.2	91.1	30	25	8	16	30	3
M2	274.2	91.1	30	40	8	15	19	3
Dibenzylamine (IS)	198.1	91.1	30	31	7	12	27	4

DP, declustering potential; EP, entrance potential; CEP, collision cell entrance potential; CE, collision cell energy; CXP, collision cell exit potential; M, metabolite; D, diastereomer; IS, internal standard.

を加えて振とうし、目的物を抽出した。回収した有機相を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで脱水し、ロータリーエバポレーターで溶媒を溜去し、淡黄色オイル状の α -PHP-M1 をジアステレオマー (α -PHP-M1-D1 (*syn* 型)及び α -PHP-M1-D2 (*anti* 型)) 混合物として得た。このジアステレオマー比を NMR により測定した。

^1H NMR のデータを、(多重度、積分値、カップリング定数(Hz)、帰属) の順で示す。 ^1H NMR (400 MHz, 重クロロホルム; ジアステレオマー混合物, α -PHP-M1-D1 (*syn* 型)は§、 α -PHP-M1-D2 (*anti* 型)は*で示す): δ 7.38–7.29 (m, $4H^\S$ and $4H^*$, ArH), 7.29–7.20 (m, $1H^\S$ and $1H^*$, ArH), 5.00 (d, $J = 3.6$ Hz, $1H^*$, $-\text{CH}(\text{OH})-$), 4.18 (d, $J = 9.2$ Hz, $1H^\S$, $-\text{CH}(\text{OH})-$), 2.83–2.63 (m, $5H^\S$ and $4H^*$, $-\text{CH}_2\text{-N-CH}_2-$ 及び $-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}^\S$), 2.54 (dd, $J = 8.8, 3.6$ Hz, $1H^*$, $-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}^\S$), 1.85–1.75 (m, $4H^*$ 及び $4H^\S$, $-\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$), 1.54–1.36 (m, $1H^*$ 及び $1H^\S$, $-\text{C}(\text{OH})\text{CHCH}_2-$), 1.33–0.92 (m, $5H^*$ 及び $5H^\S$, $-\text{C}(\text{OH})\text{CHCH}_2-$ 及び $-(\text{CH}_2)_2\text{CH}_3$), 0.74 (t, $J = 7.2$ Hz, $3H^*$, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$), 0.70 (t, $J = 7.2$ Hz, $3H^\S$, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$). ジアステレオマー比 1.0 (*syn/anti*). HRMS: 計算値 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 248.2009, 測定値 248.2007.

3.2.2.3-2 1-フェニル-2-(ピロリジン-1-イル)ヘプタン-1-オール (α -PHHP-M1)

α -PHHP-M1 は、3.2.2.3-1 項で記載した α -PHP-M1 の合成法にて、原料の α -PHP を α -PHHP に変えて合成した。

^1H NMR (400 MHz, 重クロロホルム; ジアステレオマー混合物, α -PHPP-M1-D1 (*syn* 型)は§、 α -PHPP-M1-D2 (*anti* 型)は*で示す): δ 7.39–7.29 (m, $4H^\S$ 及び $4H^*$, ArH), 7.28–7.20 (m, $1H^\S$ 及び $1H^*$, ArH), 5.00 (d, $J = 4.0$ Hz, $1H^*$, $-\text{CH}(\text{OH})-$), 4.18 (d, $J = 9.2$ Hz, $1H^\S$, $-\text{CH}(\text{OH})-$), 2.82–2.62 (m, $5H^\S$ and $4H^*$, $-\text{CH}_2\text{-N-CH}_2-$ 及び $-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}^\S$), 2.54 (dd, $J = 8.8, 4.0$ Hz, $1H^*$, $-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}^\S$), 1.88–1.75 (m, $4H^*$ 及び $4H^\S$, $-\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$), 1.53–1.36 (m, $1H^\S$ 及び $1H^*$, $-\text{C}(\text{OH})\text{CHCH}_2-$), 1.35–0.90 (m, $7H^\S$ 及び $7H^*$, $-\text{C}(\text{OH})\text{CHCH}_2-$ 及び $-(\text{CH}_2)_2\text{CH}_3$), 0.77 (t, $J = 7.2$ Hz, $3H^*$, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$), 0.74 (t, $J = 7.2$ Hz, $3H^\S$, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$). ジアステレオマー比 1.2 (*syn/anti*). HRMS: 計算値 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 262.2165, 測定値 262.2163.

3.2.2.3-3 α -(2-オキシ-ピロリジノ)ヘキサノフェノン (α -PHP-M2)

2-ブロモ-ヘキサノフェノンの THF 溶液に、2-ピロリジノン を 15 % ナトリウムメトキシドのメタノール溶液にあらかじめ溶解したものを加え、室温で 48 h 攪拌した。反応溶液に 10 % 塩酸を加えて酸性とし、ジエチルエーテルを加えて振とうし、未反応の 2-ピロリジノン を除去した。水相を 10 % 炭酸ナトリウム水溶液で塩基性とし、酢酸エチルを加えて振とうし、目的物を抽出した。回収した有機相を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで脱水し、ロータリーエバポレーターで溶媒を溜去した。残渣を酢酸エチル-*n*-ヘキサン (1:1, v/v) を用いたシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、 α -PBP-M2 を単離した。減圧下で溶媒を除去し、 α -PBP-M2 の淡黄色オイルを得た。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 重メタノール): δ 8.07–8.02 (m, 2H, ArH), 7.60–7.55 (m, 1H, ArH), 7.49–7.44 (m, 2H, ArH), 5.64 (dd, $J = 9.4, 5.8$ Hz, 1H, -COCHCH₂-), 3.36 (ddd, $J = 9.6, 8.4, 6.4$ Hz, 1H, -CH₂NCO-), 3.26 (ddd, $J = 9.6, 8.4, 5.6$ Hz, 1H, -CH₂NCO-), 2.43 (ddd, $J = 17, 9.6, 7.2$ Hz, 1H, -NCOCH₂-), 2.33 (ddd, $J = 17, 9.2, 6.4$ Hz, 1H, -NCOCH₂-), 2.04–1.84 (m, 3H, -NCOCH₂CH₂-及び-COCHCH₂-), 1.80–1.69 (m, 1H, -COCHCH₂-), 1.49–1.15 (m, 4H, -CH₂CH₂CH₃), 0.90 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H, -CH₂CH₃).
HRMS : 計算値 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 260.1645, 測定値 260.1649.

3.2.2.3-4 α -(2-オキシ-ピロリジノ)ヘプタノフェノン (α -PHPP-M2)

α -PHPP-M2 は、3.2.2.3-3 項で記載した α -PHP-M2 の合成法にて、原料の 2-ブロモ-ヘキサノフェノンを 2-ブロモ-ヘプタノフェノンに変えて合成した。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, 重メタノール): δ 8.07–8.02 (m, 2H, ArH), 7.60–7.54 (m, 1H, ArH), 7.50–7.44 (m, 2H, ArH), 5.64 (dd, $J = 9.2, 5.6$ Hz, 1H, -COCHCH₂-), 3.36 (ddd, $J = 9.6, 8.4, 6.0$ Hz, 1H, -CH₂NCO-), 3.26 (ddd, $J = 9.6, 8.4, 5.4$ Hz, 1H, -CH₂NCO-), 2.43 (ddd, $J = 17, 9.4, 7.2$ Hz, 1H, -NCOCH₂-), 2.33 (ddd, $J = 17, 9.4, 6.4$ Hz, 1H, -NCOCH₂-), 2.04–1.84 (m, 3H -NCOCH₂CH₂-及び-COCHCH₂-), 1.79–1.68 (m, 1H, -COCHCH₂-), 1.41–1.21 (m, 6H, -CH₂CH₂CH₂CH₃), 0.88 (t, $J = 6.6$ Hz, 3H, -CH₂CH₃).

HRMS : 計算値 $[M+H]^+$ 274.1802, 測定値 274.1801.

3.2.2.4 尿試料

尿試料は、科学捜査研究所に鑑定嘱託された α -PHP または α -PHPP の使用者尿それぞれ 13 検体であり、 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ で保管した。これらの尿検体は α -PHP または α -PHPP の使用量や、使用から採尿までの期間は不明であった。

バリデーションに用いたブランク尿試料は、Golden West Biologicals より購入した。

3.2.2.5 試料前処理

尿試料 $100\text{ }\mu\text{L}$ に、それぞれ IS として DBA 水溶液 (100 ng/mL) $100\text{ }\mu\text{L}$ を添加した。軽く混和した後、 $600\text{ }\mu\text{L}$ のメタノールを添加し、ボルテックスミキサーを用いて 1 min 攪拌した。これを、 $7000\times g$ で 10 min 遠心分離し、上清をガラスバイアルに回収し、窒素気流下、 $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ で乾固した。残渣を $100\text{ }\mu\text{L}$ の超純水に溶解し、孔径 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ のメンブランフィルターでろ過し、LC-MS/MS 用の試料とした。

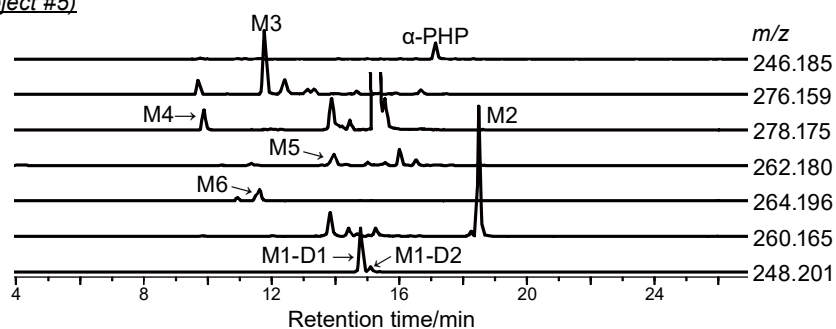
3.2.3 結果と考察

3.2.3.1 α -PHP 及び α -PHPP 使用者尿中の代謝物 M1 及び M2

α -PHP 及び α -PHPP 使用者の尿試料それぞれ 13 検体を、LC-QTOF-MS/MS により分析した。第 3.1 節での結果並びに Shima らによる α -PVP^[49] 及び α -POP^[61] の結果より、フェニル基上に置換基を持たない PPs の第二相代謝の割合は低いことが明らかとなっているため、試料前処理において加水分解処理はしないこととした。Figure 3.7 に α -PHP 及び α -PHPP 使用者の尿試料を分析したクロマトグラム及びマススペクトルを示す。

一般的に、複数の不斉炭素原子を持つ代謝物にはジアステレオマーが存在する。本研究で分析したいずれの検体からも α -PHP または α -PHPP のカルボニル

(A) α -PHP user's urine (subject #5)



(B) α -PHPP user's urine (subject #2)

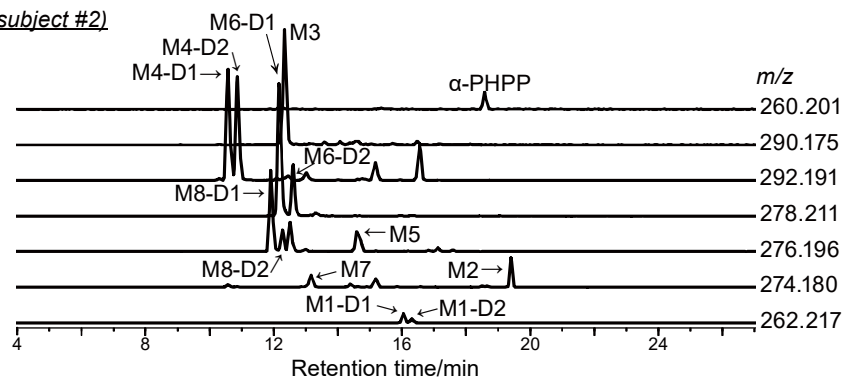


Figure 3.7. Typical extracted ion chromatograms from urine specimens of (A) an α -PHP user (subject 5 in **Table 3.6**) and (B) an α -PHPP user (subject 2 in **Table 3.7**); and (C) product ion mass spectra of α -PHP and α -PHPP, and their metabolites obtained by LC-QTOF-MS/MS. Mass labels other than protonated molecules are indicated as integers.

(C) Product ion spectra

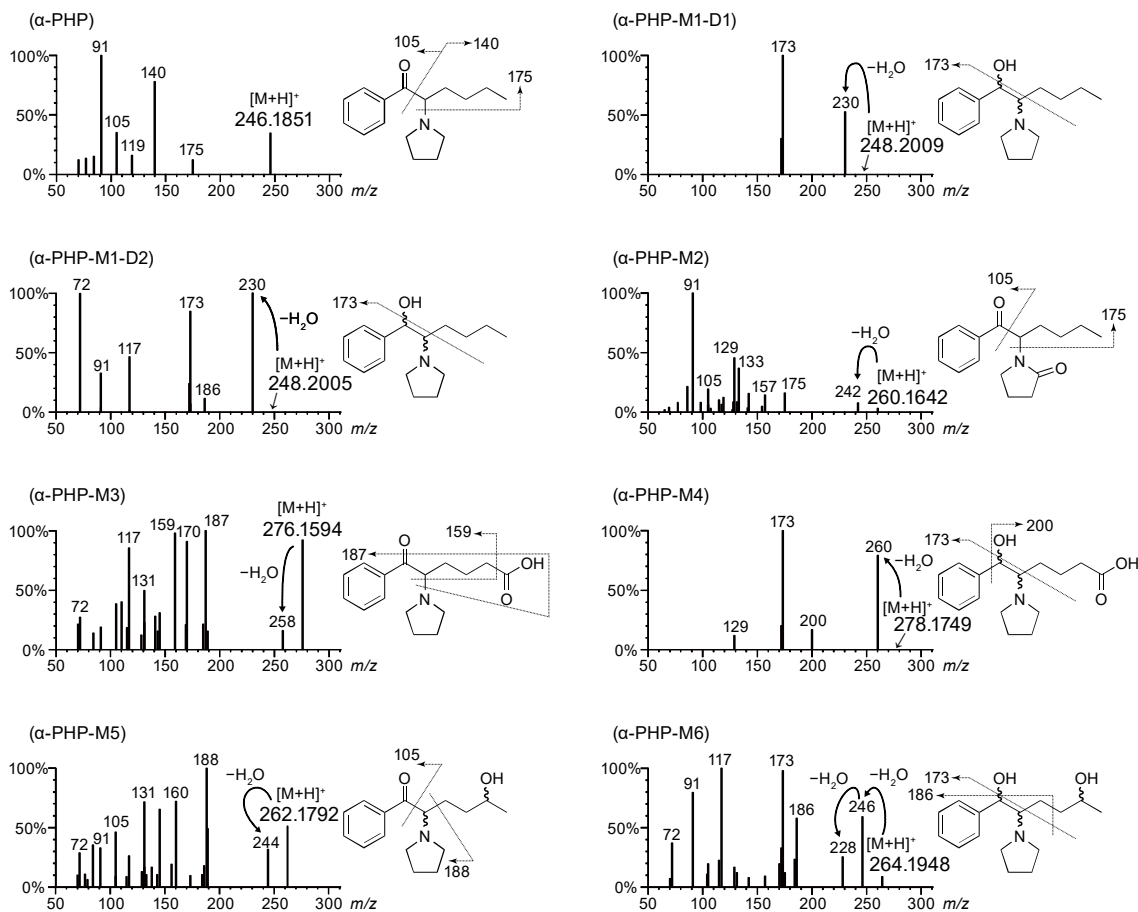


Figure 3.7. (continued)

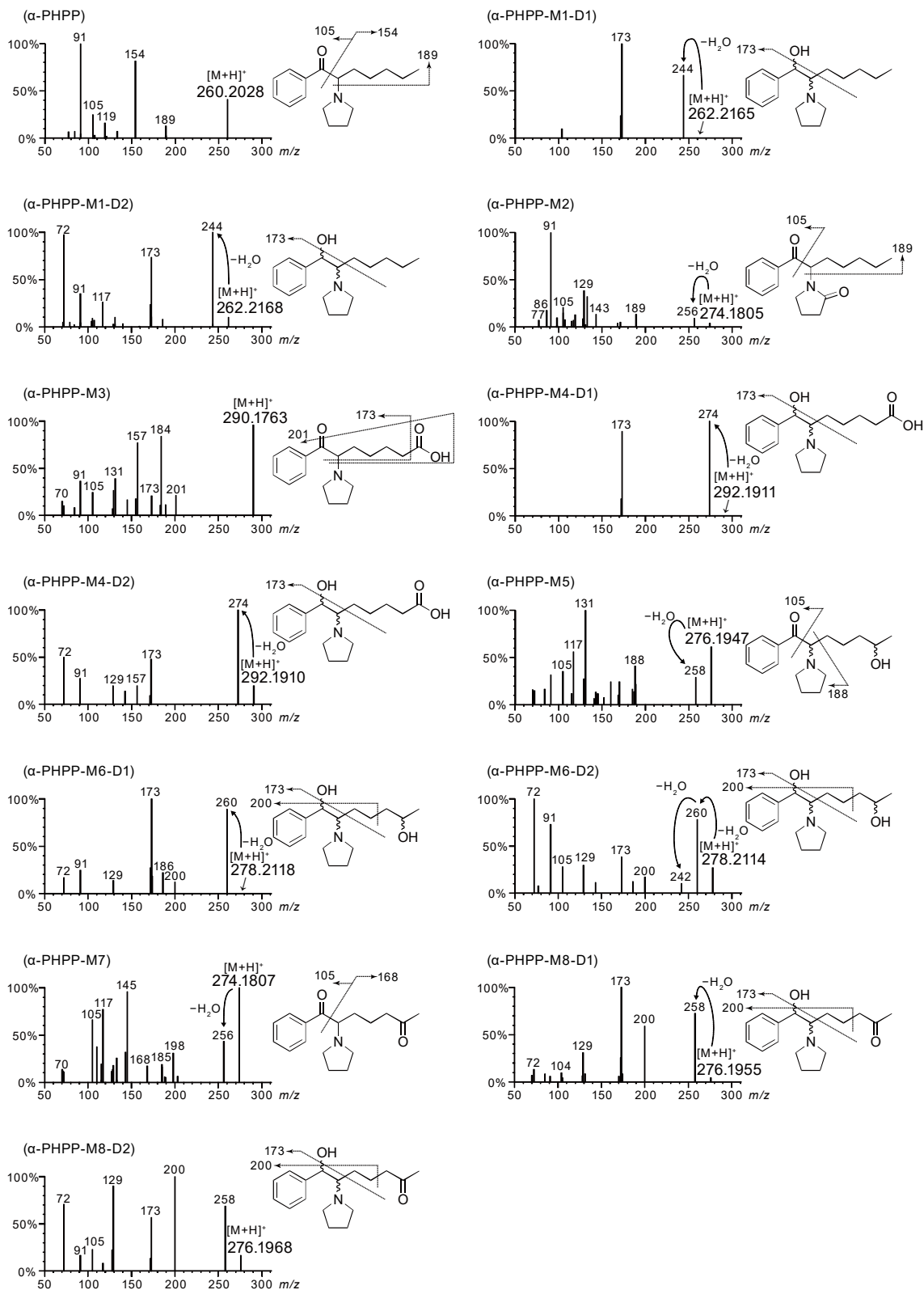


Figure 3.7. (continued)

還元体 (1-OH 体) は、それぞれ 2 種のジアステレオマー (α -PHP-M1-D1 及び α -PHP-M1-D2、並びに α -PHPP-M1-D1 及び α -PHPP-M1-D2) として検出され、合成した標準品によって同定された。また、未変化体及び 2"-oxo 体 (α -PHP-M2 及び α -PHPP-M2) についても全ての試料より検出及び同定された。

これまでの研究により、これらの代謝物は α -PBP、 α -PVP 及び α -POP いずれの使用者の尿からも検出されているものの、検出される強度が PPs の種類により異なっている。このため、尿試料 (α -PHP 使用者 13 検体及び α -PHPP 使用者 13 検体) について、それぞれの未変化体並びに代謝物 M1-D1、M1-D2 及び M2 を定量分析した。定量に先立ち、分析法のバリデーションを行った。結果は **Table 3.5** に示すように、良好な回収率 (87.1–121 %)、検討した 3.0–300 ng/mL の範囲内における良好な直線性、良好な確度及び精度であった。また、定量限界は 0.50–3.0 ng/mL の範囲であった。このバリデーションを行った分析法による α -PHP 及び α -PHPP 使用者尿の定量結果を、それぞれ **Table 3.6** 及び **Table 3.7** に未変化体の濃度順にならべて示す。

1 位カルボニル基の還元により生成した代謝物である M1 では、未変化体に対する代謝物 M1 (ジアステレオマー M1-D1 及び M1-D2 の合計) の濃度比は、 α -PHP が 1.34 ± 1.21 ($n = 13$) で、 α -PHPP が 0.379 ± 0.387 ($n = 13$) であった。一方、ジアステレオマー間では、全ての尿検体において、M1-D1 の方が M1-D2 よりも含有量が多く、ジアステレオマー比 (M1-D1 / (M1-D1 + M1-D2)) は、 α -PHP が 0.933 ± 0.033 ($n = 13$) で、 α -PHPP が 0.659 ± 0.042 ($n = 13$) であった。すなわち、ジアステレオマー比 (M1-D1 / (M1-D1 + M1-D2)) はアルキル鎖の短い α -PHP の方が α -PHPP よりも大きかった。代謝物 M1 について、これらの結果に、第 3.1 節の α -PBP (アルキル鎖：ブチル)、並びに既報の α -PVP (アルキル鎖：ペンチル) ^[49] 及び α -POP (アルキル鎖：オクチル) ^[61] の結果を合わせて比較すると、PPs のアルキル鎖の伸延とともに、未変化体に対する M1 の濃度比、及びジアステレオマー比 (M1-D1 / (M1-D1 + M1-D2)) が減少する傾向が認められる。アルキル鎖の伸延とともに、カルボニル基が還元される代謝の割合が低下していることから、他の代謝経路を経る割合

Table 3.5 Validation data for the LC–MS/MS procedure established in the present study

Compounds	α -PHP	α -PHP-M1-D1	α -PHP-M1-D2	α -PHP-M2	α -PHPP	α -PHPP-M1-D1	α -PHPP-M1-D2	α -PHPP-M2
Recovery (%) ^a								
5 ng/mL	87.1	98.6	97.1	111	93.7	112	113	117
40 ng/mL	91.7	97.1	98.3	104	89.8	105	102	121
200 ng/mL	95.1	101	103	109	92.2	103	103	119
Linearity ^b								
Range (ng/mL)	3.0–300	3.0–300	3.0–300	3.0–300	3.0–300	3.0–300	3.0–300	3.0–300
R^2	0.9988	0.9986	0.9984	0.9967	0.9981	0.9984	0.9941	0.9930
LOD (ng/mL)	0.45	0.15	0.75	0.24	0.30	0.15	0.90	0.45
LLOQ (ng/mL)	1.5	0.50	2.5	0.80	1.0	0.50	3.0	1.5
Addition sample, mean \pm SD (ng/mL)								
5 ng/mL	5.23 \pm 0.60	4.76 \pm 0.22	4.88 \pm 0.36	4.80 \pm 0.31	4.61 \pm 0.26	4.87 \pm 0.29	5.02 \pm 0.41	4.69 \pm 0.30
40 ng/mL	38.5 \pm 3.0	40.7 \pm 1.4	41.3 \pm 4.4	37.3 \pm 2.0	37.5 \pm 3.4	37.2 \pm 1.8	40.2 \pm 4.2	34.3 \pm 1.2
200 ng/mL	192 \pm 14	199 \pm 8	213 \pm 15	194 \pm 8	185 \pm 9	194 \pm 7	208 \pm 13	189 \pm 19
Intraday accuracy (%) ^c								
5 ng/mL	+4.51	–4.81	–2.38	–4.01	–7.88	–2.56	+0.44	–6.14
40 ng/mL	–3.71	+1.72	+3.30	–6.86	–6.19	–7.09	+0.41	–14.2
200 ng/mL	–3.95	–0.60	+6.55	–3.10	–7.74	–3.07	+4.11	–5.56
Intraday precision (%) ^c								
5 ng/mL	11.9	4.33	7.15	6.27	5.23	5.81	8.13	6.00
40 ng/mL	7.45	3.39	11.0	5.07	8.49	4.60	10.4	2.91
200 ng/mL	7.09	4.13	7.35	4.00	4.55	3.34	6.26	9.36
Interday accuracy (%) ^d								
5 ng/mL	+2.84	–3.95	+2.54	+1.59	–2.91	+2.98	+3.28	–2.52
40 ng/mL	–1.29	+3.80	+5.28	–3.81	–5.68	+3.35	+2.04	–8.90
200 ng/mL	–1.33	+3.56	+5.03	+1.97	–5.60	+2.63	+8.32	+4.97
Interday precision (%) ^d								
5 ng/mL	7.69	7.71	11.4	7.52	8.83	8.79	11.1	9.50
40 ng/mL	9.82	8.26	9.42	9.07	6.63	9.40	9.77	14.4
200 ng/mL	7.65	7.39	7.22	8.67	5.83	5.36	6.87	14.1

R^2 , coefficient of determination; LOD, limit of detection; LLOQ, lower limit of quantification (10σ).

^a The recoveries were calculated by comparing peak areas of the analytes extracted from spiked samples with those spiked in urinary extract ($n = 5$).

^b Five different concentrations (3 replicates per level).

^c $n = 5$.

^d $n = 15$ (3 days, $n = 5$).

Table 3.6 Urinary concentrations of α -PHP and its metabolites in α -PHP users' urine specimens

Subject no.	Urinary concentration (ng/mL)			
	α -PHP	M1-D1	M1-D2	M2
1	5940	4300	427	6420
2	2980	2030	99.3	4860
3	697	290	34.9	830
4	519	178	24.4	348
5	471	1120	138	5920
6	298	198	19.0	186
7	218	432	29.6	2550
8	201	250	16.5	703
9	140	102	3.93	731
10	118	544	14.3	532
11	112	114	8.10	397
12	41.6	35.2	n.q. ^a	477
13	31.9	23.2	n.q.	39.4

^a n.q., not quantified.

Table 3.7 Urinary concentrations of α -PHPP and its metabolites in α -PHPP users' urine specimens

Subject no.	Urinary concentration (ng/mL)			
	α -PHPP	M1-D1	M1-D2	M2
1	4730	478	236	6370
2	4120	1550	1130	11600
3	777	666	382	843
4	728	97.3	56.6	412
5	563	23.3	14.6	1560
6	531	165	97.9	1500
7	317	22.1	10.5	787
8	309	191	87.9	1170
9	287	33.5	12.5	1270
10	224	31.4	12.8	362
11	144	45.2	19.3	547
12	129	8.41	4.58	444
13	113	7.05	3.71	137

が増加することが予想される。また、ジアステレオマー比の低下は、カルボニル還元酵素の、*R* 体及び *S* 体間の基質特異性、カルボニル還元反応の特異性、あるいはその両方によるものと考えられる^[49,55,56]。

ピロリジン環 2"位の酸化により生成した代謝物である M2 では、未変化体と代謝物 M2 の濃度比は、 α -PHP が 4.53 ± 4.46 ($n = 13$) で、 α -PHPP が 2.47 ± 1.22 ($n = 13$) であった。代謝物 M2 について得られたこれらの結果に、同様に第 3.1 節の α -PBP、並びに既報の α -PVP^[49]及び α -POP^[61]の結果を合わせて比較すると、 α -PBP 及び α -PVP では、アルキル鎖がブチルからペンチルへ伸延するとともに、未変化体に対する M2 の濃度比は増加する傾向が認められる。これに α -PHP の結果を加えて比較すると、同様にアルキル鎖の伸延とともに未変化体に対する M2 の濃度比は増加する傾向が示される。しかしながら、 α -PHP と α -PHPP 間で比較すると、アルキル鎖長が短い前者の方が未変化体に対する M2 の濃度比が高かった。また、アルキル鎖がさらに長鎖な α -POP では、未変化体に対する M2 の濃度比はごく僅かであった。これらのことから、未変化体に対する M2 の比は、アルキル鎖がヘキシルである α -PHP が最も高く、アルキル鎖がこれより長鎖であっても短鎖であっても減少することが示唆される。この傾向は、Shima ら^[61]により予想されていたが、本研究により初めて実証されたものである。この M2 の傾向は、 α -PBP、 α -PVP 及び α -PHP においてはアルキル鎖が伸延するにつれて、最も主要な代謝経路がカルボニル還元からピロリジン環酸化へと推移し、その後 α -PHPP 及び α -POP へとアルキル鎖が伸延するにつれて、更に最も主要な代謝経路がカルボニル還元・ピロリジン環酸化以外の経路へと推移していることが予想される。

Figure 3.8 に本研究により定量した α -PHP 及び α -PHPP 使用者尿（それぞれ 13 検体）、第 3.1 節で定量した α -PBP 使用者尿（11 検体）、並びに既報の α -PVP 使用者尿（19 検体）^[49]及び α -POP（2 検体）^[61]における、それぞれの検体の未変化体濃度を 1 に規格化し、M1-D1、M1-D2 及び M2 の濃度をそれぞれ示した。前述した、アルキル鎖の伸延により M1 の濃度比及びジアステレオマー比が減少すること、M2 の濃度比が α -PHP が最大となりアルキル鎖長がこれより長鎖

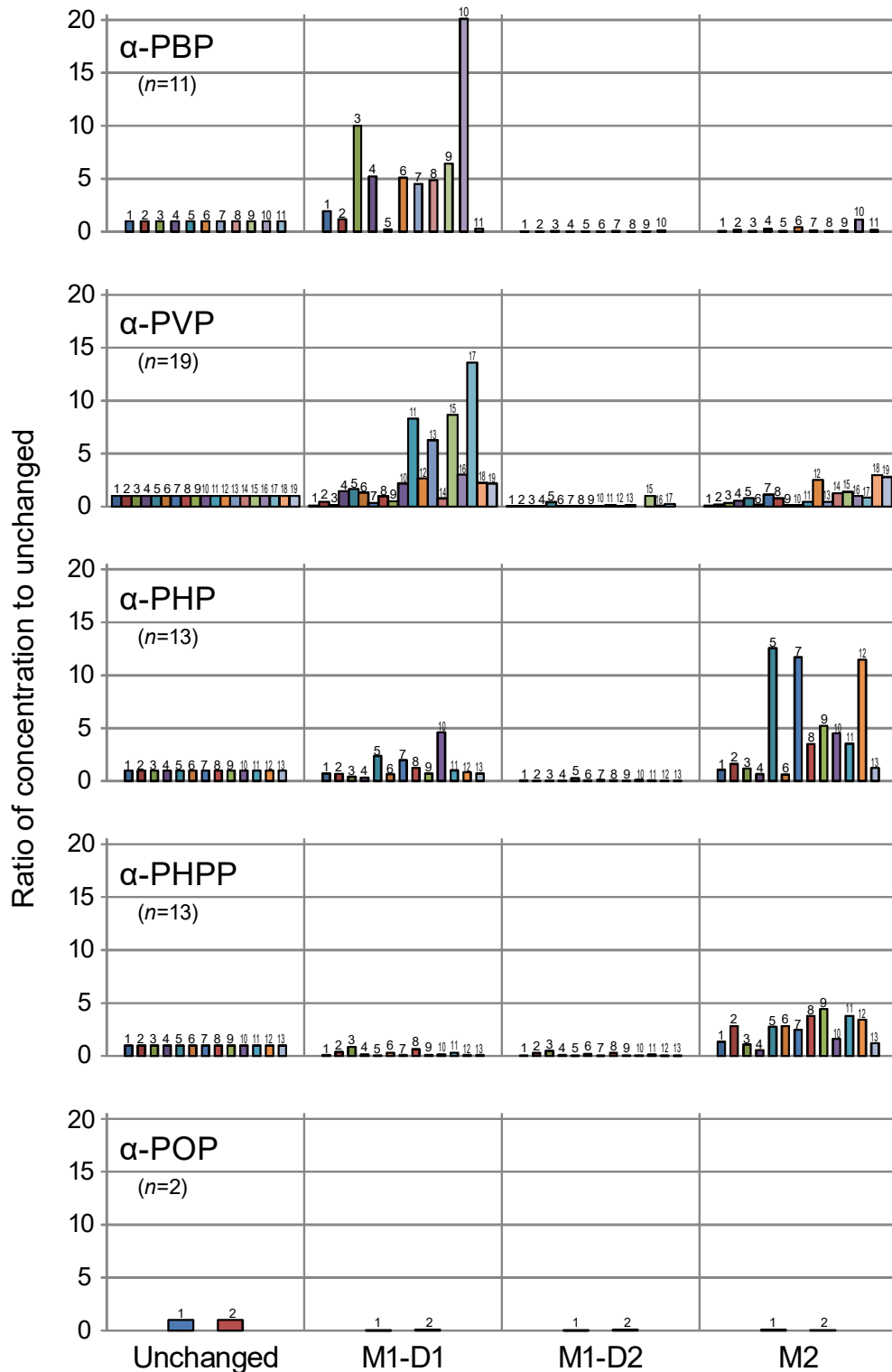


Figure 3.8. Individual concentration ratios of the metabolites M1-D1, M1-D2, and M2 to the corresponding parent drugs detected in α -PHP users' ($n = 13$) and α -PHPP users' ($n = 13$) urine specimens together with those in α -PBP ($n = 11$; in section 2.1), α -PVP ($n = 19$) [49], and α -POP ($n = 2$) [61] users reported previously. In the "unchanged" column, all bars show a ratio of 1. The same numbered bars in a row indicate the identical specimen.

であっても短鎖であっても減少することが明らかである。

3.2.3.2 アルキル側鎖の酸化による代謝物 (M3–M8)

3.2.3.2-1 アルキル側鎖の酸化を経た代謝物の探索

前述の通り、 α -PHP 及び α -PHPP において、アルキル鎖が伸長するにつれて代謝物 M1 及び M2 は減少した。これまでの研究から α -PVP^[49]と α -POP^[61]の代謝を比較すると、アルキル鎖が伸長するとアルキル側鎖が酸化される代謝へと推移していくことが予想される。そこで、無作為に選んだ α -PHP 及び α -PHPP 使用者尿それぞれ 6 検体について、LC-QTOF-MS/MS を用い、アルキル鎖の酸化を経た代謝物を探索した。得られたそれぞれ 1 検体のクロマトグラムを **Figure 3.7 (a)**及び**(b)**に、プロダクトイオンスペクトルを **Figure 3.7 (c)**に示す。

α -PHP 及び α -PHPP の摂取者尿いずれからも、側鎖のアルキル基末端 (ω 位) の炭素原子が酸化され ω 位に OH 基が導入される経路を経由し、さらに側鎖の末端が COOH 基へと変化した代謝物 (M3) が検出された。また、それに加えて M3 の 1 位のカルボニル基が還元され OH 基となった代謝物 (M4) が検出された。ここで、M4 は 2 個の不斉炭素原子をもつため、 α -PHPP-M4 は 2 種のジアステレオマーとして検出された。一方、 α -PHP-M4 については、1 本のピークとして検出された。これは、ジアステレオマー間のクロマトグラフィーによる分離が不十分なためと考えられる。

また、 α -PHP 及び α -PHPP の摂取者尿いずれからも、側鎖のアルキル基末端より 1 つ隣の $\omega-1$ 位が酸化し OH 基となった代謝物 (M5) が検出され、更に M5 の 1 位のカルボニル基が還元され OH 基となった代謝物 (M6) が検出された。それに加えて α -PHPP の摂取者尿から、M5 及び M6 のそれぞれ $\omega-1$ 位の OH 基が更に酸化されカルボニル基となった代謝物 (M7 及び M8) が検出された。ここで、M6 は 3 個の不斉炭素原子をもち、理論上 4 種のジアステレオマーとして検出されることが予想されたが、 α -PHPP-M6 は 2 つのピークとして、 α -PHP-M6 は 1 つのピークとして検出された。これは α -PHP-M4 と同じく、分

離不十分なためと考えられる。

これらの代謝物 M3–M8 は、既報^[61]にて、合成された標準品により同定された α -POP の代謝物によるプロダクトイオンスペクトル及び保持時間を参考に、プロトン付加分子が α -POP よりも CH_2 または C_2H_4 の分だけ小さい精密質量のイオンが確認されていること、プロダクトイオンのうちアルキル鎖を含まないフラグメントイオンについて α -POP と同じイオンが観察されていること、そして、LC クロマトグラムにおける代謝物のピークが α -POP と同じ順で検出されていることを根拠として同定した。

そのほか、 α -PVP について Tyrkkö ら^[62]、 α -PHP について Paul ら^[66]により報告されている、ピロリジン環の酸化を受けた M2 がさらに開環反応による代謝を受けたと推定される代謝物も検出された。しかしながら、本研究の目的は薬物の摂取証明のための代謝の解明であり、この代謝物は元の化合物の母骨格を十分に反映しているとは言いがたいため、摂取証明の目的で用いるには適切ではないと考えられ、詳細な解析や評価等を行わないこととした。

3.2.3.2-2 アルキル側鎖の酸化を経た代謝物の定量的評価

α -PHP 及び α -PHPP 使用者尿から検出された、アルキル側鎖の酸化を経た代謝物 M3–M8 に、M1 及び M2 を加えて、任意の α -PHP 使用者尿 5 検体及び α -PHPP の使用者尿 6 検体について、既報の α -POP 使用者尿 2 検体^[61]の代謝プロファイルと比較した。標準品のない代謝物 (M3–M8) は、シングルスキャンにおけるプロトン付加分子の抽出クロマトグラムによるピーク面積比 (未変化体に対する) で定量的な評価をした (Figure 3.9)。なお、このピーク面積比による評価方法が、標準品で作成した検量線による定量分析結果と遜色ない評価が可能であることが、 α -POP 使用者尿において確認されている^[61]。

α -PHPP 及び α -POP では、 ω 酸化を経由した代謝物のうち M3 及び M4 はいずれの尿試料からも検出された。一方、 α -PHP では、いずれの尿試料からも α -PHP-M3 及び α -PHP-M4-D1 のいずれかあるいは両方が検出された。なお、 α -

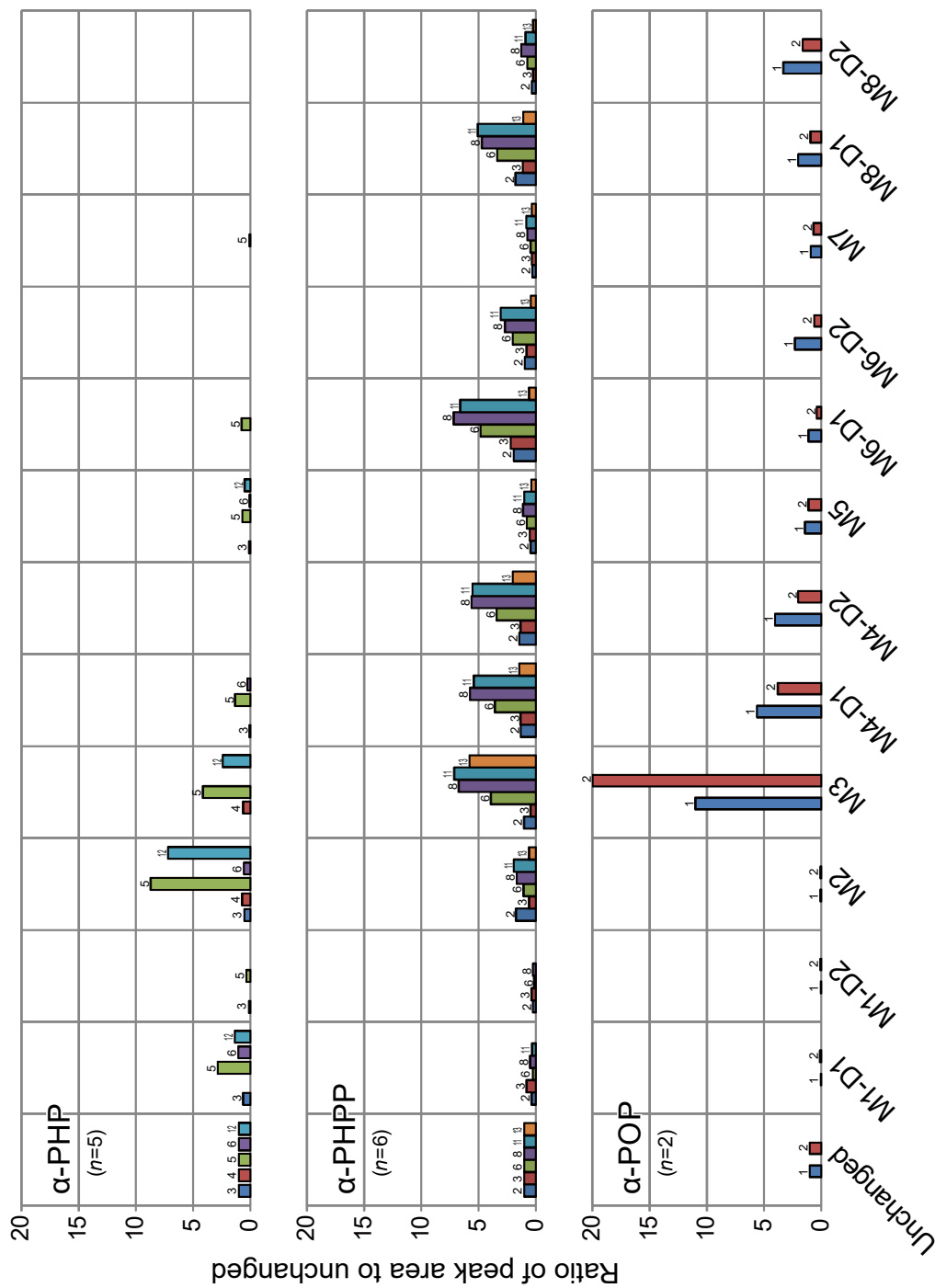


Figure 3.9. Peak area ratios of various metabolites detected to unchanged drugs in urine samples from α -PHP and α -PHPP ($n = 13$, each; in this study), and α -POP ($n = 2$, in previous report [61]) users. In the “unchanged” column, all bars show a ratio of 1. The same numbered bars in a row indicate the identical specimen.

PHP-M4 は LC においてジアステレオマー分離が不十分により 1 本のピークとして検出されたため、この面積比は α -PHP-M4-D1 の値とした。

ω -1 酸化を經由した代謝物 (M5–M8、M6 及び M8 はジアステレオマーを含む) は、 α -PHPP 及び α -POP 使用者のいずれの尿試料からも検出された。一方、 α -PHP 使用者尿では、 α -PHP-M5 が 5 検体中 4 検体から検出され、 α -PHP-M6-D1 及び α -PHP-M7 は 1 検体からのみ検出された。

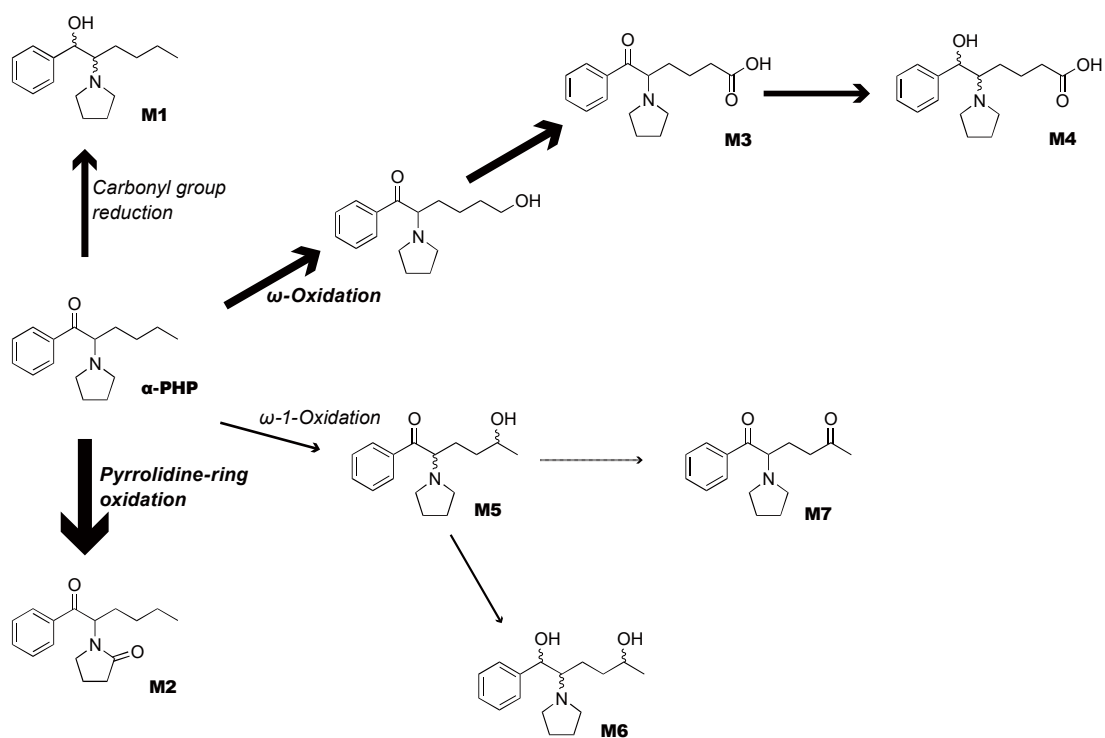
これらの結果から、 α -PHP ではピロリジン環 2"位酸化体及びアルキル側鎖 ω 位酸化体が主要代謝物であり、一方、 α -PHPP ではピロリジン環 2"位酸化体よりアルキル側鎖 ω 位及び ω -1 位酸化体が主要な代謝物であることが明らかとなった。これらの結果に基づいた、 α -PHP 及び α -PHPP の推定代謝経路を **Figure 3.10** に示す。

3.2.3.3 PPs の代謝に対するアルキル鎖長の影響

前述の通り、PPs の代謝はアルキル鎖長に依存し変化することが示唆された。これまでの研究により、アルキル鎖が短いものほど M1 の未変化体比及びジアステレオマー比 (M1-D1/M1) が大きくなることが明らかとなっており、これは今回分析した α -PHP 及び α -PHPP においても成り立つことが示された。すなわち、未変化体に対する M1 の相対濃度及びジアステレオマー比 (M1-D1/M1) は、いずれも α -PBP > α -PVP > α -PHP > α -PHPP > α -POP の順に減少することが明らかとなった。このジアステレオマー比の傾向は、アルキル鎖の伸長によって、カルボニル基が還元される際の光学異性体間の基質特異性、酵素反応の立体選択性、あるいはその両方が低下しているためと考えられる。今回の分析によって得られた α -PHP (アルキル鎖：ヘキシル) 及び α -PHPP (ヘプチル) に、これまでに報告されている α -PBP (ブチル)、 α -PVP (ペンチル) 及び α -POP (オクチル) を加えて、**Figure 3.11** に、アルキル鎖長が伸延と代謝経路の推移の関係性を示す。

Figure 3.11 に示すように、カルボニル還元 (代謝物 M1) は、 α -PBP の代謝において圧倒的に優位な代謝経路であり、アルキル鎖の伸長と共に割合が低下

a α -PHP



b α -PHPP

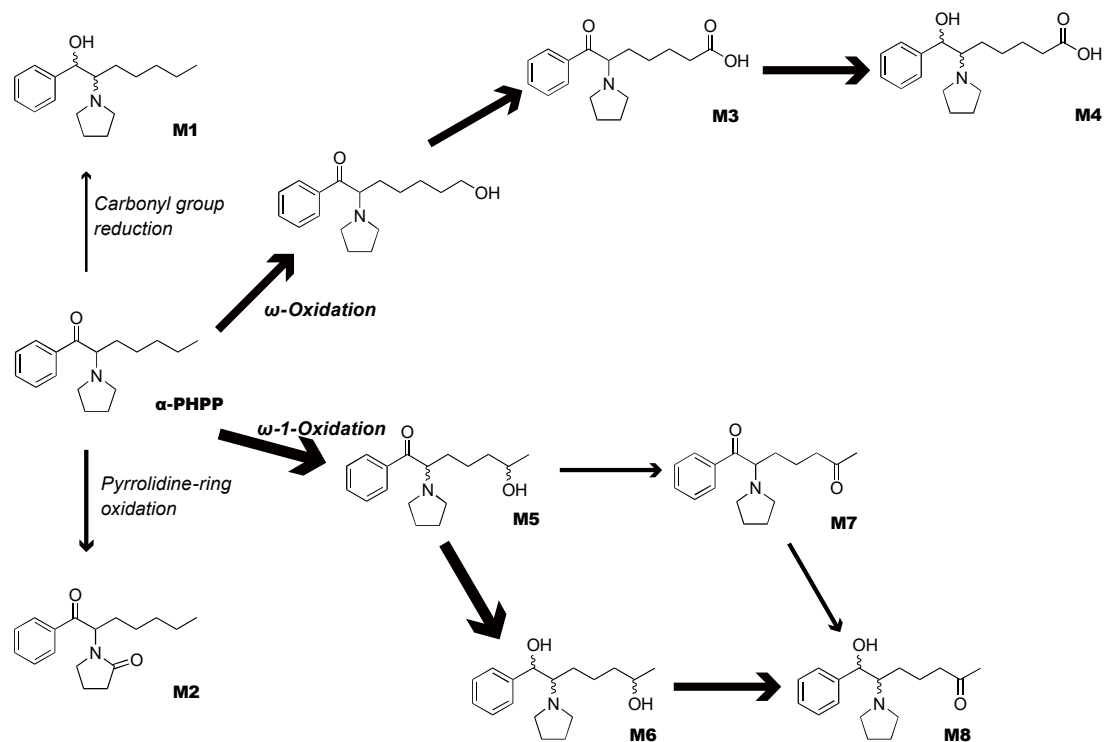


Figure 3.10. Proposed metabolic pathways of (a) α -PHP and (b) α -PHPP in humans.

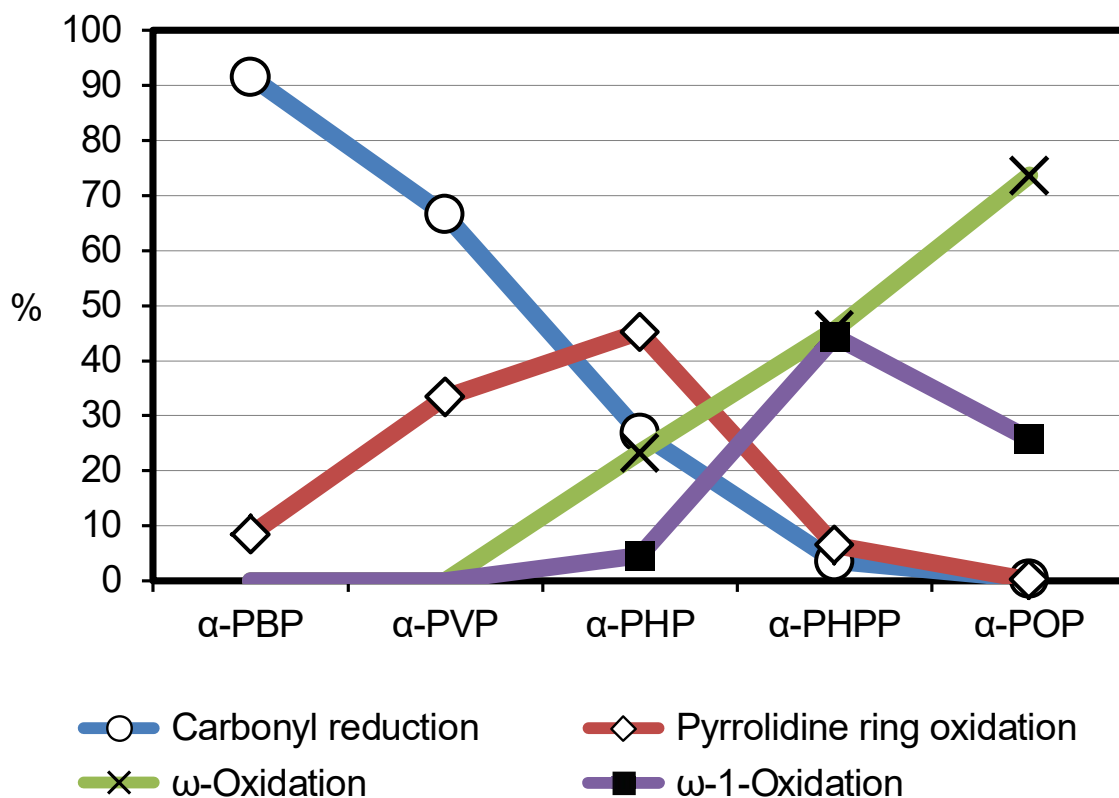


Figure 3.11. Averaged percentage composition of various relevant metabolites of PPs detected in the users' urine specimens. Open circle symbol, carbonyl reduction (M1-D1 + M1-D2); open diamond symbol, pyrrolidine ring oxidation (M2); cross symbol, ω oxidation (M3 + M4-D1 + M4-D2); solid square symbol, ω -1 oxidation (M5 + M6-D1 + M6-D2 + M7 + M8-D1 + M8-D2). Mean values were plotted.

する。また、ピロリジン環の酸化（代謝物 M2）は、 α -PHP（アルキル鎖：ヘキシル）において最も主要な代謝経路でありアルキル鎖の短縮及び伸長により割合が減少していく。そして、より長鎖なアルキルをもつ PPs においては、アルキル鎖 ω 位及び $\omega-1$ 位の酸化を経る代謝経路がアルキル鎖の伸長と共に占める割合が増加していく。 ω 酸化（代謝物 M3 及び M4）は α -PHP 及びそれより長鎖なアルキル鎖を持つ PPs において検出され、 $\omega-1$ 酸化（代謝物 M5–M8）は α -PHPP 及びそれより長鎖なアルキル鎖を持つ PPs において検出される。最も代謝物の種類が多いのは α -POP で、アルキル鎖が酸化された代謝物 9 種（ジアステレオマーを含む）に加えて、わずかに M1 及び M2 を検出することができる。

3.2.4 小括

α -PHP 及び α -PHPP の尿中代謝物を分析した結果、ヒトでの代謝には以下の経路が存在することが示された。(1)カルボニル基がヒドロキシ基に還元される経路、(2)ピロリジン環の 2"位が酸化される経路、(3)アルキル鎖の ω 位、 $\omega-1$ 位、あるいはその両方が酸化される経路、並びに、(4)これらが組み合わされた複合経路。また、PPs のアルキルの鎖長が伸延することによって代謝経路がカルボニル還元からピロリジン環酸化、そして ω 酸化、 $\omega-1$ 酸化へと推移することを明らかにした。

包括規制で厳しく取り締まられているにもかかわらず、CATs の中でも特に PPs は、流通量が多い危険ドラッグである。これは PPs には様々な構造異性体が存在するため、特にアルキル鎖を長いものに替える手口が横行している。本研究で明らかとしたような情報は、CATs だけでなく他の様々な乱用薬物を対象とした代謝の研究はもちろん、法中毒分野及び薬物取り締まりのための分析法の構築に役立つことが期待される。

第 4 章

重水素標識体を用いたカチノン系乱用薬物及び
その代謝物のフラグメンテーションに関する研究

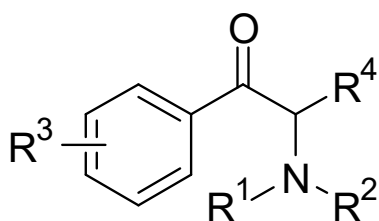
4.1 緒言

CATs は、法規制から逃れるために、アミノ基の種類、ベンゼン環上の置換基、アルキル鎖の長さなど、化学構造の一部を改変したもの（いわゆるデザイナードラッグ、**Figure 4.1**）が流通しており各国でその対策に迫られている。これら CATs は、規制／未規制のものが混在して流通しているため、法科学分野ではその構造識別が必要不可欠である。

これまでに、第 2.1 節で GC-MS、第 2.2 節で GC-MS/MS、並びに第 3.1 節及び第 3.2 節で LC-ESI-MS/MS を用いて、粉末や液体、生体試料を対象に CATs の構造識別法などを報告してきた。なかでも、LC-ESI-MS/MS は、低極性から高極性の幅広い化合物を高感度に分析することができ、代謝物でも誘導体化することなく高感度に検出することが可能であるため、CATs の分析に汎用されている。LC-ESI-MS/MS では、LC によって分離した各薬物を ESI-CID することによって生じるプロダクトイオンを検出し、そのスペクトルに基づいて、薬物の同定や構造識別を行う。

本研究では、ESI-CID によって生じる CATs の脱水イオン（プロダクトイオンの一つ）を対象として、その生成メカニズムを検討した。脱水イオンの生成は、カチノン骨格の部分構造に依存して起こっている可能性があり、構造識別への活用が期待できる。これまでに、第一級及び第二級アミン^[20,30,68-74]構造の CATs では脱水イオンが観察されるのに対し、第三級アミン構造の CATs^[30,49,61,66,67,71-74]では脱水イオンが生じない現象が確認されている。そこで、カチノン（第一級アミン、**Figure 4.1**）及びメトカチノン（第二級アミン、**Figure 4.1**）をモデルドラッグとして選択し、安定同位体標識体（D 置換体）を合成して脱水時に脱離する水素原子の特定を試み、脱水イオンの生成メカニズムを検討した。

一方、前述したように第三級アミン構造の CATs（ジメチルカチノン、PPs など、**Figure 4.1**）では ESI-CID によって脱水イオンは生じないが、それらの主要代謝物であるカルボニル還元体（1-OH 体）及びピロリジン環酸化体（2"-oxo 体）においては、代謝によって前者がカルボニル基からヒドロキシ基へ、



Cathinones	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
Cathinone	H	H	H	H
Methcathinone	CH ₃	H	H	H
Dimethylcathinone	CH ₃	CH ₃	H	H
α-Pyrrolidinophenones (PPs)				
α-PPP	pyrrolidine		H	CH ₃
α-PBP	pyrrolidine		H	C ₂ H ₅
α-PVP	pyrrolidine		H	C ₃ H ₇
α-PHP	pyrrolidine		H	C ₄ H ₉
α-PHPP	pyrrolidine		H	C ₅ H ₁₁

Figure 4.1. Chemical structures of cathinones.

後者がアミノ基からアミド基へと、カチノン骨格が変わることにより (**Figure 4.2**)、脱水イオンが観察されるようになる。本研究では、PPs の代謝物についても安定同位体標識体 (D 及び ^{18}O 置換体) を合成して、脱水時に脱離する水素原子及び酸素原子の特定を試み、脱水イオンの生成メカニズムを考察した。

4.2 実験及び方法

4.2.1 試薬

研究に用いた CATs 及び代謝物 (カチノン、メトカチノン、ジメチルカチノン、 α -PBP、1-OH- α -PBP、2''-oxo- α -PPP、2''-oxo- α -PBP、2''-oxo- α -PHP 及び 2''-oxo- α -PHPP) は 2.1.2.3 項、3.1.2.3 項、3.2.2.3 項にて合成した。また、2''-oxo- α -PVP は Shima らの方法^[49]に従い合成した。また、これらの安定同位体 (D または ^{18}O) 標識体 (**Figure 4.3**) は 4.2.2 項に記載した方法で合成した。

合成や測定溶媒として、シグマアルドリッチジャパン製の NMR 用のメタノール- d_4 、和光純薬製の NMR 用の重水を用いた。その他の試薬は和光純薬製の特級あるいは有機合成用の試薬を用いた。

4.2.2 合成

4.2.2.1 重水素標識化合物の合成

カチノン及びメトカチノンの *N*-重水素標識体 (**Figure 4.3 (A)**及び**(B)**)、並びに 1-OH- α -PBP の *O*-重水素標識体 (**Figure 4.3 (C)**) については、水素-重水素交換法により次のように合成した。2.1.2.3 項及び 3.1.2.3 項にて合成した標準品をメタノール- d_4 -重水 (1:4) に溶解し、アミンの窒素原子に結合する水素原子またはヒドロキシ基の水素原子を重水素原子に置換した。

2''-oxo- α -PPP 及び 2''-oxo- α -PBP のピロリドン環重水素標識体 (**Figure 4.3 (D)**及び**(E)**) については、C/D/N Isotope 製の 2-ピロリドンの重水素標識体 (2-ピロリドン-3,3,4,4,5,5- d_6) を原料として、3.1.2.3 項に準じて合成した。

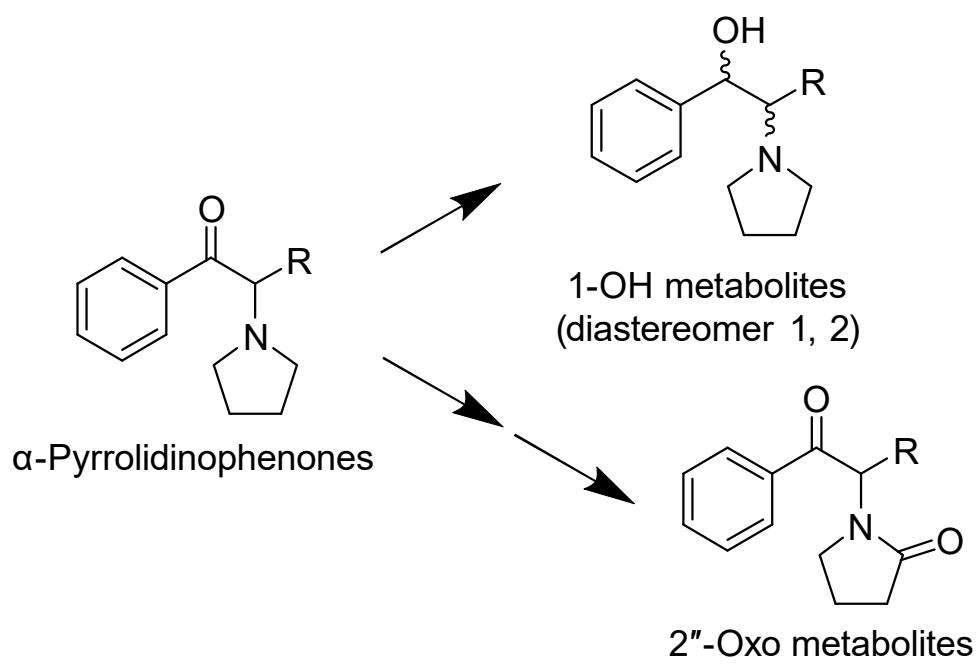
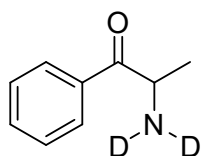
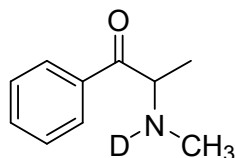


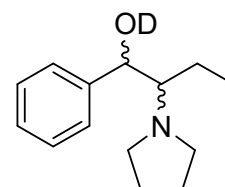
Figure 4.2. Major metabolic pathway of α -pyrrolidinophenones.



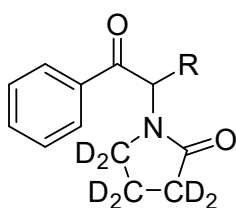
(A) Cathinone-*N,N*-*d*₂



(B) Methcathinone-*N-d*

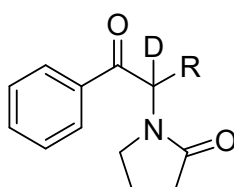


(C) 1-OD- α -PBP



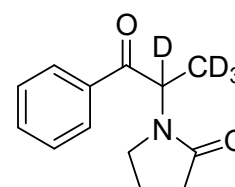
(D) 2''-Oxo- α -PPP-3'',3'',4'',4'',5'',5''-*d*₆ (R: CH₃)

(E) 2''-Oxo- α -PBP-3'',3'',4'',4'',5'',5''-*d*₆ (R: C₂H₅)

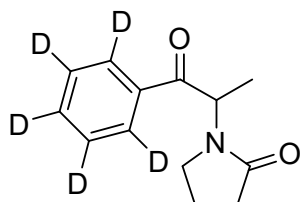


(F) 2''-Oxo- α -PBP-2-*d* (R: C₂H₅)

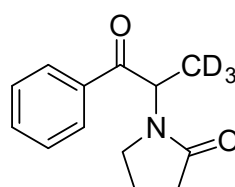
(G) 2''-Oxo- α -PPP-2-*d* (R: CH₃)



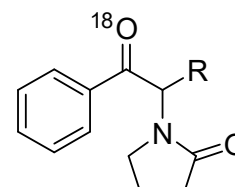
(H) 2''-Oxo- α -PPP-2,3,3,3-*d*₄



(I) 2''-Oxo- α -PPP-2',3',4',5',6'-*d*₅



(J) 2''-Oxo- α -PPP-3,3,3-*d*₃



(K) 2''-Oxo- α -PPP-1-¹⁸O (R: CH₃)

(L) 2''-Oxo- α -PBP-1-¹⁸O (R: C₂H₅)

Figure 4.3. Stable isotope (D or ¹⁸O)-labeled compounds synthesized in this study.

2''-oxo- α -PBP のアルキル鎖 2 位重水素標識体 (**Figure 4.3 (F)**) については、既報^[75]を参考にブチロフェノンを経たメタノール- d_4 -重水溶媒に溶解し、無水炭酸カリウム存在下、室温で 12 h 攪拌して得たブチロフェノン-2,2- d_2 を中間体として、3.1.2.3 項に準じて合成した (**Figure 4.4 (A)**)。

2''-oxo- α -PPP のアルキル鎖重水素標識体 2 種 (**Figure 4.3 (G)**及び**(H)**) 並びにフェニル基重水素標識体 (**Figure 4.3 (I)**) については、C/D/N Isotope 製のプロピオフェノンの重水素標識体 (プロピオフェノン-2,2- d_2 、プロピオフェノン-2,2,3,3,3- d_5 、プロピオフェノン-2',3',4',5',6'- d_5) を原料として、それぞれ 3.1.2.3 項に準じて合成した。

2''-oxo- α -PPP のアルキル鎖重水素標識体 (**Figure 4.3 (J)**) については、購入したプロピオフェノン-2,2,3,3,3- d_5 をメタノール-水溶媒に溶解し、無水炭酸カリウム存在下、室温で 12 h 攪拌して得たブチロフェノン-3,3,3- d_3 を中間体として、3.1.2.3 項に準じて合成した (**Figure 4.4 (B)**)。

これらピロリドン環、アルキル鎖及びフェニル基重水素標識体は GC-MS 及び NMR により標識位置及び重水素標識体の純度を確認した。

4.2.2.2 ^{18}O 標識化合物の合成

2''-oxo- α -PPP 及び 2''-oxo- α -PBP の 1 位カルボニル基 ^{18}O 標識体 (**Figure 4.3 (K)**及び**(L)**) については既報^[76]を参考に、4.2.1 項で合成した 2''-oxo- α -PPP 及び 3.1.2.3 項で合成した 2''-oxo- α -PBP をそれぞれテトラヒドロフラン (超脱水) 溶液とし、水- ^{18}O (大陽日酸製) 及び硫酸を添加し、50 °C で 12 h 攪拌し得た (**Figure 4.4 (C)**)。

これら ^{18}O 標識体の標識位置及び標識体純度は GC-MS により確認した。

4.2.3 分析条件 (LC-MSⁿ)

ESI イオン源を備えたリニアイオントラップ型質量分析装置 LTQ XL (Thermo Fisher Scientific 製) にてプロダクトイオンスキャン分析を行った。

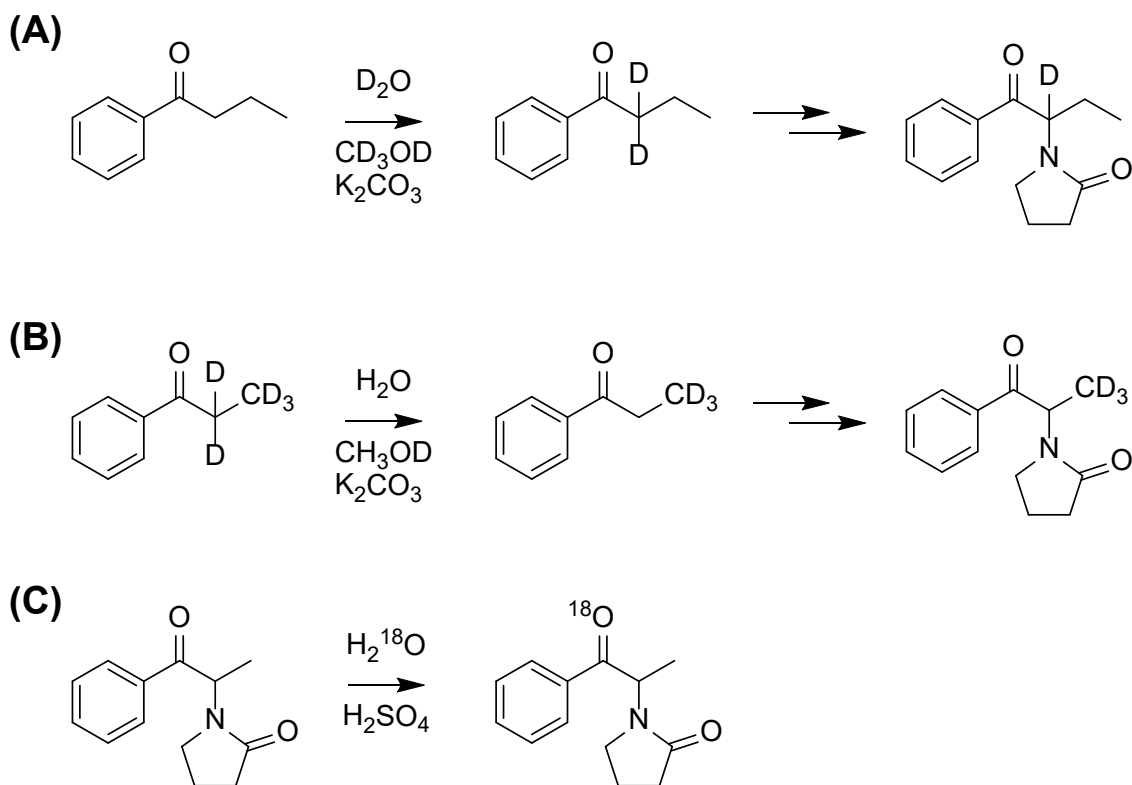


Figure 4.4. Synthetic pathways of stable isotope labeled compounds. (A) 2''-Oxo- α -PBP- d_6 , (B) 2''-oxo- α -PBP- d , and (C) 2''-oxo- α -PBP- ^{18}O .

以下に条件を示す。プリカーサイオン： $[M+H]^+$ または $[M+D]^+$ 、イオン選択幅：1.0 Da、activation Q：0.25、activation time：30 ms、コリジョンガス：ヘリウム、規格化 CE：35 %、wideband activation：無効、インフュージョン流量：10 μ L/min。

試料は、標準品を 10 μ g/mL の濃度となるようにメタノール-水（もしくはメタノール- d_4 -重水、1:4）に溶解し測定に供した。

4.3 結果と考察

4.3.1 第一級・第二級アミン構造を有するカチノン系薬物からの脱水イオンの生成

本研究では、ESI によってプロトンが付加された薬物（プロトン付加分子、 $[M+H]^+$ ）からプロダクトイオンとして生じる脱水イオン（ $[M+H-H_2O]^+$ ）を対象として、その生成メカニズムを検討した。Figure 4.5 の(A)–(C)に示すように、第三級アミン構造を有するジメチルカチノンについてはプロダクトイオンとして脱水イオンが観察されないのに対し、第一級及び第二級アミン構造を有するカチノン及びメトカチノンでは、それぞれ脱水イオン（ m/z 132 及び m/z 146）がベースピークとして観察される。第一級及び第二級アミンでのみ脱水イオンが生じることを考慮すると、脱水時に脱離する水素原子は、第三級アミン構造には存在しない、窒素原子に結合している水素原子が関与することが推定される。そこで、合成した *N*-重水素標識体（Figure 4.3 (A)及び(B)）を、メタノール- d_4 -重水溶媒に溶解し分析した。その結果、Figure 4.5 (D)及び(E)に示すように、いずれも $[M+D-D_2O]^+$ に相当するプロダクトイオン（ m/z 133 及び m/z 143）がベースピークとして観察され、 $[M+D-HDO]^+$ 及び $[M+D-H_2O]^+$ に相当するイオンは観察されなかった。従って、カチノン及びメトカチノンの脱水時には、ESI 時に付加した水素原子（プロトン由来）と共に、窒素原子に結合している水素原子が脱離することが示された。以上の結果から、第一級及び第二級アミン構造を有する CATs では、Figure 4.6 に示すような反応メカニズムで、カルボニル基の酸素原子及び ESI 時に付加した水素原子（プロトン由来）と共に、アミンの

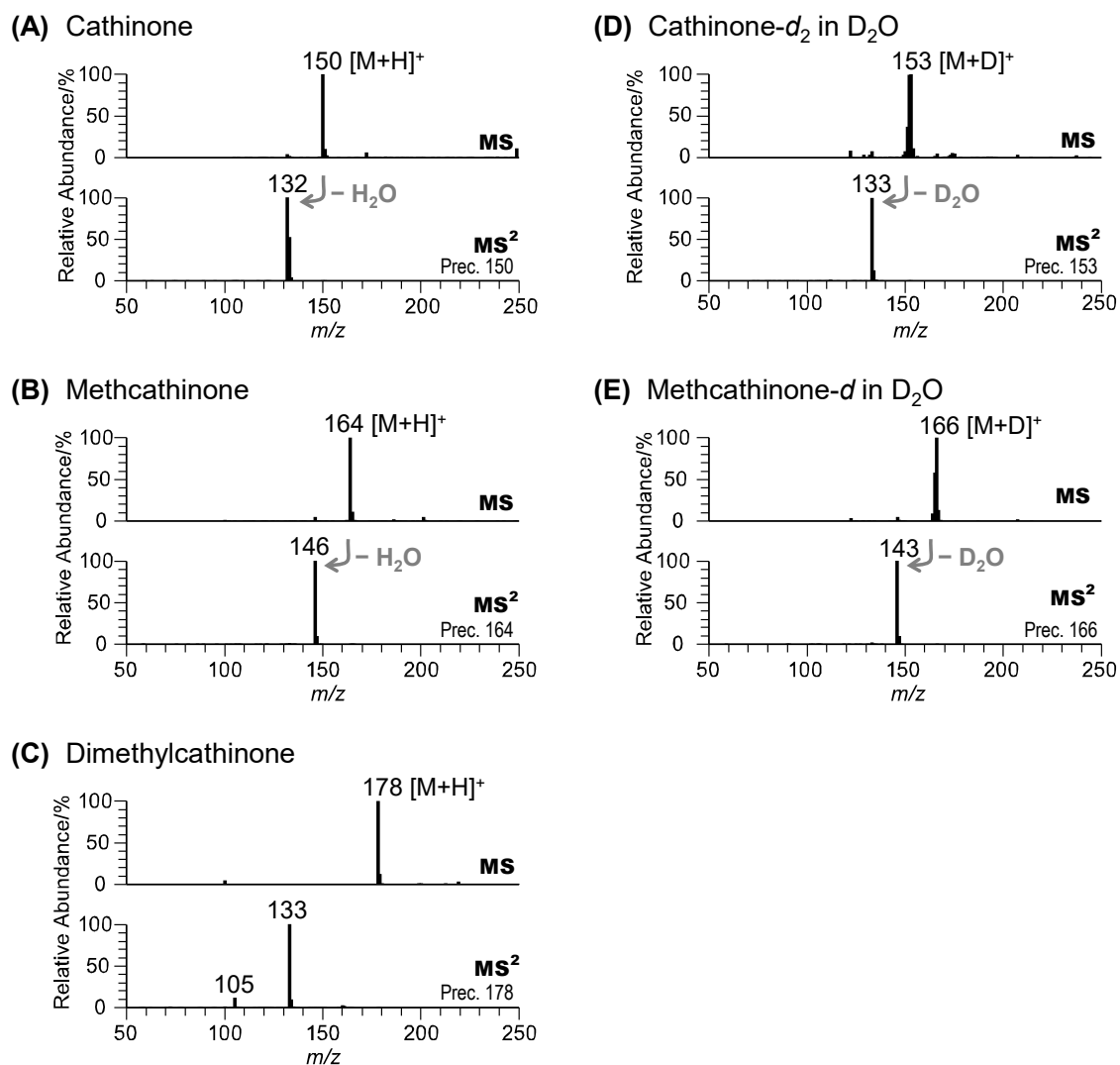


Figure 4.5. ESI-MS and ESI-CID-MS² spectra of (A) cathinone in water-methanol (4:1), (B) methcathinone in water-methanol (4:1), (C) dimethylcathinone in water-methanol (4:1), (D) cathinone-*d*₂ in deuterium oxide-methanol-*d*₄ (4:1), and (E) methcathinone-*d* in deuterium oxide-methanol-*d*₄ (4:1). Each protonated or deuterated molecule was selected as a precursor ion.

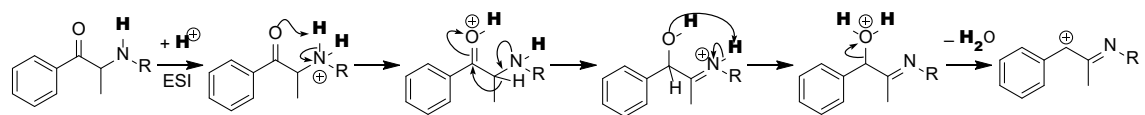


Figure 4.6. Proposed mechanism for generation of the dehydrated ion during ESI-CID for CATs with primary and secondary amines.

窒素原子に結合する水素原子が水分子として脱離することが分かった。この知見は、第三級アミン構造を有する CATs で脱水が起こらないことを支持すると共に、脱水イオンがアミン構造の識別に活用できることを示している。

4.3.2 PPs（第三級アミン構造）の主要代謝物からの脱水イオンの生成

PPs は第三級アミン構造のため、前述のとおり、PPs のプロダクトイオンスペクトルには脱水イオンは観察されないことが知られており^[49,55,77]、第 2 章での測定結果においても脱水イオンは観察されなかった (**Figure 3.2B(b)**及び **Figure 3.7(C)**)。しかしながら、それらの主要代謝物である 1-OH 体及び 2"-oxo 体 (**Figure 4.2**) では、脱水イオンが観察された^[49,55,77] (**Figure 3.2B(a)**、**(a')**及び**(c)**、並びに **Figure 3.7(C)**)。これは代謝によってカチノン骨格そのものが変化したためと予想される。本項では、PPs に属する α -PBP (**Figure 4.1**) の代謝物 (1-OH- α -PBP 及び 2"-oxo- α -PBP) を対象として、その脱水メカニズムについて検討した。また、様々なアルキル基の PPs の存在が知られているため、アルキル基の鎖長の違いによって脱水イオンの生成メカニズムが変化するか合わせて検討した。

4.3.2.1 α -PBP の主要代謝物からの脱水イオンの生成

4.3.2.1-1 1-OH- α -PBP の脱水反応

α -PBP のプロダクトイオンスペクトルでは、**Figure 4.7 (A)**に示すように、脱水イオン (m/z 200) が観察されなかったのに対し、1-OH- α -PBP (ジアステレオマー 1、2) では、**Figure 4.7 (B)**及び**(C)**に示すように、いずれも脱水イオン (m/z 202) がベースピークとして観察された。そこで、1-OH- α -PBP の脱水時に脱離する水素原子を特定するために、ヒドロキシ基 *O*-重水素標識体である 1-OD- α -PBP (**Figure 4.3 (C)**) を、メタノール- d_4 -重水溶媒に溶解して分析した。その結果、**Figure 4.7 (D)**及び**(E)**に示すように、いずれも $[M+D-D_2O]^+$ に相当するプロダクトイオン (m/z 202) がベースピークとして観察され、 $[M+D-HDO]^+$ 及び $[M+D-H_2O]^+$ に相当するイオンは観察されなかった。従っ

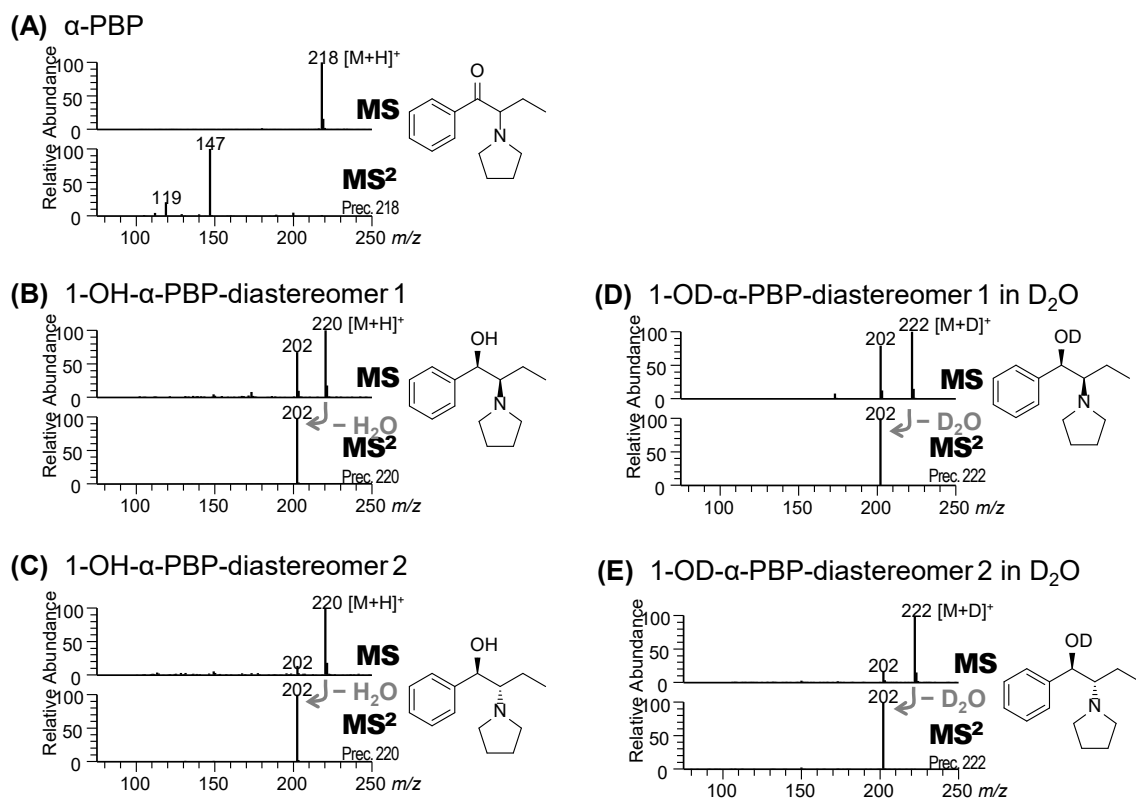


Figure 4.7. ESI-MS and ESI-CID-MS² spectra of (A) α -PBP in water-methanol (4:1), (B) 1-OH- α -PBP-diastereomer 1 in water-methanol (4:1), (C) 1-OH- α -PBP-diastereomer 2 in water-methanol (4:1), (D) 1-OD- α -PBP-diastereomer 1 in deuterium oxide-methanol-*d*₄ (4:1), and (E) 1-OD- α -PBP-diastereomer 2 in deuterium oxide-methanol-*d*₄ (4:1). Each protonated or deuterated molecule was selected as a precursor ion.

て、1-OH- α -PBP の脱水時には、ESI 時に付加した水素原子（プロトン由来）と共に、ヒドロキシ基の水素原子が脱離していることが示され、**Figure 4.8** に示すようなメカニズムで水分子が脱離するものと考えられる。以上の結果、PPs は、カチノン骨格を形成するカルボニル基がヒドロキシ基に代謝されることによって、その部位の水素原子が水分子として脱離するため、アミノ基の水素原子が非存在下でも脱水反応が進行すると考えられる。

同様に、第三級アミン構造を有するジメチルカチノン (**Figure 4.1**) においても、そのカルボニル還元体 (1-OH 体) に相当するメチルエフェドリン (鎮咳薬) が、**Figure 4.9** に示すように ESI-CID によって脱水イオン ($[M+H-H_2O]^+$, m/z 162) が観察されたことから、PPs のカルボニル還元体代謝物でも同様なメカニズムで脱水反応が進行するものと考えられる。

また、ジアステレオマー1 及び2 を比較すると、ジアステレオマー1 ではシングルスキンのマススペクトル上 (**Figure 4.7(B) MS**) においてすでに脱水イオン (m/z 202) が強く観察されたため、ジアステレオマー2 よりも脱水反応が進行しやすいことが推察される。第 2.1 節により、このジアステレオマー1 は *syn* 体であることが示されており、ジアステレオマー2 の *anti* 体と比較して、アミノ基に付加するプロトンとヒドロキシ基が近接する立体配置になるため、水分子としてより脱離しやすいと考えられる。

4.3.2.1-2 2''-oxo- α -PBP の脱水反応

2''-oxo- α -PBP は、 α -PBP のピロリジン環が代謝により酸化され、アミノ基からアミド基へと構造が変化した代謝物であり (**Figure 4.2**)、そのプロダクトイオンスペクトルには、微弱ながら脱水イオン (m/z 214) が観察された (**Figure 4.10 (A)**)。そこで、2''-oxo- α -PBP の脱水時に脱離する酸素原子及び水素原子を特定するために、三種類の安定同位体標識体 (**Figure 4.3 (E), (F) 及び (L)**) を合成して検討した。

脱水時に脱離する酸素原子を特定するために、1 位カルボニル基の ^{18}O 標識体 (**Figure 4.3 (L)**) を分析した。その結果、**Figure 4.10 (B)** に示すように、

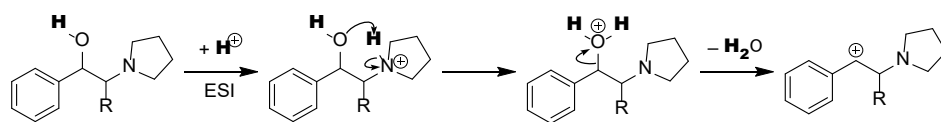


Figure 4.8. Proposed mechanism for generation of the dehydrated ion during ESI-CID for 1-OH- α -PBP (1-OH-PPs).

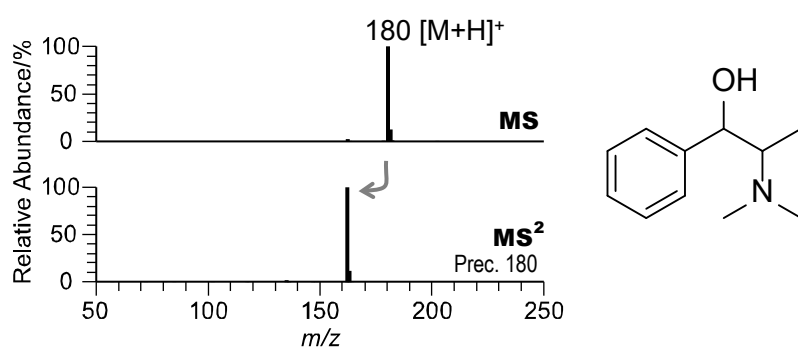


Figure 4.9. ESI-MS and ESI-CID-MS² spectra of methylephedrine.

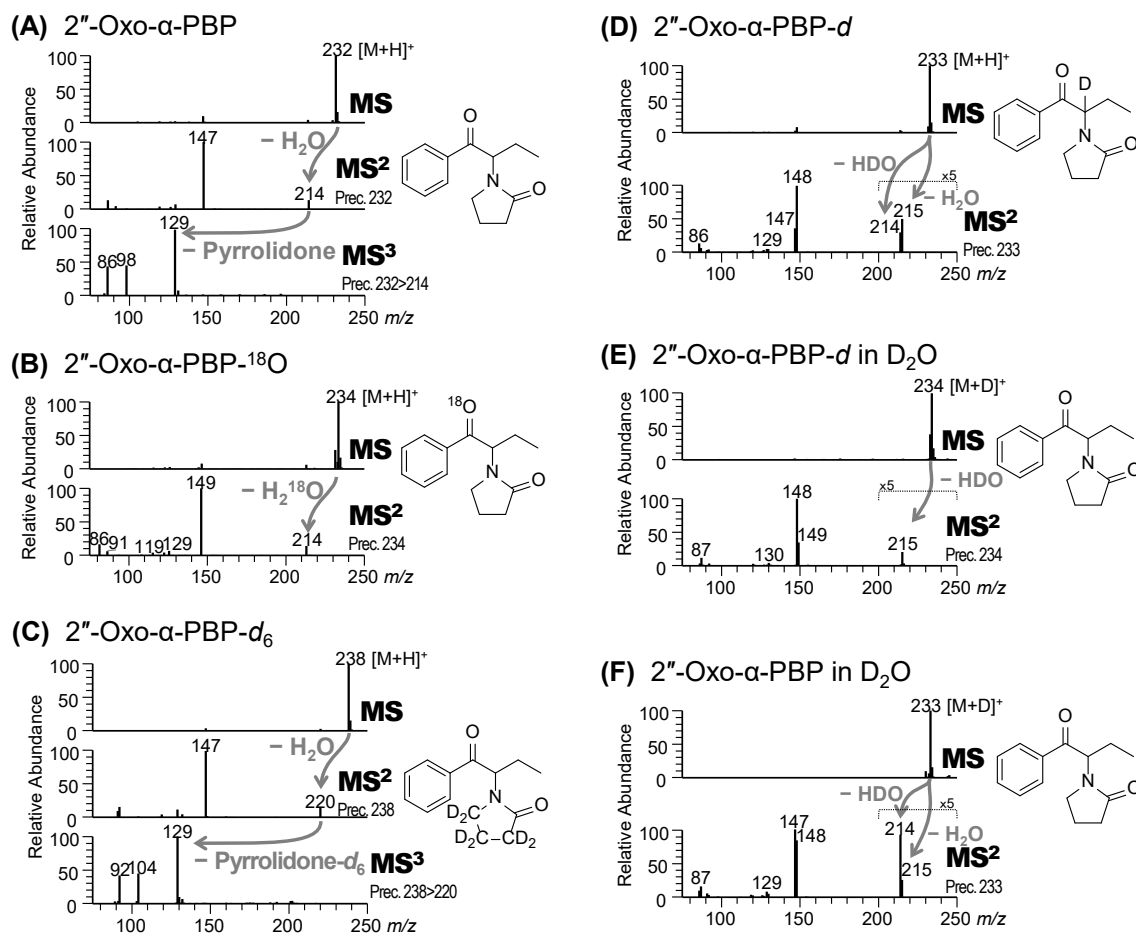


Figure 4.10. ESI-MS, ESI-CID-MS² and -MS³ spectra of (A) 2''-oxo- α -PBP in water-methanol (4:1), (B) 2''-oxo- α -PBP-¹⁸O in water-methanol (4:1), (C) 2''-oxo- α -PBP-*d*₆ in water-methanol (4:1), (D) 2''-oxo- α -PBP-*d* in water-methanol (4:1), (E) 2''-oxo- α -PBP-*d* in deuterium oxide-methanol-*d*₄ (4:1), and (F) 2''-oxo- α -PBP in deuterium oxide-methanol-*d*₄ (4:1). Each protonated molecule was selected as a precursor ion for MS², and the dehydrated ions [M+H-H₂O]⁺ were selected as precursor ions for MS³.

$[M+H-H_2^{18}O]^+$ に相当する脱水イオン (m/z 214) が観察され、 $[M+H-H_2O]^+$ に相当する脱水イオン (m/z 216) は観察されなかった。このため、2''-oxo- α -PBP の脱水反応では 1 位カルボニル基の酸素原子が脱離し、ピロリドン環の酸素原子は脱離しないと考えられる。

次に、ピロリドン環水素原子の脱水反応への関与の有無を確認するため、ピロリドン環重水素標識体 (**Figure 4.3 (E)**) を分析した。その結果、**Figure 4.10 (C)**に示すように、重水素原子を含まない $[M+H-H_2O]^+$ に相当する脱水イオン (m/z 220) が観察された。このため、ピロリドン環の水素原子は脱水反応に関与しないと考えられる。なお、上記脱水イオン (m/z 220) をプリカーサイオンとした二次プロダクトイオンスペクトル (**Figure 4.10 (C) MS³**) において、ピロリドン- d_6 が脱離したイオン (m/z 129) が観察されたことから、ピロリドン環は脱水反応に関与していないことが示唆される。

さらに、脱離する水素原子を特定するために、アルキル鎖 2 位重水素標識体 (**Figure 4.3 (F)**) を、メタノール-水溶媒及びメタノール- d_4 -重水溶媒にそれぞれ溶解して分析した。その結果、メタノール-水溶媒では、**Figure 4.10 (D)**に示すように、 $[M+H-HDO]^+$ に相当する脱水イオン (m/z 214) 及び $[M+H-H_2O]^+$ に相当する脱水イオン (m/z 215) が共に観察された。一方、メタノール- d_4 -重水溶媒では、**Figure 4.10 (E)**に示すように、 $[M+D-HDO]^+$ に相当する脱水イオン (m/z 215) に統合されて観察された。このため、アルキル鎖 2 位の水素原子及び ESI 時に付加したプロトンの関与は合計で水素原子 1 つ分であると考えられる。また、ESI 時に付加するプロトンが脱水に関与するか調べるために、2''-oxo- α -PBP を、メタノール- d_4 -重水溶媒に溶解して分析した。その結果、**Figure 4.10 (F)**に示すように、 $[M+H-HDO]^+$ に相当する脱水イオン (m/z 214) 及び $[M+H-H_2O]^+$ に相当する脱水イオン (m/z 215) が観察された。これらの結果から、2''-oxo- α -PBP の脱水反応では、アルキル鎖 2 位の水素原子及び ESI 時に付加した水素原子 (プロトン由来) が合計で水素原子 1 つ分脱離することが示され、ピロリドン環以外のその他の水素原子も関与することが分かった。

以上の結果、2''-oxo- α -PBP の脱水では、1 位カルボニル基の酸素原子と共に、

アルキル鎖 2 位の水素原子及び ESI 時に付加するプロトン由来の水素原子を含む、三か所以上の水素原子が関与して脱離することが示され、アルキル鎖 2 位の水素原子が脱離するメカニズム及び ESI 時に付加するプロトン由来の水素原子が脱離するメカニズムを含む、2 通り以上のメカニズムが存在することが示唆された。

4.3.2.2 PPs のアルキル鎖長が脱水イオンの生成に及ぼす影響

PPs は、**Figure 4.1** に示すように、様々なアルキル鎖長のデザイナードラッグとして流通している。前項で検討した α -PBP (アルキル鎖: n -ブチル基) とアルキル鎖長が異なる 4 種の PPs、 α -PPP (n -プロピル基)、 α -PVP (n -ペンチル基)、 α -PHP (n -ヘキシル基) 及び α -PHPP (n -ヘプチル基) の主要代謝物 (1-OH 体及び 2''-oxo 体) について、その ESI-CID による脱水反応を考察した。

4.3.2.2-1 1-OH 体の脱水反応

これまでの研究 (第 3 章) 及び Shima らの報告^[49,61]より、PPs のカルボニル還元体代謝物である 1-OH 体では、アルキル鎖が異なっても、同様にベースピークとして脱水イオンが観察されるため、1-OH- α -PBP と同様に、ESI 時に付加した水素原子 (プロトン由来) と共に、ヒドロキシ基の水素原子が脱離するメカニズム (**Figure 4.8**) で脱水反応が進行するものと考えられる。

4.3.2.2-2 2''-oxo 体の脱水反応

一方、ピロリジン環酸化体である 2''-oxo 体において、アルキル鎖の鎖長により脱水の挙動がどう変わるか検討した。

4 種の 2''-oxo 体 (2''-oxo- α -PPP、2''-oxo- α -PVP、2''-oxo- α -PHP 及び 2''-oxo- α -PHPP) のプロダクトイオンスペクトルを **Figure 4.11** に示す。アルキル鎖が長鎖な 3 種の 2''-oxo 体 (2''-oxo- α -PVP、2''-oxo- α -PHP 及び 2''-oxo- α -PHPP) では、 α -PBP と同様に、脱水イオン ($[M+H-H_2O]^+$) が弱い強度で観察されたのに対し (**Figure 4.11 (B)–(D)**)、アルキル鎖が短鎖な 2''-oxo- α -PPP では、その脱水イオ

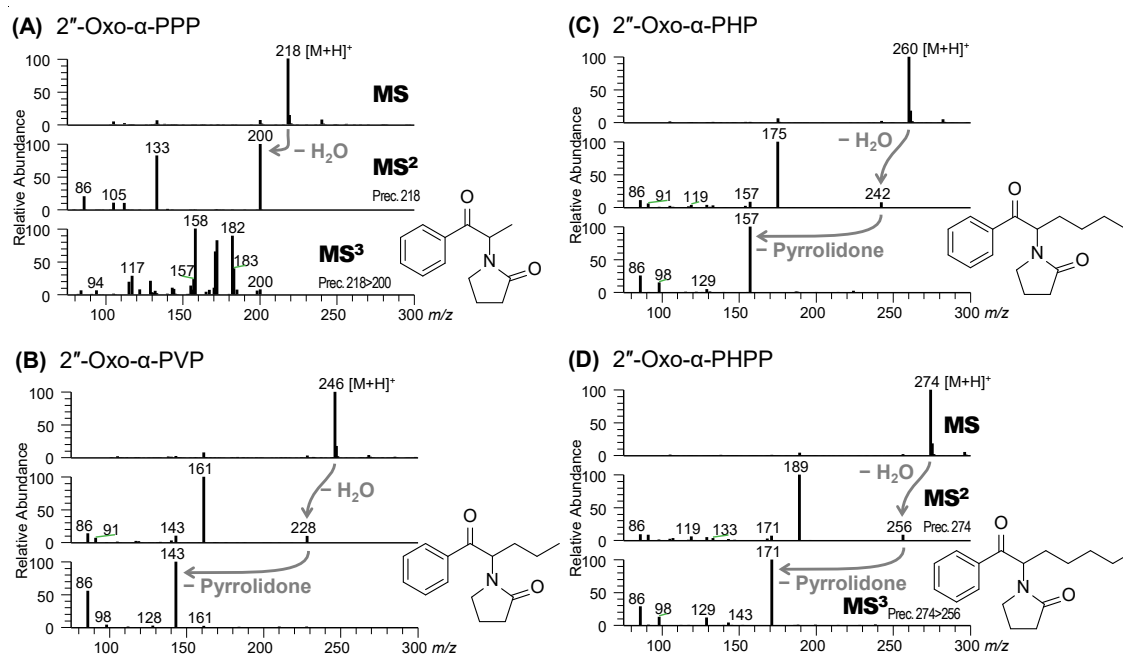


Figure 4.11. ESI-MS, ESI-CID-MS² and -MS³ spectra of (A) 2''-oxo- α -PPP, (B) 2''-oxo- α -PVP, (C) 2''-oxo- α -PHP, and (D) 2''-oxo- α -PHPP in water-methanol (4:1). Each protonated molecule was selected as a precursor ion for MS², and the dehydrated ions [M+H-H₂O]⁺ were selected as precursor ions for MS³.

ン ($[M+H-H_2O]^+$, m/z 200) がベースピークとして観察された (**Figure 4.11 (A)**)。また、それらの脱水イオン ($[M+H-H_2O]^+$) をプリカーサイオンとした二次プロダクトイオンスペクトル (MS^3) においても、2''-oxo- α -PPP のみ、他の PPPs の 2''-oxo 体と明確に異なるスペクトルが得られた (**Figure 4.11 (A)–(D)**の MS^3)。以上の結果から、2''-oxo- α -PPP の脱水イオンは、他の 2''-oxo 体の場合とは異なる構造を取っていることが示唆され、その生成メカニズムも異なるものと推察される。

そこで本研究ではさらに、2''-oxo- α -PPP の安定同位体 (D 及び ^{18}O) 標識体を合成して、脱水イオンの生成メカニズムについて検討した。

4.3.2.2-3 2''-oxo- α -PPP の脱水反応

脱水時に脱離する酸素原子を特定するために、1 位カルボニル基の ^{18}O 標識体 (**Figure 4.3 (K)**) を分析した。その結果、**Figure 4.12 (A)**に示すように、 $[M+H-H_2^{18}O]^+$ に相当する脱水イオン (m/z 200) が観察され、 $[M+H-H_2O]^+$ に相当する脱水イオン (m/z 202) は観察されなかった。このため、2''-oxo- α -PPP の脱水においても 2''-oxo- α -PBP と同様に 1 位カルボニル基の酸素原子が脱離し、ピロリドン環の酸素原子は脱離しないと考えられる。

次に、ピロリドン環の水素原子の脱水への関与を確認するため、ピロリドン環重水素標識体 (**Figure 4.3 (D)**) を分析した。その結果、**Figure 4.12 (B)**に示すように、重水素原子を含まない $[M+H-H_2O]^+$ に相当する脱水イオン (m/z 206) が観察された。このため、2''-oxo- α -PBP と同様にピロリドン環の水素原子は脱水反応に関与しないと考えられる。

さらに、脱離する水素原子を特定するために、アルキル鎖の重水素標識体 (**Figure 4.3 (G), (H)及び(J)**) を、メタノール-水溶媒に溶解して分析した。2''-oxo- α -PPP のアルキル鎖 2 位重水素標識体 (**Figure 4.3 (G)**) では **Figure 4.12 (C)**に示すように、 $[M+H-HDO]^+$ に相当する脱水イオン (m/z 200) 及び $[M+H-H_2O]^+$ に相当する脱水イオン (m/z 201) が観察され、アルキル鎖 2 位及び 3 位重水素標識体 (**Figure 4.3 (H)**) では **Figure 4.12 (D)**に示すように、

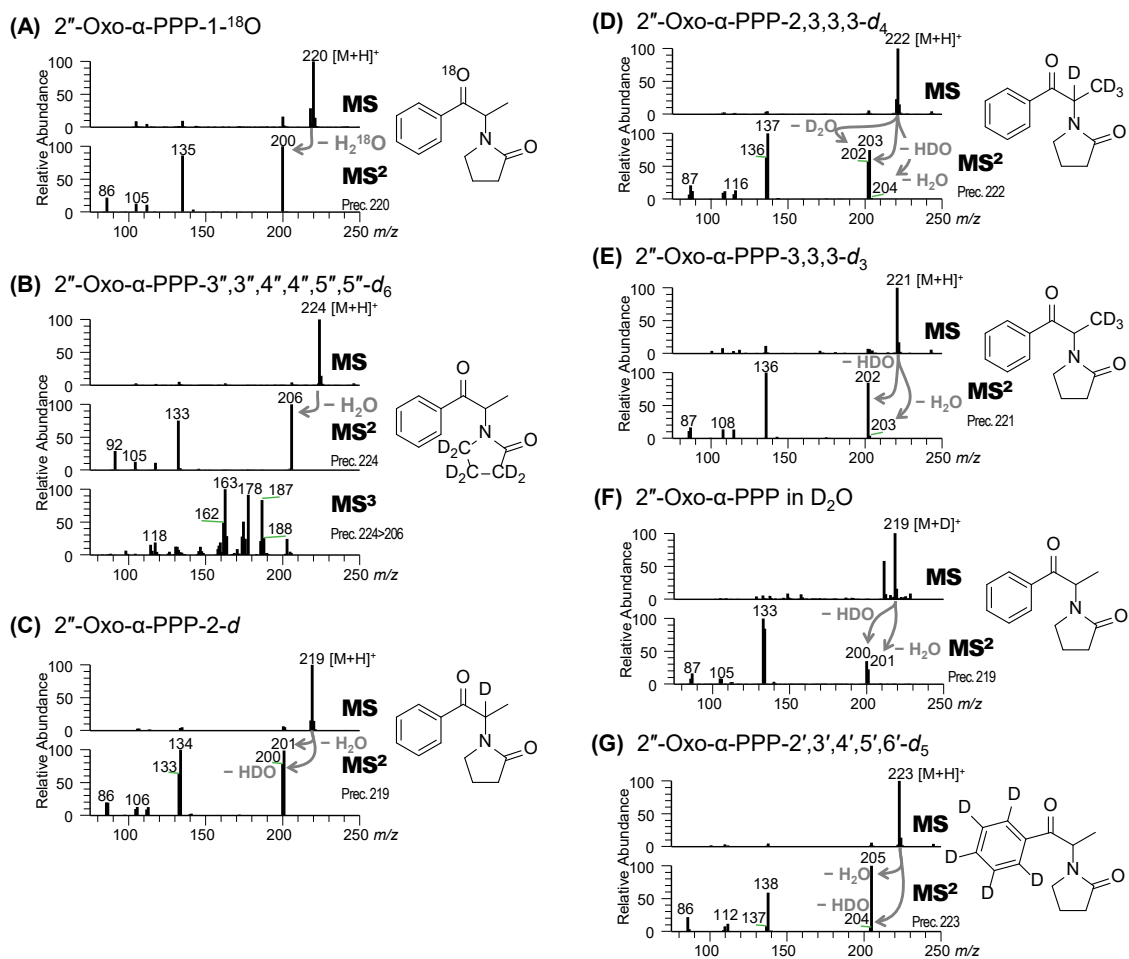


Figure 4.12. ESI-MS, ESI-CID-MS² and -MS³ spectra of (A) 2''-oxo-α-PPP-¹⁸O in water-methanol (4:1), (B) 2''-oxo-α-PPP-*d*₆ in water-methanol (4:1), (C) 2''-oxo-α-PPP-*d* in water-methanol (4:1), (D) 2''-oxo-α-PPP-*d*₄ in water-methanol (4:1), (E) 2''-oxo-α-PPP-*d*₃ in water-methanol (4:1), (F) 2''-oxo-α-PPP in deuterium oxide-methanol-*d*₄ (4:1) and (G) 2''-oxo-α-PPP-*d*₅ in water-methanol (4:1). Each protonated molecule was selected as a precursor ion for MS², and the dehydrated ions [M+H-H₂O]⁺ were selected as precursor ions for MS³.

$[M+H-D_2O]^+$ に相当する脱水イオン (m/z 202)、 $[M+H-HDO]^+$ に相当する脱水イオン (m/z 203) 及び $[M+H-H_2O]^+$ に相当する脱水イオン (m/z 204) が観察され、アルキル鎖 3 位重水素標識体 (**Figure 4.3 (J)**) では **Figure 4.12 (E)** に示すように、 $[M+H-HDO]^+$ に相当する脱水イオン (m/z 202) 及び $[M+H-H_2O]^+$ に相当する脱水イオン (m/z 203) が観察された。また、ESI 時に付加するプロトンが脱水への関与を確認するために、2"-oxo- α -PPP を、メタノール- d_4 -重水溶媒に溶解して分析した。その結果、**Figure 4.12 (F)** に示すように、 $[M+H-HDO]^+$ に相当する脱水イオン (m/z 200) 及び $[M+H-H_2O]^+$ に相当する脱水イオン (m/z 201) が検出された。さらに、フェニル基の水素原子の脱水への関与を調べるため、フェニル基重水素標識体 (**Figure 4.3 (I)**) を分析した。その結果、**Figure 4.12 (G)** に示すように、 $[M+H-H_2O]^+$ に相当する脱水イオン (m/z 205) のみならず、 $[M+H-HDO]^+$ に相当する脱水イオン (m/z 204) も微弱ながら観察された。これらの結果から、2"-oxo- α -PPP の脱水反応では、ESI 時に付加した水素原子 (プロトン由来)、アルキル鎖 2 位及び 3 位の水素原子並びにフェニル基の水素原子が脱離に関与していることが分かった。

以上の結果、2"-oxo- α -PPP の脱水では、1 位カルボニル基の酸素原子と共に、4 か所の水素原子 (アルキル鎖 2 位、アルキル鎖 3 位、フェニル基及び ESI 時に付加するプロトン由来) が関与して水分子が脱離することが示され、これら 4 か所の水素原子を組み合わせた複数のメカニズムで反応が進行することが明らかになった。

4.4 小括

本研究では、ESI-CID で検出される CATs 及びその代謝物の脱水イオンを対象として、それらの生成メカニズムを検討した。その結果、第一級及び第二級アミン構造を有する CATs では、カルボニル基の酸素原子及び ESI 時に付加した水素原子 (プロトン由来) と共に、アミンの窒素原子に結合する水素原子が水分子として脱離していることが分かった。この知見は、第三級アミン構造を有する CATs で脱水が起こらないことが説明でき、脱水イオンの有無がアミン

構造の識別に活用できることを証明するものである。

一方、第三級アミン構造を有する CATs でも、その主要代謝物であるカルボニル還元体 (1-OH 体) 及びピロリジン環酸化体 (2"-oxo 体) においては、カチノン骨格そのものの変化に起因して脱水が起こるため、そのメカニズムについても検討した。1-OH 体は、ヒドロキシ基の水素原子が脱水時に脱離する単純なメカニズムであることが示され、第三級アミン構造でも脱水反応が進行することが明らかになった。それに対し、2"-oxo 体の脱水は、ESI 時に付加した水素原子 (プロトン由来)、アルキル鎖 2 位及び 3 位の水素原子並びにフェニル基の水素原子が関与する複数のメカニズムで反応が進行することが示され、その詳細の解明にはさらなる検討が必要である。

本研究で得られた基礎的な知見は、ESI-CID における反応メカニズムの理解を深めると共に、カチノン系を含む新規に乱用される薬物の構造識別に対して一定の貢献を果たすものと期待される。

第 5 章

結 論

本研究では、危険ドラッグの中でも特に流通量の多い CATs を対象とし、MS を用いた構造識別法の確立を目指した。またこれを応用し、CATs の中でも流通量の多い PPs を対象とし、MS を用いた尿試料中の代謝物分析による、摂取証明を目的とした代謝経路の解明をテーマとした。

法科学分野での危険ドラッグ等の乱用薬物分析には、生体試料など夾雑成分が含まれている試料が多く、また試料量が限られていることから、分離のための GC や LC と接続でき、かつ高感度な MS が汎用されている。本研究では、構造類縁体が多く、規制／未規制が混在して流通している危険ドラッグの CATs について、以下の GC-MS の EI マススペクトルを用いた構造推定法、並びに GC-MS/MS による部分構造の特定可能な包括的分析法を検討し、これらによる CATs の構造推定法を確立した。

一方、生体試料中の代謝物分析は、誘導体化を行わなくても高感度な分析が可能な LC-MS/MS が汎用されている。これまでに、CATs を LC-MS/MS で分析した際に、第一級・第二級アミン構造の場合に ESI-CID で脱水イオンが観察されることが経験的に知られていたが、フラグメンテーションメカニズムは解明されていなかった。LC-MS/MS を用いた CATs の構造識別にこの脱水イオンの活用が期待できることから、安定同位体標識体を用いて脱水イオンの生成メカニズムの解明を試みた。

GC-MS による EI マススペクトルによる構造推定法として、CATs の遊離塩基及び TFA 誘導体について検討した。遊離塩基では、アミンの α 開裂により得られる非常に強い強度のイミニウムカチオンのみならず、そこからオレフィンが脱離したフラグメントイオン、並びにカルボニル基の α 開裂により得られたベンゾイルカチオン及びそれより CO の脱離したフェニルカチオンがそれぞれ観察されることが分かった。また、TFA 誘導体化によって、ベンゾイルカチオン及びフェニルカチオンの強度が増大すること、メチルアミン構造では特異的に m/z 110 のフラグメントイオンが観察されることを見出し、これらのフラグメンテーションメカニズムを解明した。そして、未知試料の分析により、これらの

得られた知見に基づく EI マススペクトルによる CATs の構造推定法が実用可能であることを確認した。本法は、様々な官能基を持つ CATs が新規に流通した際にも、EI マススペクトルを詳細に解析することで構造推定可能な方法であると考えられる。また、今回得られた知見は、CATs 以外のフェネチルアミン類を含め、アミン構造やカルボニル構造を有する他の危険ドラッグの構造推定の際にも一定の貢献が期待される。

また、GC-MS/MS を用いて、スキャン/SRM/プロダクトイオンスキャン同時測定による CATs の包括的な構造推定法について検討した。この構造推定法は、SRM により CATs の特徴であるカルボニル基を有することが判定可能であり、それに加えて、イミニウムカチオン及びベンゾイルカチオンをプリカーサイオンとしたプロダクトイオンスキャンにより構成される。本法は、イミニウムカチオンの構造異性体及び芳香環に結合する置換基の識別はもちろん、置換基の種類によっては芳香環上の置換位置の識別が可能であることが示された。また、包括指定外の構造を持つカチノンについても、対応する SRM トランジション等を測定メソッドに追加することで対応可能であることが明らかとなった。つまり、将来 CATs の包括規制範囲がさらに拡張した際にも、測定メソッドを拡充することで、容易に対応ができることが期待される。

そして、LC-MS/MS を用いて、第一級・第二級アミン構造の CATs では、カルボニル基の酸素原子及び ESI 時に付加したプロトンと共に、アミンの窒素原子に結合する水素原子が水分子として脱離していること及びそのメカニズムを明らかにした。また、PPs の 1-OH 体代謝物では、ESI 時に付加したプロトンと共にヒドロキシ基が脱離し脱水反応が進行すること及びそのメカニズムを明らかにした。一方、PPs の 2"-oxo 体代謝物では、アルキル鎖の水素原子及び ESI 時に付加したプロトンのうち水素原子 2 つ並びに 1 位カルボニル基の酸素原子が脱離し、複数のメカニズムで脱水反応が進行することが明らかとなったが、具体的なメカニズムの解明は今後の課題である。このように PPs の代謝物 1-OH 体及び 2"-oxo 体ではいずれも、窒素原子に水素原子が結合していなくても脱水イオンが生成することが分かった。これらの知見に基づき脱水イオンの有無に

よってアミン部の構造を識別することが可能であり、脱水イオンの有無が CATs の構造識別に活用できることを明らかにした。

このように本研究では、MS を用いた CATs の構造識別法について考えてきた。得られた知見によって、CATs 以外の危険ドラッグやそれ以外の薬物の構造推定においても、アミンやカルボニル等の構造を持つ化合物が多いため、これらの構造識別を行う際にも一定の貢献が期待される。

そして、応用として、MS による PPs の摂取証明への活用を目的とし、 α -PBP、 α -PHP 及び α -PHPP について代謝経路、並びにアルキル鎖が代謝経路に与える影響を解明した。

アルキル鎖がブチル基の α -PBP について使用者尿 11 検体を分析し、使用者の尿からカルボニル還元体 (1-OH 体)、ピロリジン環酸化体 (2''-oxo 体) が検出されることを明らかにした。また、 α -PBP では、1-OH 体が最も主要な代謝物であること及び 1-OH 体のジアステレオマー間の濃度差が非常に大きいことを見出した。また、アルキル鎖がヘキシル基の α -PHP 及びヘプチル基の α -PHPP の使用者尿それぞれ 13 検体を分析し、使用者の尿から 1-OH 体、2''-oxo 体、アルキル鎖の ω 位または ω -1 位が酸化された代謝物、並びにこれらが組み合わされた代謝物が検出されることを明らかにした。また、PPs のアルキルの鎖長が伸延することによる代謝経路への影響を考察したところ、主要な代謝経路がカルボニル還元からピロリジン環酸化、そして ω 酸化、 ω -1 酸化へと推移することを明らかにした。

今回得られた PPs のアルキル鎖が代謝経路に及ぼす影響は、芳香環に置換基が結合した PPs の代謝経路を予測する際に活用可能な知見であり、それに加えてピロリジン環を持たない CATs やその他の薬物の代謝経路を予想する際にも有用な知見となり、アルキル鎖の伸長による薬物の疎水性の差異とその代謝への影響に関する研究として薬物代謝学への貢献も期待される。

本研究の成果は、法科学分野及び法中毒学分野における、構造識別法及び乱

用薬物摂取証明法の確立、並びに薬物事犯の取り締まりに大きく貢献するものと期待される。

謝 辞

本研究結果をまとめるにあたって、終始懇切なる御助言並びにご鞭撻を賜りました、金沢大学大学院自然科学研究科物質化学専攻 分析化学研究室 永谷 広久 教授に深く感謝の意を表します。また、本研究結果をまとめるにあたって、終始懇切なる御助言、ご鞭撻並びに本論文の御校閲を賜りました金沢大学 井村 久則 名誉教授に深く感謝の意を表します。

さらに、本論文の作成にあたり、御助言、御校正賜りました金沢大学大学院自然科学研究科物質化学専攻 生物化学研究室 片岡 邦重 教授、有機化学研究室 宇梶 裕 教授、分析・環境化学研究室 長谷川 浩 教授に深謝致します。

大阪府警察本部刑事部科学捜査研究所に入所以来、終始御指導、御鞭撻を賜りました、片木 宗弘 博士、三木 昭宏 博士、志摩 典明 博士に謹んで感謝の意を表します。また、本研究の遂行にあたり、多大なるご支援、ご協力を頂きました、大阪府警察本部刑事部科学捜査研究所 西岡 裕 副総括研究員、鎌田 徹 博士、鎌田 寛恵 博士、佐々木 啓子 主任研究員、元大阪府警察本部刑事部科学捜査研究所 土橋 均 博士、元科学捜査研究所長 辰野 道昭 博士に深く感謝致します。

また、本研究を円滑に進めるにあたり、ご協力及びご助言を頂きました、掛橋 秀直 研究員、藤井 史保子 研究員、和田 美暁 研究員、浅井 龍太郎 研究員、新田 篤志 研究員、石川 亜香里 研究員に感謝致します。

また、御指導、御鞭撻を賜りました、名古屋大学大学院医学系研究科 法医・生命倫理学 財津 桂 准教授に深く感謝致します。

さらに、有益な御助言を賜りました、愛知教育大学 中田 尚男 名誉教授に感謝致します。

最後に、私の研究や生活を支えてくれた、私の最愛の理解者である妻の里和、息子の朋弥、恭弥に心より感謝します。

松田 駿太郎

参考文献

- [1] J. P. Kelly. Cathinone derivatives: A review of their chemistry, pharmacology and toxicology. *Drug Testing and Analysis*, **3** (2011) 439–453.
- [2] M. Coppola and R. Mondola. Synthetic cathinones: Chemistry, pharmacology and toxicology of a new class of designer drugs of abuse marketed as “bath salts” or “plant food”. *Toxicology Letters*, **211** (2012) 144–149.
- [3] S. D. Brandt, H. R. Sumnall, F. Measham, and J. Cole, Analyses of second-generation ‘legal highs’ in the UK: initial findings. *Drug Testing and Analysis*, **2** (2010) 377–382.
- [4] H. A. Spiller, M. L. Ryan, and R. G. Weston. Clinical experience with and analytical confirmation of “bath salts” and “legal highs” (synthetic cathinones) in the United States. *Clinical Toxicology*, **49** (2011) 499–505.
- [5] 厚生労働省医薬・生活衛生局 監視指導・麻薬対策課，麻薬・覚醒剤行政の概況 2020年1月，2020.
- [6] 「覚醒剤取締法」，昭和 26 年法律第 252 号.
- [7] 「麻薬及び向精神薬取締法」，昭和 28 年法律第 14 号.
- [8] 警察庁，平成 25 年上半期の薬物・銃器情勢（暫定値），available from [http://www.npa.go.jp/soshikihanzai/yakubutujyuki/yakujuuu/yakujuuu1/h25_1_yakujuuu_jousei.pdf], accessed Oct 2, 2013.
- [9] S. Kaneko, Motor vehicle collisions caused by the ‘super-strength’ synthetic cannabinoids, MAM-2201, 5F-PB-22, 5F-AB-PINACA, 5F-AMB and 5F-ADB in Japan experienced from 2012 to 2014, *Forensic Toxicology*, **35** (2017) 244–251.
- [10] 金子周司. 危険ドラッグ吸引と自動車事故—2012 年から 2014 年にかけて国内で起こった 96 の事例—. *日本法科学技術学会誌*, **22** (2017) 49–59.
- [11] H. Kakehashi, N. Shima, A. Ishikawa, A. Nitta, R. Asai, M. Wada, S. Nakano, S.

- Matsuta, K. Sasaki, H. Kamata, T. Kamata, H. Nishioka, A. Miki, and M. Katagi. Effects of lipophilicity and functional groups of synthetic cannabinoids on their blood concentrations and urinary excretion. *Forensic Science International*, **307** (2019) 110106.
- [12] S. Rojek, K. Kula, M. Maciów-Głąb, and M. Kłys. New psychoactive substance α -PVP in a traffic accident case. *Forensic Toxicology*, **34** (2016) 403–410.
- [13] 警視庁, 広報けいしちょう第 18 号 web 版, available from [<http://www.keishicho.metro.tokyo.jp/kouhoushi/no18/koho18.htm>], accessed Oct 2, 2013.
- [14] 厚生労働省, 「脱法ドラッグ」に代わる新呼称名を選定しました, available from [<https://www.mhlw.go.jp/stf/houdou/0000051607.html>], accessed June 20, 2020.
- [15] 扶桑社, 「脱法ハーブ」蔓延の一端に「自販機」の増加, available from [<https://nikkan-spa.jp/211342>], accessed Oct 2, 2013.
- [16] 「薬事法」, 昭和 35 年法律第 145 号. 「薬事法等の一部を改正する法律」(平成 25 年法律第 84 号) により「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」に改題.
- [17] H. Tsutsumi-Kamata, N. Shima, K. Zaitzu, T. Kamata, M. Nishikawa, M. Katagi, A. Miki, H. Tsuchihashi. Simultaneous Analysis of New Designer Drug, Mehtylone, and Its Metabolites in Urine by Gas Chromatography-Mass Spectrometry and Liquid Chromatography-Electrospray Ionization Mass Spectrometry. *日本法科学技術学会誌*, **12** (2007) 97–106.
- [18] K. Zaitzu, M. Katagi, H. Tsutsumi-Kamata, A. Miki, and H. Tsuchihashi. Discrimination and identification of regioisomeric β -keto analogues of 3,4-methylenedioxyamphetamines by gas chromatography-mass spectrometry. *Forensic Toxicology*, **26** (2008) 45–51.
- [19] R.P. Archer. Fluoromethcathinone, a new substance of abuse. *Forensic Science International*, **185** (2009) 10–20.

- [20] N. Shima, M. Katagi, H. Kamata, S. Matsuta, K. Nakanishi, K. Zaitso, T. Kamata, H. Nishioka, A. Miki, M. Tatsuno, T. Sato, H. Tsuchihashi, and K. Suzuki. Urinary excretion and metabolism of the newly encountered designer drug 3,4-dimethylmethcathinone in humans. *Forensic Toxicology*, **31** (2013) 101–112.
- [21] M. H. Baumann, M. A. Ayestas Jr, J. S. Partilla, J. R. Sink, A. T. Shulgin, P. F. Daley, S. D. Brandt, R. B. Rothman, A. E. Ruoho, and N. V. Cozzi. The designer methcathinone analogs, mephedrone and methylene, are substrates for monoamine transporters in brain tissue. *Neuropsychopharmacology*, **37** (2012) 1192–1203.
- [22] M. H. Baumann, J. S. Partilla, K. R. Lehner, E. B. Thorndike, A. F. Hoffman, M. Holy, R. B. Rothman, S. R. Goldberg, C. R. Lupica, H. H. Sitte, S. D. Brandt, S. R. Tella, N. V. Cozzi, and C. W. Schindler. Powerful cocaine-like actions of 3,4-methylenedioxypropylamphetamine (MDPV), a principal constituent of psychoactive ‘bath salts’ products. *Neuropsychopharmacology*, **38** (2013) 552–562.
- [23] A. Kakizaki, S. Tanaka, and S. Numazawa. New recreational drug 1-phenyl-2-(1-pyrrolidinyl)-1-pentanone (α -PVP) activates central nervous system via dopaminergic neuron. *The Journal of Toxicological Sciences*, **39** (2014) 1–6.
- [24] J. A. Marusich, K. R. Antonazzo, J. L. Willey, B. E. Blough, J. S. Partilla, and M. H. Baumann. Pharmacology of novel synthetic stimulants structurally related to the “bath salts” constituent 3,4-methylenedioxypropylamphetamine (MDPV). *Neuropharmacology*, **87** (2014) 206–213.
- [25] 財津桂, 片木宗弘, 中西啓子, 志摩典明, 鎌田寛恵, 鎌田徹, 西岡裕, 三木昭宏, 辰野道昭, 岩村樹憲, 佐藤貴子, 土橋均, 鈴木廣一. 違法ドラッグとして流通している合成カンナビノイド類の分析. *日本法科学技術学会誌*, **16** (2011) 73–90.
- [26] P. Kalix. Cathinone, an alkaloid from Khat leaves with an amphetamine-like releasing effect. *Psychopharmacology*, **74** (1981) 269–270.
- [27] J. M. Prosser and L. S. Nelson. The toxicology of bath salts: A review of

- synthetic cathinones. *Journal of Medical Toxicology*, **8** (2012) 33–42, 2012.
- [28] T. Doi, A. Asada, A. Takeda, T. Tagami, M. Katagi, S. Matsuta, H. Kamata, M. Kawaguchi, Y. Satsuki, Y. Sawabe, and H. Obana. Identification and characterization of α -PVT, α -PBT, and their bromomethyl analogs found in illicit drug products. *Forensic Toxicology*, **34** (2016) 76–93.
- [29] D. Fabregat-Safont, X. Carbón, C. Gil, M. Ventura, J. V. Sancho, F. Hernández, and M. Ibáñez. Reporting the novel synthetic cathinone 5-PPDI through its analytical characterization by mass spectrometry and nuclear magnetic resonance. *Forensic Toxicology*, **36** (2018) 447–457.
- [30] A. Błazewicz, E. Bednarek, J. Sitkowski, M. Popławska, K. Stypułkowska, W. Bocian, and L. Kozerski. Identification and structural characterization of four novel synthetic cathinones: α -methylaminohexanophenone (hexedrone, HEX), 4-bromoethcathinone (4-BEC), 4-chloro- α -pyrrolidinopropiophenone (4-Cl-PPP), and 4-bromo- α -pyrrolidinopentiophenone (4-Br-PVP) after their seizures. *Forensic Toxicology*, **35** (2017) 317–332.
- [31] N. Uchiyama, R. Kikura-Hanajiri, and T. Hakamatsuka. A phenethylamine derivative 2-(4-iodo-2,5-dimethoxyphenyl)-*N*-[(3,4-methylenedioxyphenyl)methyl]ethanamine (25I-NB34MD) and a piperazine derivative 1-(3,4-difluoromethylenedioxybenzyl)piperazine (DF-MDBP), newly detected in illicit products. *Forensic Toxicology*, **34** (2016) 166–173.
- [32] N. Uchiyama, Y. Shimokawa, R. Kikura-Hanajiri, Y. Demizu, Y. Goda, and T. Hakamatsuka. A synthetic cannabinoid FDU-NNEI, two 2H-indazole isomers of synthetic cannabinoids AB-CHMINACA and NNEI indazole analog (MN-18), a phenethylamine derivative *N*-OH-EDMA, and a cathinone derivative dimethoxy- α -PHP, newly identified in illegal products. *Forensic Toxicology*, **33** (2015) 244–259.
- [33] N. Uchiyama, Y. Shimokawa, M. Kawamura, R. Kikura-Hanajiri, and T. Hakamatsuka. Chemical analysis of a benzofuran derivative, 2-(2-

- ethylaminopropyl)benzofuran (2-EAPB), eight synthetic cannabinoids, five cathinone derivatives, and five other designer drugs newly detected in illegal products. *Forensic Toxicology*, **32** (2014) 266–281.
- [34] 島津製作所, GC/MS 法薬毒物データベース Ver.2, 2019.
- [35] Cayman Chemical, Cayman Spectral Library, available from [<https://www.caymanchem.com/forensics/publications/csl>], accessed May 27, 2020.
- [36] SWGDRUG, SWGDRUG Mass Spectral Library, available from [<http://swgdrug.org/ms.htm>], accessed May 27, 2020.
- [37] L. K. Sørensen. Determination of cathinones and related ephedrine in forensic whole-blood samples by liquid-chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, **879** (2011) 727–736.
- [38] C. Bell, C. George, A. T. Kicman, and A. Traynor. Development of a rapid LC-MS/MS method for direct urinalysis of designer drugs. *Drug Testing and Analysis*, **3** (2011) 496–504.
- [39] S. Sauer, F. T. Peters, C. Haas, M. R. Meyer, G. Fritschi, and H.H. Maurer. New designer drug α -pyrrolidinovalerophenone (PVP): studies on its metabolism and toxicological detection in rat urine using gas chromatographic/mass spectrometric techniques. *Journal of Mass Spectrometry*, **44** (2009) 952–964.
- [40] D. Springer, G. Fritschi, and H. H. Maurer. Metabolism of the new designer drug α -pyrrolidinopropiophenone (PPP) and the toxicological detection of PPP and 4'-methyl- α -pyrrolidinopropiophenone (MPPP) studied in rat urine using gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, **796** (2003) 253–266.
- [41] F. T. Peters, M. R. Meyer, G. Fritschi, and H. H. Maurer. Studies on the metabolism and toxicological detection of the new designer drug 4'-methyl- α -pyrrolidinobutyrophenone (MPBP) in rat urine using gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, **824** (2005) 81–91.

- [42] M. R. Meyer, J. Wilhelm, F. T. Peters, and H. H. Maurer. Beta-keto amphetamines: studies on the metabolism of the designer drug mephedrone and toxicological detection of mephedrone, butylone, and methyldone in urine using gas chromatography-mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **397** (2010) 1225–1233.
- [43] 井上博之, 小栗一太, 土橋均, 山田英之. 麻薬試験法, 日本薬学会 (編) 薬毒物試験法と注解 2006 分析・毒性・対処法. pp. 131–173, 東京化学同人, 東京, 2006.
- [44] 小栗一太, 片木宗弘, 岸徹, 高山成明, 土橋均, 三木昭宏. 覚せい剤試験法, 日本薬学会 (編) 薬毒物試験法と注解 2006 分析・毒性・対処法. pp. 187–213, 東京化学同人, 東京, 2006.
- [45] 中川有造, 池田正澄 (訳). アルデヒドおよびケトン, 有機化合物のマススペクトル. pp. 129–172, 丸善, 東京, 1973.
- [46] A. Miki, M. Katagi, K. Zaitzu, H. Nishioka, and H. Tsuchihashi, Development of a two-step injector for GC-MS with on-column derivatization, and its application to the determination of amphetamine-type stimulants (ATS) in biological specimens. *Journal of Chromatography B*, **865** (2008) 25–32.
- [47] B. Swantje, H. Wolfram, R. Peter, and J. Thomas. Synthesis of 2,3- and 3,4-methylenedioxyphenylalkylamines and their regioisomeric differentiation by mass spectral analysis using GC-MS-MS. *Forensic Science International*, **144** (2000) 139–153.
- [48] W. Folker and J. Thomas. Ring positional differentiation of isomeric N-alkylated fluorocathinones by gas chromatography/tandem mass spectrometry. *Forensic Science International*, **223** (2012) 97–105, 2012.
- [49] N. Shima, M. Katagi, H. Kamata, S. Matsuta, K. Sasaki, T. Kamata, H. Nishioka, A. Miki, M. Tatsuno, K. Zaitzu, A. Ishii, T. Sato, H. Tsuchihashi, K. Suzuki, Metabolism of the newly encountered designer drug α -pyrrolidinovalerophenone in humans: identification and quantitation of urinary

- metabolites, *Forensic Toxicology*, **32** (2014) 59–67.
- [50] M. R. Meyer, P. Du, F. Schuster, and H. H. Maurer. Studies on the metabolism of the α -pyrrolidinophenone designer drug methylenedioxy-pyrovalerone (MDPV) in rat and human urine and human liver microsomes using GC-MS and LC-high-resolution MS and its detectability in urine by GC-MS. *Journal of Mass Spectrometry*, **45** (2010) 1426–1442.
- [51] H. S. Shin, Y. SO. Shin, S. Lee, and B. B. Park. Detection and identification of pyrovalerone and its hydroxylated metabolite in the rat. *Journal of Analytical Toxicology*, **20** (1996) 568–572.
- [52] P. C. Meltzer, D. Butler, J. R. Deschamps, and B. K. Madras. 1-(4-Methylphenyl)-2-pyrrolidin-1-yl-pentan-1-one (Pyrovalerone) analogs: a promising class of monoamine uptake inhibitors. *Journal of Medical Chemistry*, **49** (2006) 1420–1432.
- [53] D. Springer, G. Fritschi, and H. H. Maurer. Metabolism and toxicological detection of the new designer drug 4'-methyl- α -pyrrolidinopropiophenone in urine using gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, **773** (2002) 25–33.
- [54] D. Ammann, J. M. McLaren, D. Gerostamoulos, and J. Beyer. Detection and quantification of new designer drugs in human blood: Part 2 - Designer cathinones. *Journal of Analytical Toxicology*, **36** (2012) 381–389.
- [55] Y. Imamura, Y. Kojima, T. Higuchi, H. Akita, T. Oishi, and M. Otagiri. Stereoselective reduction of acetohexamide in cytosol of rabbit liver. *Journal of Pharmacobio-Dynamics*, **12** (1989) 731–735.
- [56] K. Kobana, K. Watanabe, T. Kimura, T. Matsunaga, S. Kondo, and I. Yamamoto. A carbonyl reductase-catalyzing reduction of N^3 -phenacyluridine in rabbit liver. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, **23** (2000) 917–921.
- [57] K. Tsujikawa, T. Yamamuro, K. Kuwayama, T. Kanamori, Y. T. Iwata, H. Inoue. Instability of the hydrochloride salts of cathinone derivatives in air. *Forensic*

- Science International*, **248** (2015) 48–54.
- [58] M. Concheiro, M. Castaneto, R. Kronstrand, and M. A. Huestis. Simultaneous determination of 40 novel psychoactive stimulants in urine by liquid chromatography-high resolution mass spectrometry and library matching. *Journal of Chromatography A*, **1397** (2015) 32–42.
- [59] B. Waters, N. Ikematsu, K. Hara, H. Fujii, T. Tokuyasu, M. Tanaka, A. Matsusue, M. Kashiwagi, and S. Kubo. GC-PCI-MS/MS and LC-ESI-MS/MS databases for the detection of 104 psychotropic compounds (synthetic cannabinoids, synthetic cathinones, phenethylamine derivatives). *Legal Medicine*, **20** (2016) 1–7.
- [60] 杉江謙一, 阿久津守, 斉藤貢一. マイクロシリンジ試料導入法を用いた Direct Analysis in Real Time (DART)-TOF-MS による α -PVP 含有危険ドラッグ分析における定量法の検討. *分析化学* **65** (2016) 439–446.
- [61] N. Shima, H. Kakehashi, S. Matsuta, H. Kamata, S. Nakano, K. Sasaki, T. Kamata, H. Nishioka, K. Zaitzu, T. Sato, A. Miki, M. Katagi, and H. Tsuchihashi. Urinary excretion and metabolism of the α -pyrrolidinophenone designer drug 1-phenyl-2-pyrrolidin-1-yl)octan-1-one (PV9) in humans. *Forensic Toxicology*, **33** (2015) 279–294.
- [62] E. Tyrkkö, A. Pelander, R. A. Ketola, and I. Ojanperä. In silico and in vitro metabolism studies support identification of designer drugs in human urine by liquid chromatography/quadrupole-time of flight mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **405** (2013) 6697–6709.
- [63] H. H. Maurer, T. Kraemer, D. Springer, and R. F. Staack. Chemistry, pharmacology, toxicology, and hepatic metabolism of designer drugs of amphetamine (ecstasy), piperazine, and pyrrolidinophenone types: a synopsis. *Therapeutic Drug Monitoring*, **26** (2004) 127–131.
- [64] X. Chen. Simultaneous determination of four designer drugs and their major metabolites by liquid chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, **992** (2015) 1–7.

- [65] N. Negreira, C. Erratico, T. Kosjek, A. L. N. van Nuijs, E. Heath, H. Neels, and A. Covaci. In vitro Phase I and Phase II metabolism of α -pyrrolidinovalerone (α -PVP), methylenedioxypropylvalerone (MDPV) and methedrone by human liver microsomes and human liver cytosol. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **407** (2015) 5803–5816.
- [66] M. Paul, S. Bleicher, S. Guber, J. Ippisch, A. Poletti, and W. Schultis. Identification of phase I and II metabolites of new designer drug α -pyrrolidinohexiophenone (α -PHP) in human urine by liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry (LC-QTOF-MS). *Journal of Mass Spectrometry*, **50** (2015) 1305–1317.
- [67] M. J. Swortwood, K. N. Ellefsen, A. Wohlfarth, X. Diao, M. Concheiro-Guisan, R. Kronstrand, and M. A. Huestis. First metabolic profile of PV8, a novel synthetic cathinone, in human hepatocytes and urine by high-resolution mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **408** (2016) 4845–4856.
- [68] E. Fornal. Formation of odd-electron product ions in collision-induced fragmentation of electrospray-generated protonated cathinone derivatives: aryl α -primary amino ketones. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, **27** (2013) 1858–1866.
- [69] C. R. Maheux, I. Q. Alarcon, C. R. Copeland, T. S. Cameron, A. Linden, and J. S. Grossert. Identification of polymorphism in ethylone hydrochloride: synthesis and characterization. *Drug Testing and Analysis*, **8** (2016), 847–857.
- [70] M. Rojkiewicz, P. Kuś, J. Kusz, M. Książek, and A. Sochanik. Spectroscopic and crystallographic characterization of a new cathinone derivative: 1-phenyl-2-(butylamino)hexan-1-one hydrochloride (*N*-butylhexedrone). *Forensic Toxicology*, **38** (2020) 481–489.
- [71] D. Zuba. Identification of cathinones and other active components of ‘legal highs’ by mass spectrometric methods. *Trends in Analytical Chemistry*, **32** (2012) 15–30.

- [72] E. Fornal. Study of collision-induced dissociation of electrospray-generated protonated cathinones. *Drug Testing and Analysis*, **6** (2014) 705–715.
- [73] A. Błażewicz, E. Bednarek, M. Popławska, N. Olech, J. Sitkowski, and L. Kozerski. Identification and structural characterization of synthetic cathinones: *N*-propylcathinone, 2,4-dimethylmethcathinone, 2,4-dimethylethcathinone, 2,4-dimethyl- α -pyrrolidinopropiophenone, 4-bromo- α -pyrrolidinopropiophenone, 1-(2,3-dihydro-1*H*-inden-5-yl)-2-(pyrrolidin-1-yl)hexan-1-one and 2,4-dimethylisocathinone. *Forensic Toxicology*, **37** (2019) 288–307.
- [74] W. C. Cheng and W. C. Wong. Forensic drug analysis of chloro-N,N-dimethylcathinone (CDC) and chloroethcathinone (CEC): Identification of 4-CDC and 4-CEC in drug seizures and differentiation from their ring-substituted positional isomers. *Forensic Science International*, **298** (2019) 268–277.
- [75] WIPO Patent WO/2009/105218, Propiophenone derivatives.
- [76] A. B. Attygalle, J. Ruzicka, D. Varughese, B. Bialecki, and S. Jafri. Low-energy collision-induced fragmentation of negative ions derived from *ortho*-, *meta*-, and *para*-hydroxyphenyl carbaldehydes, ketones, and related compounds. *Journal of Mass Spectrometry*, **42** (2007) 1207–1217.
- [77] 掛橋秀直, 志摩典明, 鎌田寛恵, 松田駿太郎, 中野史保子, 和田美暁, 佐々木啓子, 鎌田徹, 西岡裕, 財津桂, 土橋均, 三木昭宏, 片木宗弘. 1-Phenyl-2-(pyrrolidine-1-yl)pentan-1-one (α -PVP)の3種の類縁化合物のヒトにおける尿中代謝物及び代謝経路. *日本法科学技術学会誌*, **22** (2017) 77–90.

略語一覧

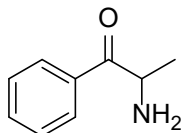
本論文では、以下の略語を使用した。

AP	アンフェタミン
bk-MDMA	3,4-メチレンジオキシメトカチノン (β -ケト-MDMA)
CATs	カチノン類
CE	コリジョンエネルギー
CI	化学イオン化
CID	衝突誘起解離
D1	ジアステレオマー1
D2	ジアステレオマー2
DBA	ジベンジルアミン
3,4-DMMC	3,4-ジメチルメトカチノン
DP	脱クラスター電圧
EI	電子イオン化
ESI	エレクトロスプレーイオン化
GC-MS	ガスクロマトグラフィー質量分析
HRMS	高分解能質量分析
IS	内部標準
LC-MS/MS	液体クロマトグラフィータンデム質量分析
LSD	リゼルギン酸ジエチルアミド
MA	メタンフェタミン
MDEA	3,4-メチレンジオキシ-N-エチルアンフェタミン
MDMA	3,4-メチレンジオキシメタンフェタミン
MDPV	3,4-メチレンジオキシピロバレロン
4-MeO-PVP	4-メトキシ-PVP

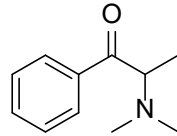
MPBP	4-メチル- α -PBP
MPPP	4-メチル- α -PPP
MS	質量分析
MSTFA	<i>N</i> -メチル- <i>N</i> -(トリメチルシリル)トリフルオロアセトアミド
NMR	核磁気共鳴分光分析
α -PBP	α -ピロリジノブチロフェノン
α -PBP-M1	1-フェニル-2-(ピロリジン-1-イル)ブタン-1-オール
α -PBP-M2	α -(2-オキシ-ピロリジノ)ブチロフェノン
α -PHP	α -ピロリジノヘキサノフェノン
α -PHP-M1	1-フェニル-2-(ピロリジン-1-イル)ヘキサン-1-オール
α -PHP-M2	α -(2-オキシ-ピロリジノ)ヘキサノフェノン
α -PHPP	α -ピロリジノヘプタノフェノン
α -PHPP-M1	1-フェニル-2-(ピロリジン-1-イル)ヘプタン-1-オール
α -PHPP-M2	α -(2-オキシ-ピロリジノ)ヘプタノフェノン
α -PNP	α -ピロリジノノナノフェノン
α -POP	α -ピロリジノオクタノフェノン
α -PPP	α -ピロリジノプロピオフェノン
PPs	α -ピロリジノフェノン類
α -PVP	α -ピロリジノバレロフェノン
α -PVT	2-(ピロリジン-1-イル)-1-(チオフェン-2-イル)ペンタン-1-オン
QTOF-MS	四重極－飛行時間型質量分析
S/N	シグナルノイズ比
SRM	選択反応モニタリング
TFA	トリフルオロアセチル
TMS	トリメチルシリル
UNODC	国連薬物犯罪事務所
薬機法	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

構造式一覧

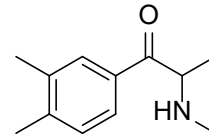
カチノン類 (CATs)



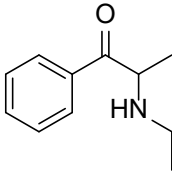
Cathinone



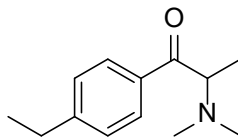
Dimethylcathinone



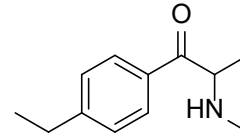
3,4-Dimethylmethcathinone
(3,4-DMMC)



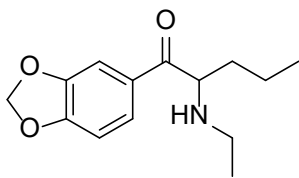
Ethcathinone



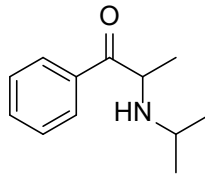
4-Ethyl-*N,N*-dimethylcathinone



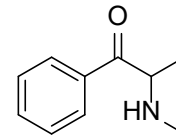
4-Ethylmethcathinone



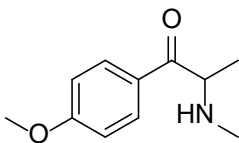
N-Ethylpentylone



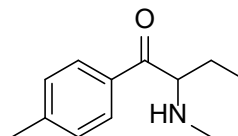
Isopropylcathinone



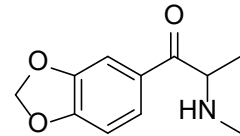
Methcathinone



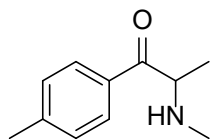
4-Methoxymethcathinone



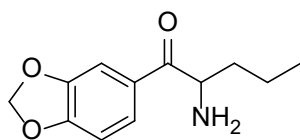
4-Methylbuphedrone



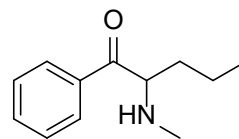
3,4-Methylenedioxyethcathinone
(Methylone, bk-MDMA)



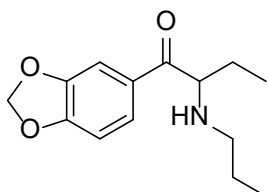
4-Methylethcathinone (4-MEC)



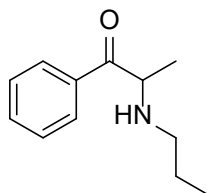
3,4-Methylenedioxy-*N*-desmethylpentedrone



Pentedrone

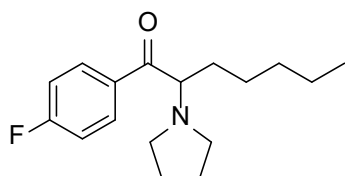


N-*n*-Propylbutylone

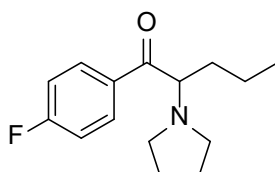


n-Propylcathinone

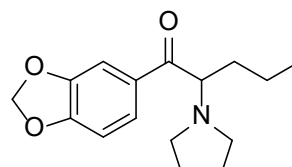
α -ピロリジノフェノン類 (PPs)



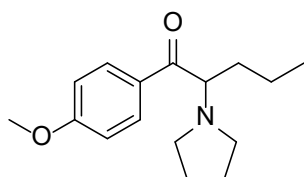
4-Fluoro- α -PHPP



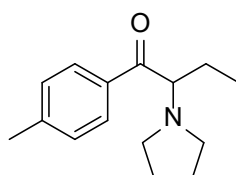
4-Fluoro- α -PVP



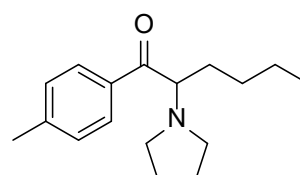
MDPV



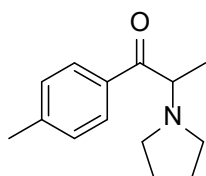
4-Methoxy- α -PVP



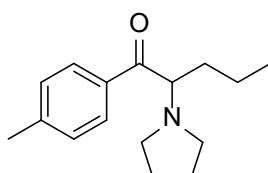
4-Methyl- α -PBP



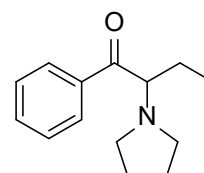
4-Methyl- α -PHP (MPHP)



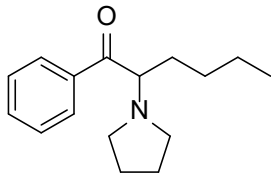
4-Methyl- α -PPP (Desethylpyrovalerone)



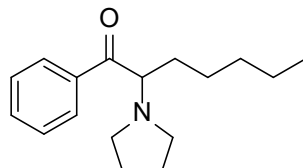
4-Methyl- α -PVP



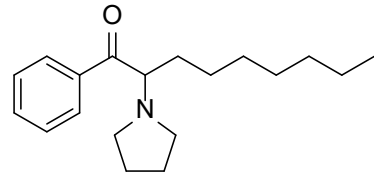
α -PBP



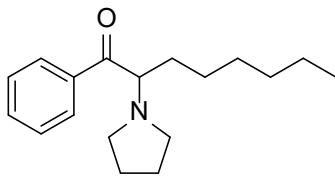
α -PHP



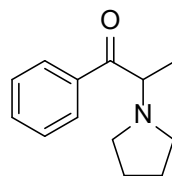
α -PHPP



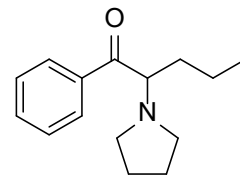
α -PNP



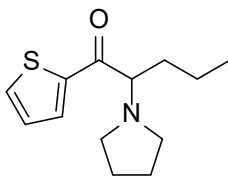
α -POP



α -PPP

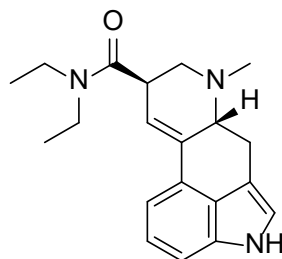


α -PVP

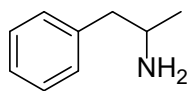


α -PVT

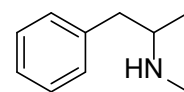
その他乱用薬物



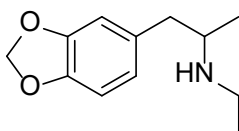
Lysergic acid diethylamide (LSD)



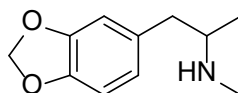
Amphetamine (AP)



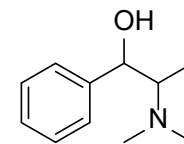
Methamphetamine (MA)



3,4-Methylenedioxyethylamphetamine (MDEA)

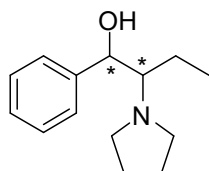


3,4-Methylenedioxy-methamphetamine (MDMA)

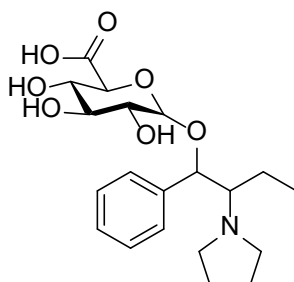


Methylephedrine

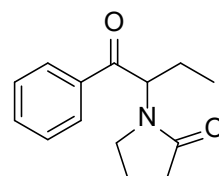
α -PBP 代謝物



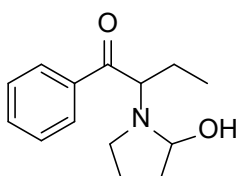
α -PBP-M1 (1-OH- α -PBP)
[diastereomers: D1, *syn* type;
D2, *anti* type]



α -PBP-M1-Glc

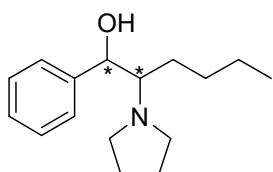


α -PBP-M2 (2''-oxo- α -PBP)

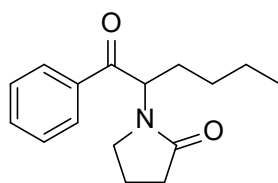


2''-OH- α -PBP

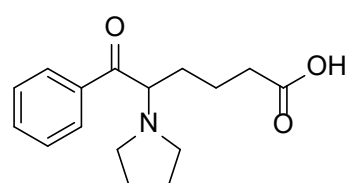
α -PHP 代謝物



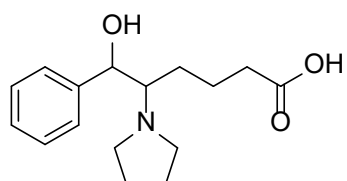
α -PHP-M1 (1-OH- α -PHP)
[diastereomers: D1, *syn* type;
D2, *anti* type]



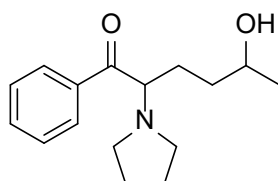
α -PHP-M2 (2''-oxo- α -PHP)



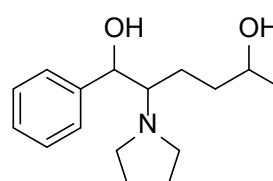
α -PHP-M3



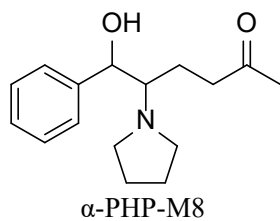
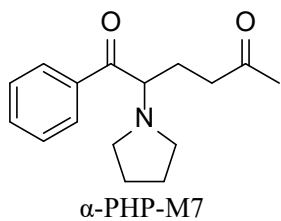
α -PHP-M4



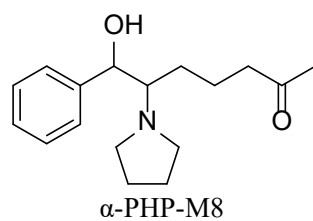
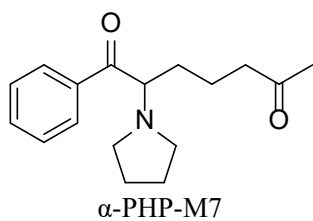
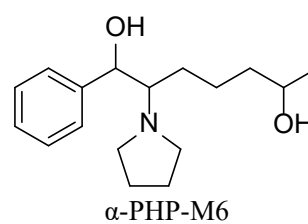
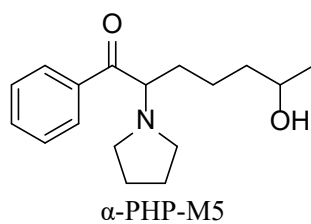
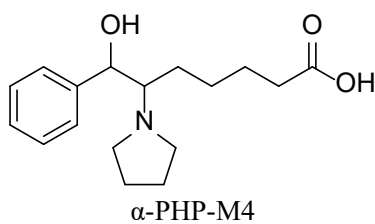
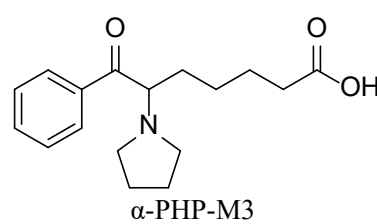
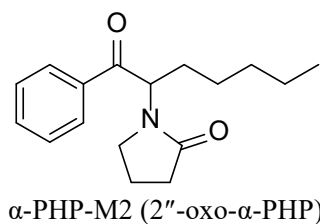
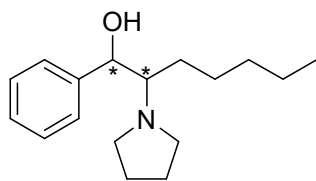
α -PHP-M5



α -PHP-M6



α -PHPP 代謝物



その他分析に用いた試薬 (内部標準および誘導体化試薬)

