

論文内容の要旨

Analytical Studies on MDMA and Its Related Compounds in Biomaterials by HPLC Methods

長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科 生命薬科学専攻 中村 心一

[目的]

麻薬、覚せい剤をはじめとする各種違法薬物の乱用は、乱用者自身へのリスクのみならず、社会的弊害を招くなど深刻な問題となっている。特に、興奮・幻覚作用を有した錠剤型合成麻薬である 3,4-methylenedioxy-methamphetamine (MDMA) 及び 3,4-methylenedioxyamphetamine (MDA) の乱用が若者の間で広がりをもたせ問題となっている (Fig. 1)。また MDMA に加えて、覚せい剤の methamphetamine (MP) や amphetamine (AP) などの薬物が複数混在した錠剤の流通も報告されており、このような錠剤を摂取することによって引き起こされる相互作用により、さらに重篤なリスクが生じることも懸念されている。これらのリスク軽減のためには MDMA 類の毒性学あるいは動態学的な集積が必要であり、したがってこれらの薬物の高感度な分析法の開発が強く求められている。一方で、乱用薬物分析の現場では、尿、血液、毛髪など多様な生体試料の分析が必要となる。そこで、これらに応用可能な分析法に対するニーズも大きくなってきている。

本研究では、蛍光ラベル化試薬 4-(*N,N*-dimethylaminosulphonyl)-7-fluoro-2,1,3-benzoxadiazole (DBD-F) を用い、HPLC-蛍光検出あるいは過シュウ酸エステル化学発光 (POCL) 検出による様々な生体試料 (尿、血液、毛髪) 中の MDMA 類の高感度計測法を構築し、薬物濃度モニタリング及び薬物乱用者の実試料に応用することで、薬物動態学や法中毒分野で多目的に利用可能な分析法を確立することを目的とした (Fig. 2)。



Fig. 1 MDMA tablets

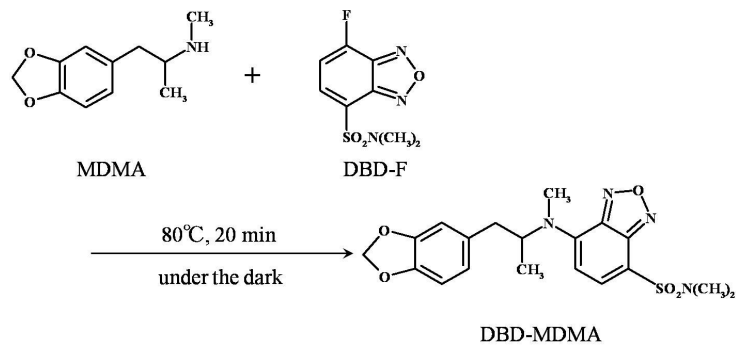


Fig. 2 Reaction scheme of MDMA with DBD-F

[結果・考察]

1. ラット尿中の MDMA 類のセミマイクロカラム HPLC-蛍光定量法の開発及びその応用¹⁾

尿試料はその中の分析対象物の濃度が比較的高く、また多量に入手可能な場合が多く、オンサイト分析や薬物スクリーニングで使用される。そのため、使用する分析法は簡便性あるいは迅速性が必要となる。そこでラット尿を用い、MDMA, MDA, MP 及び AP を分析対象として、蛍光検出による高感度定量法の開発を行った。その結果、本法の感度は、これまで報告されている蛍光ラベル化試薬 dansyl chloride 及び 9-fluorenylmethyl chloroformate を用いた方法と同程度であったが、それらの測定に必要な試料量 (500 µl) と比べ極少量 (50 µl) である点及び蛍光ラベル化反応に要する時間が短い点で、既法よりも有用であった。また、MDMA を投与したラット尿中モニタリングに適用することができた。

2. カラムスイッチング法を組み合わせたセミマイクロカラム HPLC-過シュウ酸エステル化学発光検出による薬物乱用患者毛髪中の MDMA 類の高感度計測²⁾

毛髪試料は、長期にわたる薬物モニタリングが可能であるという点から、尿や血液試料に加えて犯罪捜査に利用されてきている。しかし、入手できる試料量に制限がある場合があるため、高感度かつ高選択的な分析法が必要となる。そこで、MDMA, MDA, MP 及び AP を分析対象として、POCL 検出による高感度計測法の開発を行った。本法は、反応試料液のクリーンアップのために、カラムスイッチング法を組み合わせることで、4 種類の薬物を他の毛髪成分と約 40 分以内に良好に分離・定量することが可能であった。また、POCL を利用することで、数フェムトモルレベルの検出感度を達成することができた。さらに本法を、薬物乱用更正施設に入院中の患者頭髪中 MDMA, MDA, MP 及び AP の定量に適用し、その応用性を確認することができた (Fig. 3 and Table 1)。

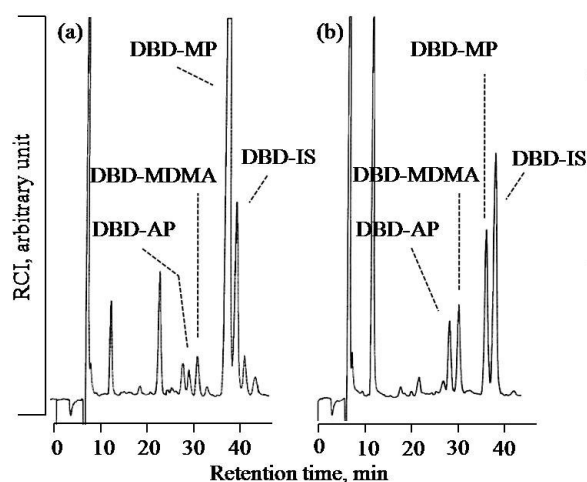


Table 1 Amount of MDMA and related compounds in patients' hair samples

Sample No.	Amount, ng/mg hair			
	MDMA	MDA	MP	AP
1	0.59	N.D.	6.73	0.88
2	0.41	N.D.	0.81	2.47

Fig. 3 Chromatograms obtained from patients' hair samples
(a) sample No. 1 and (b) sample No. 2 in Table 1.

3. ヒト血漿中 MDMA 類の HPLC-過シュウ酸エステル化学発光検出

血液は毛髪と同様に、試料中薬物濃度が低く、その採取には検体への負担を強いることになる。したがって検体への負担軽減のために、測定に使用する試料量の少量化が望まれている。ここでは、MDMA, MDA, MP 及び AP に加えて、MP の代謝物である *p*-hydroxymethamphetamine (*p*-HMP) 及び *p*-hydroxyamphetamine (*p*-HAP) さらに、MDMA 錠剤に混在が確認されているデザイナードラッグ、*p*-methoxymethamphetamine (PMMA) を分析対象とした。高感度な分析法が望まれることから、POCL 検出を用い、また、分離性能の向上及び分析時間の短縮を目的に、粒子径が 3 μm の fast column を組み合わせた計測法の開発を行った。その結果、本法の感度は、既存の LC-MS/MS 法と同程度であった。また、7 種の化合物を約 45 分で血漿成分由来の妨害なく分離することができた (Fig. 4)。

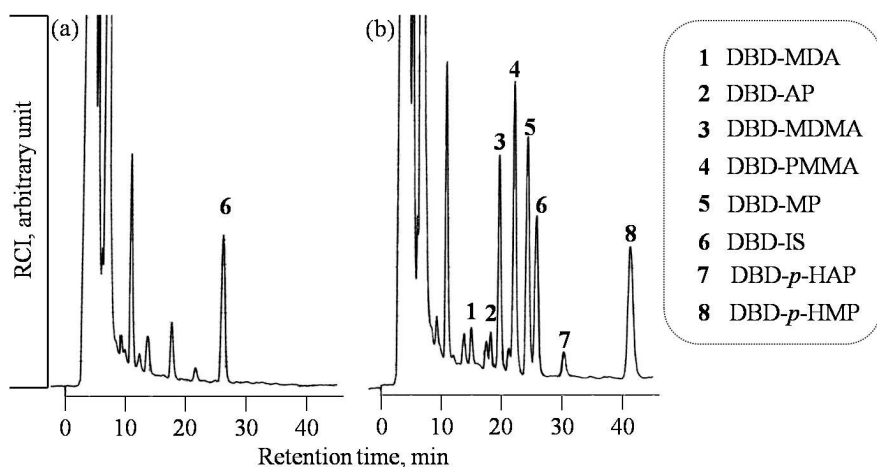


Fig. 4 Chromatograms of (a) normal human plasma and (b) that spiked with 10 ng/ml (MDMA, MDA, MP, AP, PMMA, *p*-HMP and *p*-HAP) of standards and 20 ng/ml of IS, respectively.

[結論]

本研究では、蛍光ラベル化試薬 DBD-F で標識後、蛍光検出あるいは POCL 検出により、様々な生体試料に適用可能な MDMA 類の高感度計測法を開発した。

尿中 MDMA 類の分析では、簡単な液-液抽出法と HPLC-蛍光検出を組み合わせた簡便で高感度な計測法を開発することができた。また、毛髪及び血液試料を用いた分析では POCL 検出を組み合わせることで、数フェムトモルレベルの非常に高感度な検出を可能とした。さらに、毛髪中 MDMA 類の分析では、薬物乱用患者の実試料に応用できたことから、更生施設での検査など日常分析としても有用であることを確認することができた。

以上、開発した計測法はいずれも極少量の試料での分析が可能であることから、MDMA 類の法中毒学的研究をはじめ、薬物動態学的相互作用研究等にも有用であると考えられる。

- (文献) 1. *Luminescence*, **20**, 210-215 (2005).
2. *Anal. Bioanal. Chem.*, **387**, 1983-1990 (2006).