

## 資料

## 指定薬物の同定を目指した基礎研究

伊藤哲朗, 神山恵理奈, 筑本貴郎, 永井宏幸, 岩木孝晴, 多田裕之, 古川諒一\*, 川島英頌\*, 首村菜月\*, 松久貴哉\*, 曽田翠\*, 北市清幸\*

## 要旨

指定薬物として規制される合成カンナビノイド(SCs)の異性体は規制対象外であることが多い、通常の検査で使用するLC-PDA, LC-MS及びGC-MSのみでは異性体間の識別が困難な場合がある。化学構造の識別上とりわけ問題視される化合物は、芳香環上にフッ素原子を導入した誘導体である。近年、SCsの骨格を形成するインドール環やインダゾール環の窒素にフルオロベンジル基が結合した化合物が指定薬物に指定されているが、化合物の同定と構造識別に必要とされる標準品の整備は不十分であり、加えて機器分析による物理化学的データに関する情報が不足している。本研究では、インドール環の1位にパラフルオロベンジル基を持つナフトイルインドール型の合成カンナビノイドFUB-JWH-018を対象として、フッ素の結合位置の異なる異性体の識別について検討した。

**キーワード:** 危険ドラッグ, 構造識別, 合成カンナビノイド, フッ素位置異性体

## 1はじめに

合成カンナビノイド(SCs)は中枢作用を持つ含窒素複素環化合物であり、合成カチノン類とともに乱用が懸念されている<sup>1)</sup>。本邦では置換基の多様性を持つSCsに対して指定薬物制度の下、包括指定により網羅的な薬物規制が行われた。一方で含窒素複素環の変更、含フッ素置換基の導入等により、今なお種々雑多のSCsが法規制の網の目をすり抜けて市場で流通する。SCsは、令和元年9月末時点で指定薬物として規制される全2,375化合物の約3割を占める。当所では、岐阜県における危険ドラッグ対策の一環として、ガスクロマトグラフ質量分析計(GC-MS)をはじめとする分析機器を用いて危険ドラッグ製品の検査を行っている。しかしながら、指定薬物として規制されるSCsには規制対象外の異性体が千万無量に存在し、通常の薬物検査で使用する分析機器のみでは異性体間の識別が困難な場合がある。平成25年度以降、岐阜県内買上げ検体において、12事例検出されたSCsの一種である5F-QUPICを例に挙げると、GC-MS及び高速液体クロマトグラフ質量分析計(LC-MS)から得られた情報からは異性体との識別は困難であった。5F-QUPICと標準品が入手可能であった異性体10種との識別は、GC-MS/MSを含めた種々の分析機器による測定を経て、LC-MS/MSから得られた情報によって達成された<sup>2)</sup>。

近年、インドール環及びインダゾール環にフルオロ

ベンジル基がC-N結合により導入されたSCs(FUB-JWH-018, FDU-PB-22, AB-FUBINACA, MMB-FUBINACA等)が指定薬物に指定されている。このようなフッ素置換体は位置異性体の物性が類似するため、一般に各種クロマトグラフ及び質量分析において識別できる差異を見いだすことが困難とされている。これまでに、一部のSCs、カチノン系化合物及びフェネチルアミン類のフッ素位置異性体の構造識別が行われてきたが、これらは芳香環にフッ素原子が置換した規制薬物の一角に過ぎない<sup>3)</sup>。本研究開始時において、SCsのフッ素位置異性体の識別に関する研究は行われてこなかった。すなわち、誤同定には注意が必要であると認識されながらも、同系化合物の位置異性体の標準品は大部分が市販されておらず、構造識別研究の遅延を招いてきた。

そこで我々は、指定薬物の誤同定防止に資するための基礎研究の一環として、フッ素置換化合物に注目してモデル化合物の合成と構造識別のための分析法の開発を進めてきた<sup>4)</sup>。本稿では、指定薬物FUB-JWH-018及び異性体の構造識別法について述べる。

## 2材料と方法

## 2.1 標準品及び試薬

FUB-JWH-018及びその異性体5種(1-6)(図1)は化学合成した。アセトニトリル、メタノール及びギ酸は、

岐阜県保健環境研究所: 504-0838 岐阜県各務原市那加不動丘1-1

\*岐阜薬科大学: 501-1196 岐阜県岐阜市大学西1-25-4

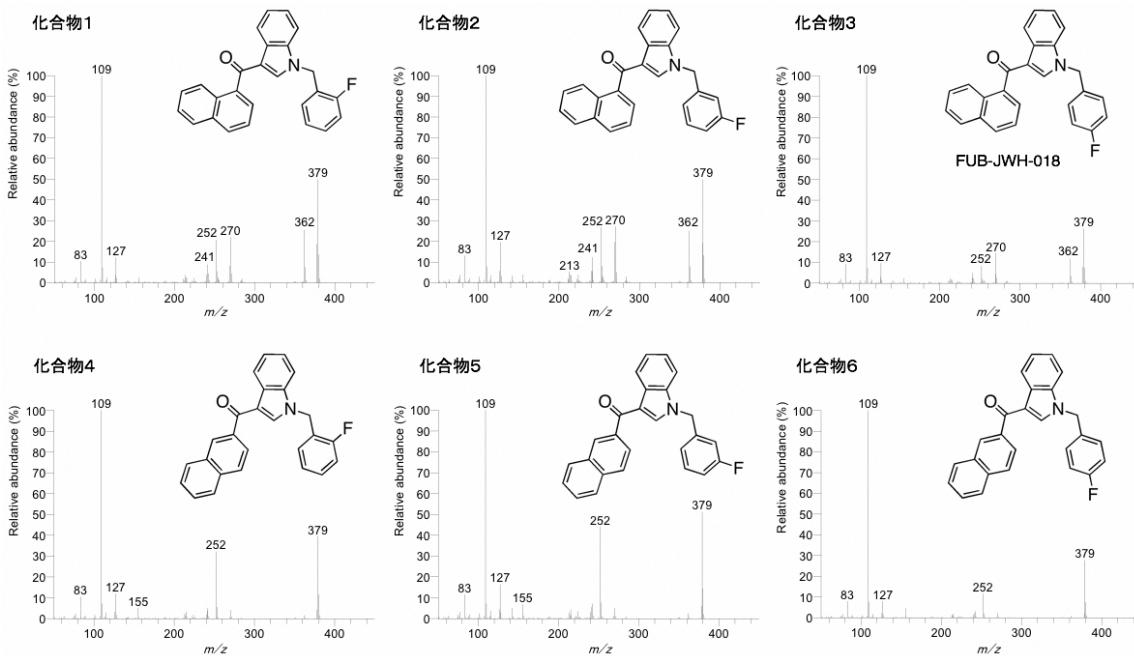


図1 FUB-JWH-018 及びその異性体の化学構造と GC-MS による EI マススペクトル. 文献4を改変.

和光純薬工業製の LC/MS 用を用いた。

## 2.2 標準溶液の調製

標準品 6 種は、メタノールに溶解し、100 ppm 標準原液を調製し−20°Cにて保管した。これらを使用時にメタノールを用いて適宜希釈し、標準溶液とした。

## 2.3 分析方法

**GC-MS** 装置 : TRACE 1310GC/ISQ LT (Thermo Fisher Scientifics 社製), カラム : DB-5MS (0.25 mm i.d.×30 m, 膜厚 0.25 μm, Agilent Technologies 社製), カラム温度 : 80°C (1 分保持) −10°C/分−310°C (12 分保持), キャリアガス : He (1.0 mL/分), 試料注入量 : 1 μL, 試料注入 : スプリットレス, 注入口温度 : 250°C, トランスマニアーライン温度 : 280°C, イオン源温度 : 250°C, イオン化法:電子イオン化 (EI(+)), 化学イオン化 (CI(+)), 試薬ガス : メタン, 測定モード : スキャン

**GC-MS/MS** 装置 : 7890A/7000 GC/MS Triple Quad (Agilent Technologies 社製), カラム : DB-5MS+DG (0.25 mm i.d.×30 m + 10 m, 膜厚 0.25 μm, Agilent Technologies 社製), 測定モード : プロダクトイオンスキャン, コリジョンガス : N<sub>2</sub>, コリジョンエネルギー (CE) : 5, 15, 25, 35 eV, その他の条件は GC-MS と同じ。

**LC-MS** 装置 : 1100 Series LC/MSD (Agilent Technologies 社製), カラム : Discovery HS F5 (2.1×150 mm, 3 μm, Supelco 社製), 移動相 : 0.1 % ギ酸 / 0.1 % ギ酸アセトニトリル混液 (58:42), 流速 : 0.4 mL/min, カラム温度 : 40°C, 注入量 : 5 μL, イオン化モード : エレクトロスプレーアイオン化 (ESI(+)), Scan 範囲 : m/z 50–450

**LC-MS/MS** 装置 : 1200 Series / 6460 Triple Quadrupole MS (Agilent Technologies 社製), カラム : ZORBAX Eclipse

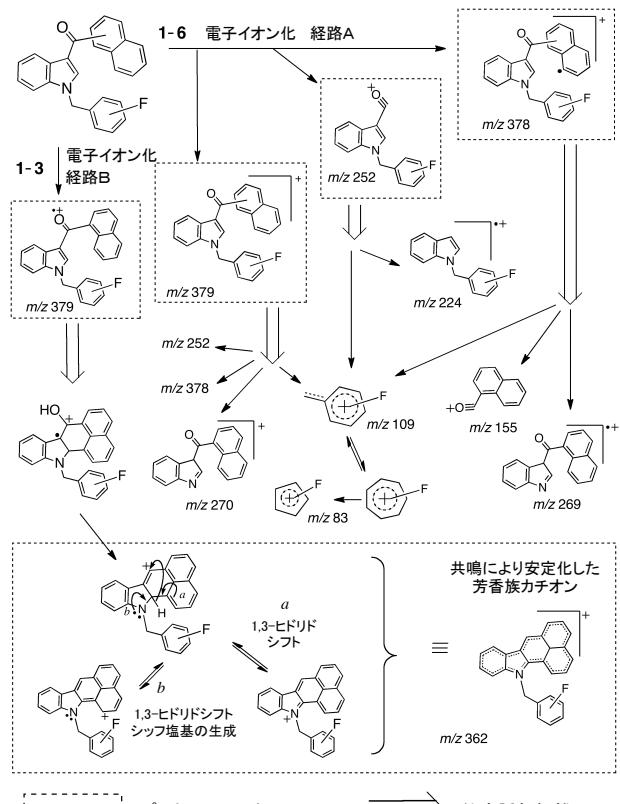


図2 電子イオン化及び衝突誘起解離スペクトルにおけるイオン化及びフラグメントーション. 文献4を改変.

Plus C8 (2.1×150 mm, 3.5 μm, Agilent Technologies 社製), 移動相 : 0.1 % ギ酸 / 0.1 % ギ酸アセトニトリル混液 (20:80), 流速 : 0.18 mL/min, その他の条件は LC-MS と同様である。

### 3 結果及び考察

#### 3.1 GC-MS 及び GC-MS/MS による識別<sup>4)</sup>

標準品6種の混合溶液をGC-MSで分析した結果、1-ナフトイル誘導体(1-3)は2-ナフトイル誘導体(4-6)より弱い保持を示した。また、パラ-フルオロベンジル基を有する異性体(3,6)は単独のピークとして観察されたが、オルト位及びメタ位にフッ素原子が置換した異性体(1,2及び4,5)は保持時間が重複した。このことから、オルト-フルオロベンジル基を有する異性体とメタ-フルオロベンジル基を有する異性体の保持特性に差がないことが明らかとなった。

EIにより得られたマススペクトルの結果を図1に示す。1-ナフトイル誘導体(1-3)は、分子イオンM<sup>+</sup>(m/z 379)並びにフラグメントイオン(m/z 378, 362, 270, 252, 241, 240, 127, 109及び83)を与えた。2-ナフトイル誘導体(4-6)は、m/z 379, 362及び270の相対強度が小さかったことを除き、1-3と類似のスペクトルを与えた。これらのうち、オルト位及びメタ位にフッ素原子が置換した異性体(1,2及び4,5)のマススペクトルは酷似した。すなわち1-6の構造識別において、EIマススペクトルはナフトイル基の位置異性体識別(1 vs 4, 2 vs 5及び3 vs 6)に適するが、インドール環の窒素原子にフルオロベンジル基を持つ化合物の同定及び識別(1 vs 2 vs 3及び4 vs 5 vs 6)に適さないことが分かった。また、CIマススペクトルは、6化合物とも非常に類似しており、識別不能であった。

衝突誘起解離により得られるプロダクトイオンスペクトルは、特定のm/z値を持つイオンの、化学結合の開裂と電子の移動により生ずるプロダクトイオンを測定して得られるものであり、構造識別を行う上で重要な情報となる。従って、1-6の構造識別においては、プロダクトイオンスペクトル測定におけるプリカーサーイオンに、推定化学構造にフルオロベンジル基を含むものを設定した。この条件を満たすものは分子イオンM<sup>++</sup>(m/z 379, [C<sub>26</sub>H<sub>18</sub>FNO]<sup>++</sup>)、[M-H]<sup>+</sup>(m/z 378, C<sub>26</sub>H<sub>17</sub>FNO<sup>+</sup>)、[M-OH]<sup>+</sup>(m/z 362, C<sub>26</sub>H<sub>17</sub>FN<sup>+</sup>)及び[M-C<sub>10</sub>H<sub>7</sub>]<sup>+</sup>(m/z 252, C<sub>16</sub>H<sub>11</sub>FNO<sup>+</sup>)である。これらは2種の経路(図2、経路A及びB)により生成すると推定される。

CEを5-35eVの範囲において10eVごとに変化させて測定を行った結果、m/z 379(1-6; CE 25 eV), 378(1-6; CE 15 eV)及びm/z 362(1-3; CE 25 eV)のプロダクトイオンスペクトルにおいて、異性体識別に資する差異が観察された(図3A-C)。m/z 252のプロダクトイオンスペクトルは、識別に資する差異を与えるなかつた。

分子イオン(m/z 379)をプリカーサーイオンとしたとき、1-6は共通のプロダクトイオンとしてm/z 378, 362,

270, 269, 252及び109を与えた(図3A)。1-ナフトイル誘導体(1-3)は2-ナフトイル誘導体(4-6)と比較してm/z 378, 362, 270及び269に高い相対強度を示したことから、同じフルオロベンジル基を持つ異性体(1 vs 4, 2 vs 5及び3 vs 6)は、明確に識別が可能であった。1-ナフトイル誘導体(1-3)より得られたプロダクトイオンの強度を比較したところ、以下の知見が得られた。(i) メタ-フルオロベンジル基を持つ2は1及び3と比較して、m/z 378, 362, 269及び252に高い相対強度を示した。(ii) CE 15eVにおいてプロダクトイオンm/z 109の相対強度に明確な差が認められ、その生成度合は3 > 1 > 2であった。これらと同様のスペクトル特性は2-ナフトイル誘導体(4-6)においても示された。1-6の脱ヒドリド分子(m/z 378)から得られたプロダクトイオンスペクトルでは、プリカーサーイオンとともに、共通のプロダクトイオン(m/z 269及び109)が観察された(図3B)。同スペクトルでは、ナフトイル基の位置異性体識別(1 vs 4, 2 vs 5及び3 vs 6)とフッ素位置異性体識別(1 vs 2 vs 3及び4 vs 5 vs 6)の両方において、両イオンの相対強度に明確な違いが示された。1-3の脱ヒドロシリ化イオン(m/z 362)からは、プリカーサーイオンとともに、m/z 253及び109に強い相対強度を示すプロダクトイオンが観察された(図3C)。両イオンの異性体間のイオン比の違いは顕著であった(m/z 109/253: 3(6.67) > 1(1.43) > 2(0.47))。このように、推定化学構造にフルオロベンジル基を含むイオンをプリカーサーイオンとし、得られる主要なプロダクトイオンの相対強度を比較することにより、異性体間の識別が可能であることが明らかとなった。本識別法の有用性を確認するため、FUB-JWH-018を含有するハーブ形態の危険ドラッグ製品を同条件で分析したところ、FUB-JWH-018標準品と一致するプロダクトイオンスペクトルが確認された。

次に、プロダクトイオンの構造及び推定生成機構について述べる。まず、3種のプリカーサーイオンm/z 379, 378及び252より得られたプロダクトイオンスペクトルからは、経路A(図2)に示すフラグメンテーションの存在が推測される。この中で、すべてのプリカーサーイオン(m/z 379, 378及び252)から生じる主要フラグメントであるm/z 109は、インドール環の窒素原子とメチレン炭素の共有結合の開裂から生成したフルオロベンジルカチオン(CH<sub>2</sub>F<sup>+</sup>)であり、トロピリウムカチオンの形成により同イオンの安定化に寄与すると考えられる。m/z 270(C<sub>9</sub>H<sub>12</sub>NO<sup>+</sup>)及びm/z 269(C<sub>9</sub>H<sub>11</sub>NO<sup>+</sup>)は、それぞれm/z 379及び378をプリカーサーイオンとし、フルオロベンジル基の脱離により生ずると推定される。一方、もう一つのプリカーサーイオンm/z 362は、経路

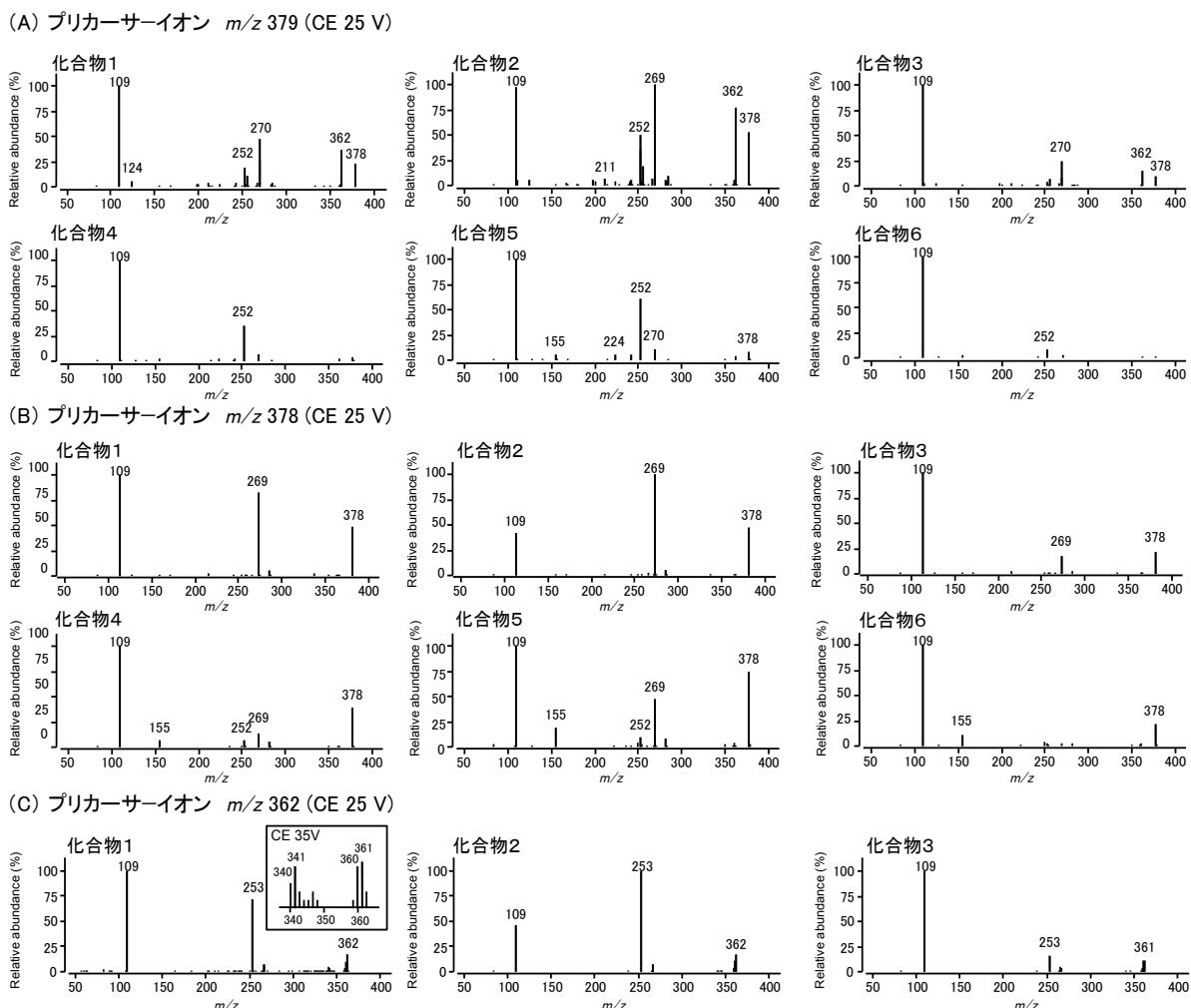


図3 GC-ESI-MS/MSによるプロダクトイオンスペクトル. 文献4を改変.

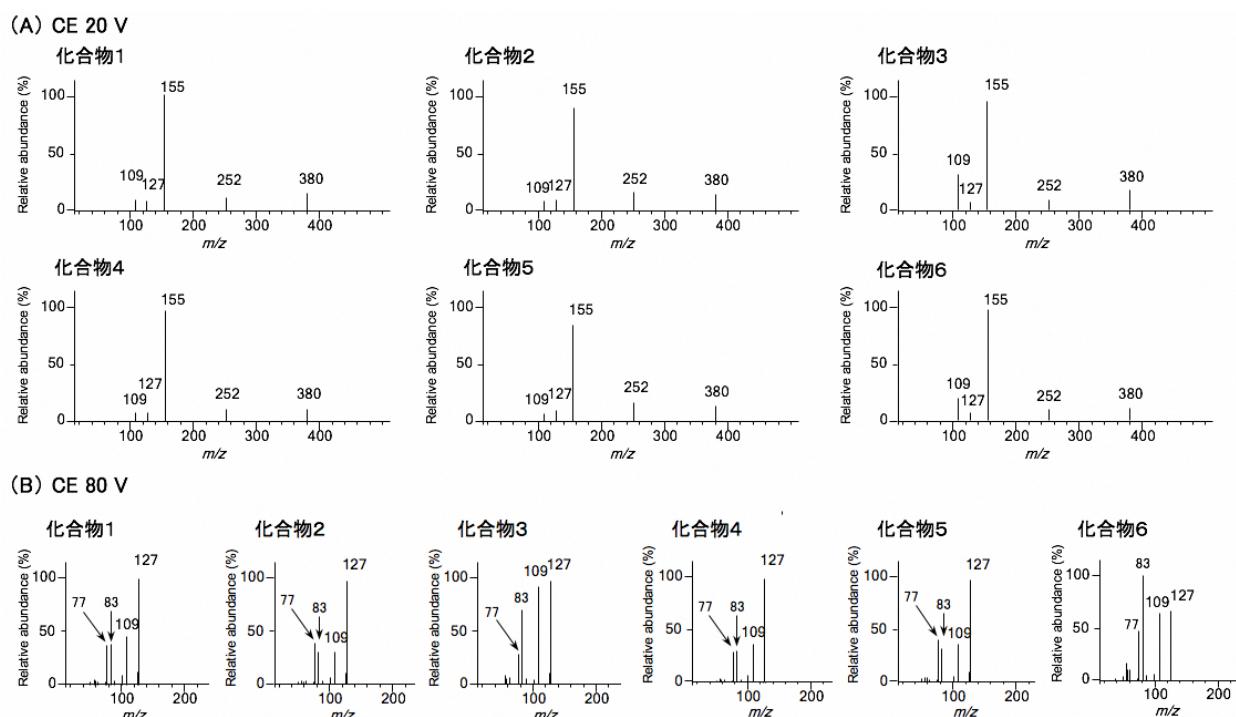


図4 LC-ESI-MS/MSによるプロダクトイオンスペクトル. 文献5を改変.

B(図2)に示される分子イオン( $m/z$ 379)から、インドール環炭素-2位とナフトイル基炭素-8位の共有結合の生成と脱ヒドロキシラジカルを経て生ずると考えられる。 $m/z$ 362は、正電荷の非局在化と共ににより安定化した芳香族カチオンを形成すると考えられ、1-3においてその生成は有利に進行する。この共役芳香族カチオンには、1,3-ヒドリド転位を経た芳香族カチオンとシップ塩基が含まれている。このことが、 $m/z$ 362からの多様で特異なプロダクトイオンの生成に寄与していると推定される。

### 3.2 LC-MS 及び LC-MS/MS による識別<sup>5,6)</sup>

各種カラムを用いた種々の条件において、1-3は4-6と良好に分離された。一方、オルト位とメタ位にフッ素原子が置換した異性体の分離は、容易に得ることができなかった(1vs2及び4vs5)。すべての異性体の分離は、ペンタフルオロフェニルプロピル基(PFP)を固定相としたカラムを用いることにより達成された。

6種の異性体(1-6)について、プロトン付加分子[ $M+H]^+$ ( $m/z$ 380)をプリカーサーイオンとし、CEを5eVごとに変化させて、プロダクトイオンの比較を行った(CE範囲:5-90eV)。その結果、1-6は各々のCEにおいて、強度の類似した同種のプロダクトイオンを与えた。低CEによる測定(CE5-15eV)においては、プリカーサーイオンと共に、2種のプロダクトイオン $m/z$ 252, 155が観察され、これらはCEの増大(CE20-50eV)にしたがって減弱するとともに、開裂が進行したプロダクトイオン $m/z$ 127, 109を与えた。高CEによる測定(CE55-90eV)では、 $m/z$ 127, 109に加えて $m/z$ 83, 77の漸増が観察された(図4)。

村上らは、AB-FUBINACAを用いたLC-ESI-MS/MSから得られたプロダクトイオンスペクトルにおいて、ベースピークである(1-フルオロベンジル-1H-インダゾール-3-イル)-オキソメチリウムイオン( $m/z$ 253,  $C_{15}H_{10}FN_2O^+$ )とフルオロベンジルカチオン( $m/z$ 109)のイオン比を指標とすることにより、位置異性体の識別が可能であると報告している<sup>7)</sup>。FUB-JWH-018の場合CE20eVにおいて、(1-フルオロベンジル-1H-インダゾール-3-イル)-オキソメチリウムイオン( $m/z$ 252,  $C_{16}H_{10}FNO^+$ )の相対強度はAB-FUBINACA由来 $m/z$ 253と比して弱いものであったが、同じナフトイル基を持つフッ素位置異性体において、 $m/z$ 109/252のイオン比にそれぞれ明確な違い(1:0.49, 2:0.29, 3:2.11及び4:0.47, 5:0.28, 6:1.90)が観察された(図4A)。イオン比の順はAB-FUBINACAと同じく、パラ>オルト>メタであったことから、同法はFUB-JWH-018の位置異性体識別においても適用可能であった。一方、高CEによる測定では、6化合物とも、 $m/z$ 252を明確に与えなかつ

たため、同法による異性体識別には不適であった。

高CEによるLC-ESI-MS/MS測定においては、4種のプロダクトイオン( $m/z$ 127, 109, 83及び77)が主要なイオンピークとして観察された。CE80eV(図4B)においては、ナフトレンカチオン( $m/z$ 127)とフルオロベンジルカチオン( $m/z$ 109)のイオン比に、同じナフトイル基を持つフッ素位置異性体間で差異が認められた(図5)。CE80eVにおける $m/z$ 109/127のイオン比の順は、CE20eVにおける $m/z$ 109/252のイオン比と同じくパラ>オルト>メタであり、同測定結果からFUB-JWH-018の位置異性体識別が可能であった。

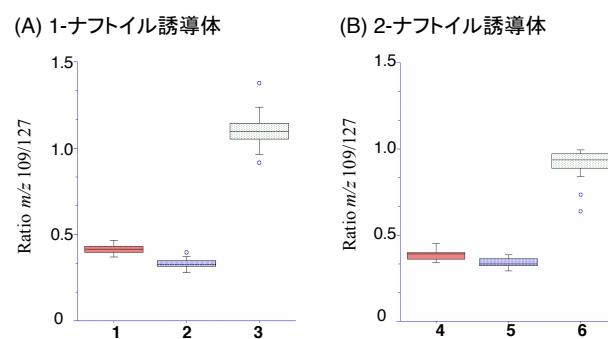


図5 プロダクトイオンスペクトル(CE 80 eV)における $m/z$ 109/127のイオン比<sup>6)</sup>。

### 4 まとめ

GC-MSによるEIマススペクトルは、フッ素原子の結合位置が異なる異性体間で酷似しており識別不能であったが、GC-EI-MS/MSを用いて分子イオン $m/z$ 379から水素ラジカルの脱離により生じた $m/z$ 378([ $M-H$ ]<sup>+</sup>)をプリカーサーイオンとして、プロダクトイオンスペクトルを取得することで、FUB-JWH-018と5種の異性体を識別することができた。さらに、分子イオンからヒドロキシラジカルが脱離した $m/z$ 362をプリカーサーイオンとするプロダクトイオンスペクトルからは、FUB-JWH-018とのフッ素原子の結合位置の違いをより明確に識別することができた。また、LCにおいてはPFPカラムを用いてすべての異性体のピーク分離を達成した。加えて、LC-MS/MSにおいて、プロトン付加分子である $m/z$ 380をプリカーサーイオンとして、得られたプロダクトイオンの強度を比較することで、すべての位置異性体の識別が可能であった。実際にFUB-JWH-018を含有する植物片形態の危険ドラッグ製品について、これらの方法を組み合わせて分析結果を検証したところ、当該製品に異性体は含まれていないことが確認された。

本邦における危険ドラッグ問題は鎮静化したと言われているが、今後も規制を逃れながら新たな薬物が国内に流入する可能性は高い。そのため、今後の流行を予

測して解析技術を開発することが不可欠である。しかし、多種多様な候補化合物に対して入手可能な標準品が限定されることと、データベースに未登録の新規出現化合物が雑多に存在することが化合物同定の足かせとなっている。新規薬物の出現と法的規制及び公的機関における標準品の整備は、今後もいたちごっこが続くであろう。この問題に対しては、規制候補化合物の化学構造に見られる部分構造を持つ化合物群を合成前駆体、すなわち「ビルディングブロックライブラリー」として整備し、それらの組み合わせにより、種々雑多な化合物を必要に応じて合成し、自家調達できる体制を整えることで、一定数の化合物の同定には対応可能であると考えられる。もう一つの問題として、構造識別上必要とされる分析機器が、公的検査機関において共通配置されていないことが挙げられる。このことは、規制化合物の質量分析データベースが多様な装置により構築・充実化される必要性を示している。本稿では、FUB-JWH-018 及びその異性体5種を取り上げ、GC-MS, GC-MS/MS, LC-MS/MS から得られた情報を集約し、異性体識別の判定に資した。

SCs に加えて、合成により製造されるカチノン類、フェネチルアミン類、及びフェンタニル誘導体にはパラ-フルオロベンジル基を持つ規制対象化合物が存在する。一部の化合物については異性体識別に関する基礎研究が進められてきたが、それらは規制薬物全体の一角である。また、麻薬に指定される一部のフェンタニル誘導体のように、未だに質量分析による構造識別に至っていない規制薬物も存在する。今後も標準品の整備に加えて、構造識別に資する鍵情報の蓄積と検査機関間で情報を共有することが求められるであろう。

## 文 献

- Underwood E: A new drug war. *Science*, 347, 469–473, 2015.

- Kohyama E, Chikumoto T, Tada H, Kitaichi K, Ito T: Analytical differentiation of quinolinyl- and isoquinolinyl-substituted 1-(5-fluoropentyl)-1*H*-indole-3-carboxylates: 5F-PB-22 and its ten isomers, *Forensic Toxicol*, 35, 56–65, 2017.
- Westphal F, Junge T: Ring positional differentiation of isomeric *N*-alkylated fluorocathinones by gas chromatography/tandem mass spectrometry, *Forensic Sci Int*, 223, 97–105, 2012.
- Kohyama E, Chikumoto T, Furukawa R, Suenami K, Kawashima H, Tada H, Nagai H, Soda M, Kitaichi K, Ito T: Regioisomeric differentiation of synthetic cannabinoids with an *N*-fluorobenzyl indole core by gas chromatography–tandem mass spectrometry, *Forensic Chem*, 6, 28–35, 2017.
- Chikumoto T, Furukawa R, Kohyama E, Suenami K, Nagai H, Tada H, Kawashima H, Kadomura N, Soda M, Kitaichi K, Ito T: Liquid chromatography–mass spectrometry studies on the isomeric 1-fluorobenzyl-3-naphthoyl-indoles: FUB-JWH-018 and five isomers, *Forensic Toxicol*, 37, 113–120, 2019.
- Chikumoto T, Kadomura N, Matsuhisa T, Kawashima H, Kohyama E, Nagai H, Soda M, Kitaichi K, Ito T: Differentiation of FUB-JWH-018 positional isomers by electrospray ionization–triple quadrupole mass spectrometry, *Forensic Chem*, 13, 2019, Article 100157, <https://doi.org/10.1016/j.frc.2019.100157>.
- Murakami T, Iwamuro Y, Ishimaru R, Chinaka S, Takayama N, Hasegawa H: Differentiation of AB-FUBINACA and its five positional isomers using liquid chromatography–electrospray ionization–linear ion trap mass spectrometry and triple quadrupole mass spectrometry, *Forensic Toxicol*, 36, 351–358, 2018.

## Fundamental Study on Identification of Designated Drugs and Differentiation of Fluorine Regioisomeric Compounds

Tetsuro ITO, Erina KOHYAMA, Takao CHIKUMOTO, Hiroyuki NAGAI, Takaharu IWAKI, Hiroyuki Tada,  
Ryoichi FURUKAWA\*, Hidenobu KAWASHIMA\*, Natsuki KADOMURA\*, Takaya MATSUHISA\*, Midori SODA\*,  
Kiyoyuki KITAICHI\*

*Gifu Prefectural Research Institute for Health and Environmental Sciences:*

*I-1, Naka-fudogaoka, Kakamigahara, Gifu, 504-0838, Japan*

*\*Gifu Pharmaceutical University: 1-25-4 Daigaku-nishi, Gifu, Gifu 501-1196, Japan*