

# GC/Q-TOF による 指定薬物 2-EAPB 代謝物の同定と検出



＜要旨＞ 急速に規制対象が増加する危険ドラッグ分析において、標準品、特に代謝物の標準品を入手するのは容易ではありません。本アプリケーションノートでは、ヒト肝ミクロソームを用いてある指定薬物の代謝物を作成し、GC/Q-TOF を用いてその組成と構造を決定しました。そして実際にその薬物を摂取したと思われる人の尿中からそれらの検出を試みました。

**Key Words:** GC/Q-TOF、PIC1、危険ドラッグ、指定薬物、代謝物、ヒト肝ミクロソーム、法医学

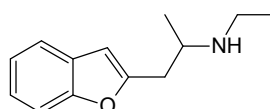
\*\*\*\*\*

## 1. はじめに

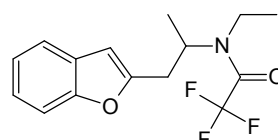
平成 26 年 4 月より旧薬事法が改正され、指定薬物はその所持や使用も規制対象となりました。その数は年々増加を続け、平成 28 年 1 月現在、2300 物質以上に上ります。薬物使用を証明するには血液や尿から未変化体または代謝物を検出する必要がありますが、代謝物が報告されている指定薬物は限られており、各薬物の主要な代謝物を予測しそれを検出する手段が求められています。

GC/Q-TOF は定性能力に優れた分析装置であり、EI TOF モードでのマススペクトルライブラリによる同定の他、正イオン化学イオン化 (Positive ion chemical ionization, PIC1) TOF モードによる分子組成式決定、さらに Q-TOF モードでの分子構造推定などを行うことができます。また、高分解能や MS/MS 機能を活かした選択性により、高マトリクスサンプル中のターゲット化合物を検出する能力にも優れています。ヒト肝ミクロソームは昔から代謝物の研究によく用いられており、緩衝液中で基質とともにインキュベートすることによってインビトロで代謝物を作成すること可能です。

本研究では、1-(Benzofuran-2-yl)-N-ethylpropan-2-amine (2-EAPB) (平成 27 年 1 月 30 日に指定薬物指定) をヒト肝ミクロソームで処理し、得られた反応生成物を GC/Q-TOF で同定しました。そして実際に 2-EAPB を摂取したと思われる人の尿中からそれらの検出を試み、代謝物として生成していることを確認しました。



2-EAPB  
分子組成式: C<sub>13</sub>H<sub>17</sub>NO  
分子量: 203.1310



2-EAPB TFA 誘導体  
分子組成式: C<sub>15</sub>H<sub>16</sub>F<sub>3</sub>NO<sub>2</sub>  
分子量: 299.1133



Table1 測定条件

装置: Agilent 7200 GC/Q-TOF  
 注入量: 1  $\mu$ L  
 カラム: HP-5ms (30m, 0.25mm, 0.25  $\mu$ m)  
 注入口温度: 250°C  
 注入法: スプリットレス  
 カラム流量: 1.5 mL/min (He, コンスタントフローモード)  
 GC オープン温度: 100°C (2min)  $\rightarrow$  10°C/min  $\rightarrow$  320°C (6min)  
 インターフェース温度: 280°C

イオン化法: PICI  
 イオン源温度: 200°C  
 試薬ガス: メタン (1mL/min)  
 四重極温度: 150°C  
 コリジョンガス: 窒素 (1.5mL/min)  
 測定モード: MS (TOF), Target MSMS (Q-TOF)

### 3. 結果及び考察

#### 3-1. 2-EAPB

2-EAPB (未変化体) TFA 誘導体の PICI マスペクトルと  $[M+H]^+$  のプロダクトイオンスペクトルを Fig. 1、Fig. 2 にそれぞれ示します。また、主要なプロダクトイオンの帰属を Fig. 3 に示します。

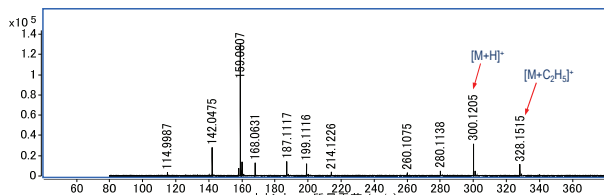


Fig. 1 2-EAPB-TFA の PICI マスペクトル

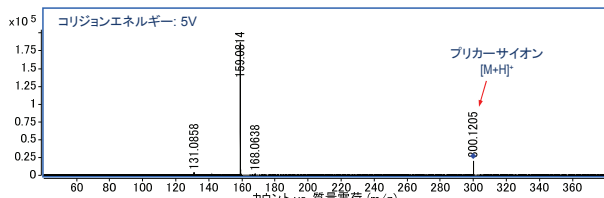


Fig. 2 2-EAPB-TFA の PICI プロダクトイオンスペクトル

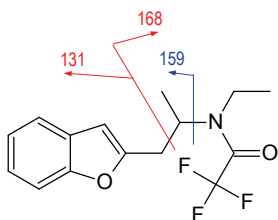


Fig. 3 2-EAPB-TFA の PICI プロダクトイオンスペクトルの帰属

#### 3-2. 2-EAPB ヒト肝マイクロソーム反応生成物

ヒト肝マイクロソーム反応生成物を探索した結果、代謝物と思われるピークが検出されました。それらを仮に A、B1、B2 および B3 とします。B1~B3 はそれぞれ位置異性体と思われます。TICC および各マスキングクロマトグラムを Fig. 4 に示します。

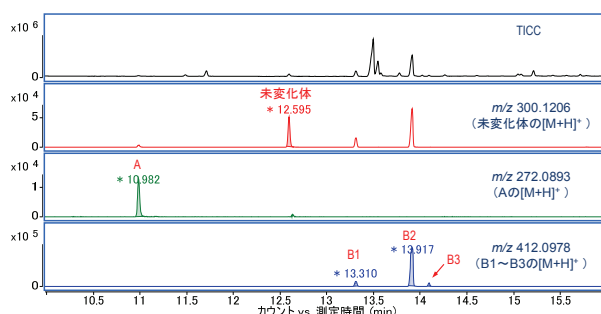


Fig. 4 2-EAPB ヒト肝マイクロソーム反応性生物のクロマトグラム (TICC とマスキングクロマトグラム)

A の TFA 誘導体の PICI マスペクトルを Fig. 5 に示します。メタン PICI に特有のパターンから  $[M+H]^+$  および  $[M+C_2H_5]^+$  が同定されました。

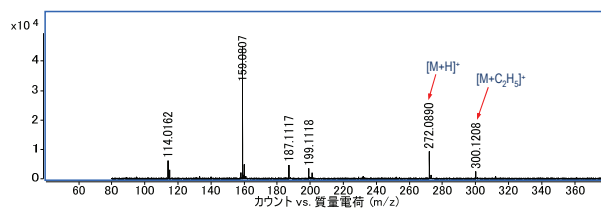


Fig. 5 A-TFA の PICI マスペクトル

$[M+H]^+$  から A の TFA 誘導体の分子組成式を計算した結果を Table2 に示します。C<sub>13</sub>H<sub>12</sub>F<sub>3</sub>NO<sub>2</sub> がスコア 98.87 でトップヒットしました。m/z の理論値との誤差は 1.23 ppm でした。

Table2 A-TFA の分子組成式計算結果

m/z	イオン式	イオン種	スコア (MS)	スコア (MFG)	スコア (DBE)
272.089	C <sub>13</sub> H <sub>12</sub> F <sub>3</sub> N O <sub>2</sub>	(M+H) <sup>+</sup>	98.97	99.94	7

m/z	m/z (Calc)	高さ (%)	高さ (%) (計算値)	Diff (mDa)	Diff (ppm)
272.089	272.0893	100	100	0.3	0.98
273.0929	273.0925	13.8	14.7	-0.4	-1.49
274.0994	274.0951	2.5	1.4	-4.3	-15.77

分子組成式から A は 2-EAPB 脱エチレン体の TFA 誘導体と考えられました。 $[M+H]^+$  のプロダクトイオンスペクトルを Fig. 6 に、主要なプロダクトイオンの帰属を Fig. 7 に示します。

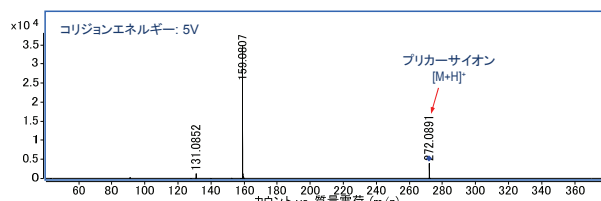


Fig. 6 A-TFA の PICI プロダクトイオンスペクトル

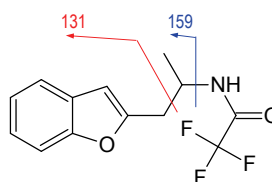


Fig. 7 A (脱エチレン体)-TFA の PICI プロダクトイオンスペクトルの帰属



プロダクトイオンスペクトルから A が 2-EAPB 脱エチレン体の TFA 誘導体であることに矛盾はありませんでした。

B1~B3 についてはスペクトル等にほとんど差が認められないことから、それぞれ位置異性体と考えられます。B1~B3 を代表して最も強度の大きい B2 について結果を示します。

B2 の TFA 誘導体の PICI マスペクトルを Fig. 8 に示します。メタン PICI に特有のパターンから  $[M+H]^+$  および  $[M+C_2H_5]^+$  が同定されました。

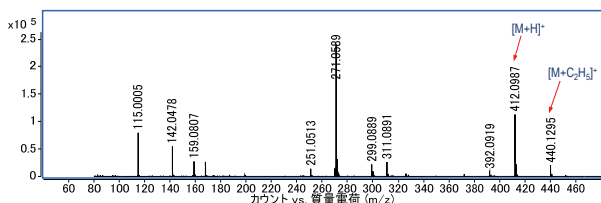


Fig. 8 B2-TFA の PICI マスペクトル

$[M+H]^+$  から B2 の TFA 誘導体の分子組成式を計算した結果を Table3 に示します。C<sub>17</sub>H<sub>15</sub>F<sub>6</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub> がスコア 97.85 でトップヒットしました。 $m/z$  の理論値との誤差は -2.17 ppm でした。

Table3 B2-TFA の分子組成式計算結果

ベスト	式	質量 (MFG)	スコア (MFG)	DBE	
C	C <sub>17</sub> H <sub>15</sub> F <sub>6</sub> N <sub>4</sub> O <sub>4</sub>	411.0905	97.85	8	
m/z	イオン式	イオン種	スコア (MS)	スコア (質量)	スコア (同位体, アバンダンス)
412.0987	C <sub>17</sub> H <sub>16</sub> F <sub>6</sub> N <sub>4</sub> O <sub>4</sub>	(M+H) <sup>+</sup>	97.85	96.65	99.85
m/z	m/z (Calc)	高さ%	高さ% (計算値)	Diff (mDa)	Diff (ppm)
412.0987	412.0978	100	100	-0.9	-2.17
413.1014	413.1011	19	19.1	-0.4	-0.85
414.1039	414.1036	2.8	2.5	-0.3	-0.84

分子組成式から B2 は 2-EAPB ヒドロキシル体の TFA 誘導体と考えられました。 $[M+H]^+$  のプロダクトイオンスペクトルを Fig. 9 に、主要なプロダクトイオンの帰属を Fig. 10 に示します。

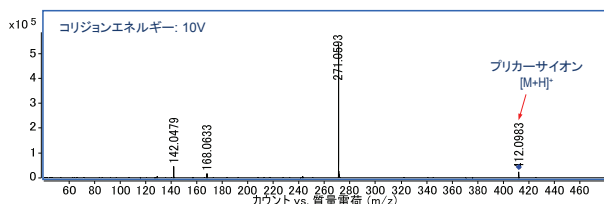


Fig. 9 B2-TFA の PICI プロダクトイオンスペクトル

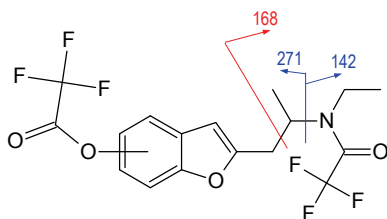


Fig. 10 B2 (ヒドロキシル体)-TFA の PICI プロダクトイオンスペクトルの帰属

プロダクトイオンスペクトルから B2 が 2-EAPB ヒドロキシル体の TFA 誘導体であることに矛盾はありませんでした。

### 3-3. 2-EAPB を摂取した人の尿

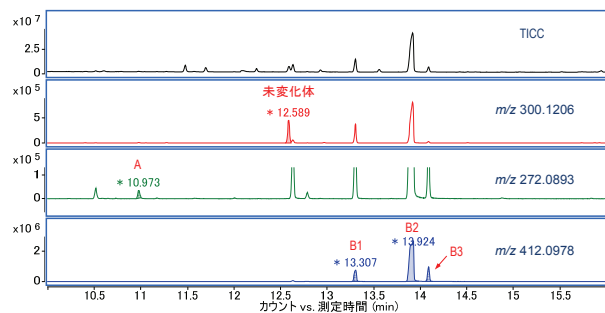


Fig. 11 2-EAPB を摂取した人の尿抽出物のクロマトグラム (TICC とマスキングクロマトグラム)

2-EAPB を摂取したと思われる人の尿抽出物について、未変化体、脱エチレン体およびヒドロキシル体の  $[M+H]^+$  に相当するマスキングクロマトグラムを描いたところ、それらすべてについて R. T. の一致するピークが確認されました (Fig. 11)。さらにマスペクトルおよび  $[M+H]^+$  のプロダクトイオンスペクトルを確認した結果、それらはヒト肝ミクロソーム反応生成物から同定されたピークのスペクトルと精密質量レベルで完全に一致し、薬物摂取が裏付けられました。

### 4. まとめ

GC/Q-TOF を用いて指定薬物 2-EAPB のヒト肝ミクロソーム反応生成物の定性を行いました。その結果、脱エチレン体およびヒドロキシル体を検出・同定しました。そして、その薬物を摂取したと思われる人の尿から同様の代謝物が検出されました。

本法は代謝物が明らかになっていない薬物や、代謝物の標準品が市販されていない薬物についてその摂取を裏付けるための有効な方法であることが示されました。

尚、本研究は GC/Q-TOF を所有する科学捜査研究所と共同で行いました。

#### 【GC-MS-2016020G-001】

アジレントは、本文書に誤りが発見された場合、また、本文書の使用により付随的または間接的に生じる障害について一切免責とさせていただきます。また、本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更することがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社  
〒192-8510 東京都八王子市高倉町 9-1  
www.agilent.com/chem/jp

