

氏名（本籍）	おお 太	た 田	ひこ 彦	と 人
学位の種類	博	士	（薬	学）
学位記番号	薬	博	第	289号
学位授与年月日	平	成	13	年3月26日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当			
研究科、専攻	東北大学大学院薬学研究科 （博士課程）製薬化学専攻			
学位論文題目	有機化学的手法の科学捜査への活用に関する研究			

論文審査委員

(主査)	教授 小笠原 國 郎	教授 後 藤 順 一
		教授 井 原 正 隆

論文内容要旨

犯罪現場の遺留品の科学的な分析により証拠資料を確保する捜査技術、すなわち科学捜査は、犯罪の組織化、巧妙化及び凶悪化に伴い、近年その重要性をますます高めている。特に、松本サリン事件（1994年6月27日）、地下鉄サリン事件（1995年3月20日）、オウム真理教のサリン密造疑惑あるいは1998年のヒ素カレー事件に始まる一連の毒物混入事件においては、いずれも科学捜査が捜査上重要な役割を果たしたことは記憶に新しい。しかし現在、科学捜査の現場では、自力で解決が困難な、深刻な問題点をいくつか抱えている。著者は、科学捜査に携わっている立場から、緊急な解決が望まれている以下の3種の課題の解決を目的として、有機化学的見地から本研究を行った。

① トリカブト毒の簡易検出法の確立：トリカブトによる死亡事故や事件は全国で発生しており、都道府県・地方自治体の検査機関でも簡便に行ない得る検査・分析法の確立が長い間望まれてきた。著者は、まず検査試料中のトリカブト毒 aconitine 類 (Fig.1, **1a**~**1e**) の捕捉法を検討し、固相抽出法による簡便な捕捉条件を確立した。次にトリカブト毒の高速液体クロマトグラフィー-紫外検出法 (LC-UVD) による簡易一斉分析法を検討し、THF-トリフルオロ酢酸系の移動相を用いる aconitine 類 (**1a**~**1e**) の良好な測定条件を見出した。本条件における標品の定量範囲は各アルカロイドとも絶対注入量で2.5~500ng ($\gamma > 0.999$) で、検出限界は1ng (S/N=3) であり、50ng注入時のCV値 ($n=7$) はいずれも9%以下であった。さらに先の固相抽出法とLC-UVDを組み合わせ、100ng/mlレベルまでの血液及び水溶液試料を分析し得る簡便な分析手法を確立した。本法において、全血試料2ml使用時、定量範囲は100ng/ml~10 μ g/mlであり、1 μ g/mlでの各アルカロイド回収率は94%以上、CV値 ($n=7$) は15%以下、さらに検出限界は50ng/ml (S/N=3) であった。これにより、飲み残し等の試料や、中毒レベルから重度の致死レベルまでの血液試料の簡便な検査が可能になった。

引き続き、今回開発した固相抽出法を高速液体クロマトグラフィー質量分析計 (LC-MS) と組み合わせることにより、煩雑な誘導体化操作なしに生体試料中の aconitine 類 (**1a**~**1e**) 及びその加水分解物 (Fig.1, **2a**~**2e** 及び **3a**~**3d**) を高感度に一斉分析し得る測定法の確立を検討した。イオン化法としてFABイオン化を用いると、全てのアルカロイドがフラグメンテーションなしにプロトン化分子イオンピークを基準ピークとして与え、さらに移動相にアセトニトリル-トリフルオロ酢酸グラジエント系を用いることにより、aconitine 類及び加水分解物14種が全て分離された。本LC-MS条件での定量範囲は絶対注入量で5pg~500pg ($\gamma > 0.997$)、検出限界は1pg (S/N=3) であり、50pg注入時のCV値 ($n=7$) は、溶媒先端近い mesaconine (**3b**) (27%) を除き10%前後と良好であった。本LC-MS条件を先の固相抽出法を組み合わせた場合、全血試料 (50ng/ml) についてはアルカロイド14種全て回収率70%以上で、溶媒先端近い mesaconine (**3b**) を除いてCV値 ($n=7$) が15%以下と、絶対検量線法としては極めて良好であった。尿試料 (20ng/ml) の場合、致死性の aconitine 類5種 (**1a**~**1e**) は回収率75%以上でCV値 ($n=7$) が12%以下と良好であった。加水分解物 (**2a**~**2e** 及び **3a**~**3d**) 回収率は50~75%程度であったが、CV値 ($n=7$) が7~12%と小さいため、実試料に適用可能と考えられた。全血2mlあるいは尿5ml使用時の定

量範囲は5~50ng/ml (全血) 及び2~20ng/ml (尿), 検出限界 (S/N=3) はそれぞれ全血で1ng/ml, 尿で0.5ng/mlと, 軽度の中毒や分解の進んだ試料を含め, あらゆる種類の生体試料分析が可能となった。これにより, 地方の検査機関のみで, 十分にトリカブトによる死亡事故や事件に対処出来るようになった。

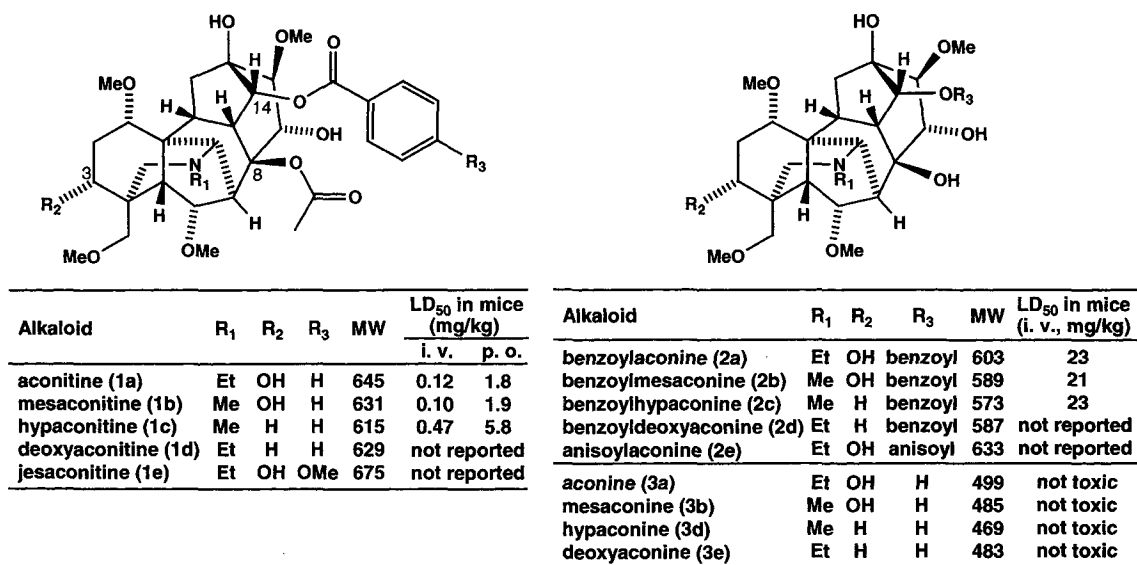


Fig. 1. The structure of *Aconitum* alkaloids (1a-1e), partial hydrolysis products (2a-2e) and final hydrolysis products (3a-3d).

② “Designer drug” の分析法の確立：近年, 規制あるいは禁止薬物の構造の一部を化学修飾して規制対象外とする, いわゆる designer drug の密造と乱用が顕著になっている。中でも, 合成麻酔薬 fentanyl (Fig.2, 4a) の designer drug は密造が容易で, かつ識別が困難なことで知られている。例えば, 欧米を中心に世界中に出回り, 多数の耽溺患者及び死者を出し社会問題となった “China White” は, その構造 (Fig.2, 4b) が決定されるまでに数年を要している。

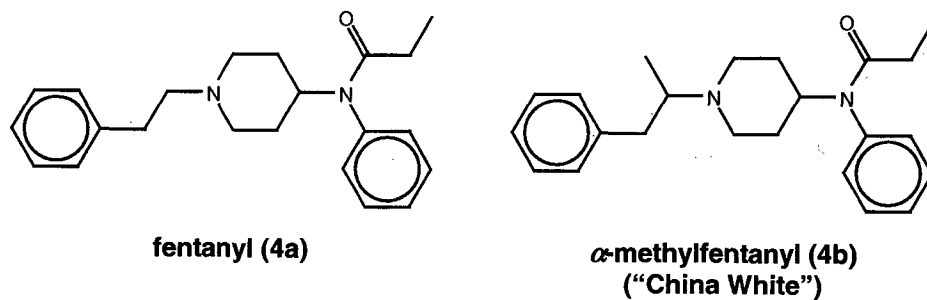


Fig. 2. Fentanyl and its designer drug.

このような背景から、著者はfentanylの designer drug 類の分析手法の確立を目的として、かつて押収歴があるか、もしくは合成報告があり、活性も報告され、かつ市販原料のみで合成可能なfentanyl類似体24種を合成し、fentanyl (4a) 自身と合わせて簡易分析法の確立を検討した。その結果、キャピラリーGC-MS、キャピラリーGC-FID + DI-MS、キャピラリーGC-FID + TLC、あるいはDI-MS + IR等、多くの検査機関が保有する機器の組み合わせによりfentanyl (4a) の designer drug 類は全て識別可能であることが判明した。これらのデータの活用により、今後、各関係機関でも、fentanylの designer drug に自力で対処ができることと期待される。

③ 指紋検出法の改善：フロン類の全廃は、遺留指紋検出に必須のninhydrin (Fig.3, 5) の溶媒となるCFC113の使用を不能にし、鑑識作業の重大な障害となっている。著者はフロンを要しない高脂溶性ninhydrin誘導体の開発によってこの問題の解決を求めた。その結果、ヘキサン中で使用が可能な5-alkoxyninhydrin類を見出し解決を図ることができた (Fig.3, 6a~6e)。これらのうち、5-methoxy-及び5-ethoxyninhydrin (Fig.3, 6a及び6b) のヘキサン溶液は、従来のninhydrin (5) のCFC113溶液に匹敵する潜在指紋呈色能力及び凌駕する蛍光検出能力を発揮した (Fig.4)。

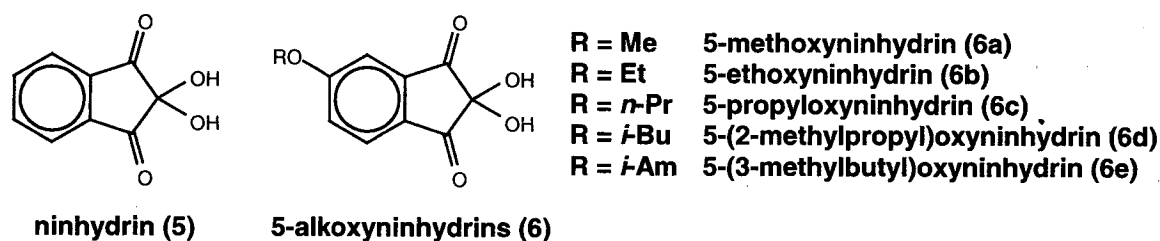


Fig. 3. The chemical structure of ninhydrin and 5-alkoxyninhydrins.

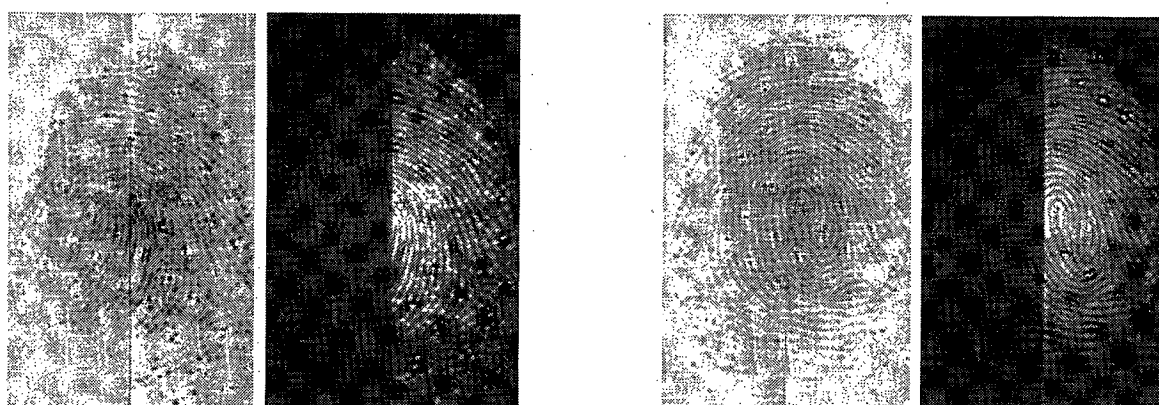


Fig. 4. Fingerprints visualized by coloration using ninhydrin-CFC113 solution and *n*-hexane solutions of 5-alkoxyninhydrins, and fluorescence ($\lambda_{ex} = 490$ (ninhydrin) or 505 (others) nm, $\lambda_{em} : 565$ nm) after treatment with $ZnCl_2$ at room temperature. (A) Coloration, left: ninhydrin, right: 5-methoxyninhydrin; (B) fluorescence, left: ninhydrin, right: 5-methoxyninhydrin; (C) coloration, left: ninhydrin, right: 5-ethoxyninhydrin; (D) fluorescence, left: ninhydrin, right: 5-ethoxyninhydrin.

指紋蛍光検出は、指紋呈色が不十分な場合に二次的に行われるが、従来のninhydrin (4) の場合は、室温下ではクエンチングにより蛍光が消光するため液体窒素冷却等が必要であり、現場鑑識作業を煩雑にしていた。しかしながら今回開発した5-methoxy-及び5-ethoxyninhydrin (5a 及び 5b) のヘキサン溶液は、室温下でも強い蛍光を示し、現場における指紋検出作業を極めて容易にすると考えられる (Fig.4)。このことは、フロンを要しないninhydrin類の開発という所期の目的を達成したのみならず、蛍光検出に優れた試薬の開発にも成功したことを意味する。

以上、本研究の成果は、有機化学的手法の活用によって、緊急な解決が望まれている3種の課題の全てについて解決の道を開き、今後の科学捜査の進歩と発展に資するものと期待される。

審査結果の要旨

犯罪捜査において、科学捜査の重要性は近年ますます高くなっている。特に、最近多数発生した毒物使用重大事件において、そのいずれについても科学捜査が捜査上重要な役割を果たしたのは記憶に新しいところである。

しかし現在、科学捜査の現場には、自力解決が困難な問題点が多数存在している。著者は、科学捜査に携わっている立場から、上記の中でも特に緊急な解決が必要とされている以下の三つの課題を選び、有機化学的見地から本研究を行っている。

第一の課題は、トリカブト毒の簡易検出法の確立である。トリカブト中毒事故や事件は全国で毎年発生し、地方検査機関でも簡便に行ない得る検査・分析法が長い間望まれてきた。そこで著者はまず、生体試料中のトリカブト毒の簡易捕捉法を検討し、固相抽出法による簡便な捕捉条件を確立した。次に著者はトリカブト毒について、誘導体化等の手間の不要な液体クロマトグラフィー（LC-UVD）による簡易分析法を確立した。これを先の固相抽出法と組み合わせることにより、地方検査機関等でも、飲み残し等の試料や、中毒レベルから重度の致死レベルまでの血液試料の自力検査が可能となった。さらに著者は、先に開発した固相抽出法を高速液体クロマトグラフ質量分析計（LC-MS）と組み合わせることにより、血液、尿試料を問わず、トリカブト毒及びその加水分解物を pg オーダーまで同時分析でき、軽度の中毒患者由来試料、分解の進んだ試料を含め、あらゆる種類の生体試料分析を可能とした。以上より、本研究は地方の検査機関のみで、十分にトリカブトによる死亡事故や事件に対処することが可能にするものであり極めて重大な意義を持つ。

次の課題は“designer drug”の簡易識別法及び構造決定法の確立である。近年、規制あるいは禁止薬物の構造の一部を化学修飾して規制対象外とする、いわゆる designer drug の密造と乱用が顕著になっている。中でも、合成麻酔薬 fentanyl の designer drug は密造が容易で、かつ識別が困難なことで知られている。著者は、今後押収の可能性のある fentanyl 類似体全てを合成し、fentanyl 自身と合わせて簡易分析法の確立を検討した。その結果、多くの検査機関が保有する機器を組み合わせることにより、fentanyl 類似体全てが識別可能であることを明らかにし、また分析条件を確立した。この成果は、今後関係各機関でも、新規に押収される fentanyl の designer drug に対し自力での対処を可能にしている。

三番目の課題は、指紋検出法の改善である。フロン類の全廃は、遺留指紋検出試薬 ninhydrin の溶媒の使用をも不能にし、鑑識作業の重大な障害となっている。著者はフロンを要しない高脂溶性 ninhydrin 誘導体の開発によってこの問題の解決を求めた。その結果、ヘキサン中で使用が可能な 5-alkoxyninhydrin 類を見出し解決を図ることができた。特に 5-methoxy-及び 5-ethoxyninhydrin のヘキサン溶液は、従来の ninhydrin のフロン溶液に匹敵する潜在指紋呈色能力、及び凌駕する蛍光検出能力を発揮した。これは、フロンを要しない ninhydrin 類の開発という所期の目的を達成したのみならず、より優れた独自の高性能試薬の開発にも成功したことを意味するものであり、特に賞賛に値するものである。

以上、著者は本研究の結果、有機化学的手法の活用によって、緊急な解決が望まれている三種の課題の

全てについて解決の道を開き、大きく今後の科学捜査の進歩と発展に資した。よって、本論文は博士（薬学）の学位論文として合格と認める。