—原著—

新規麻薬 *N*-ヒドロキシ-3,4-メチレンジオキシメタンフェタミンの代謝および尿中排泄

鎌田 徹, 片木宗弘, 中西啓子, 財津 桂, 志摩典明, 鎌田寛恵,
三木昭宏, 土橋 均

大阪府警察本部刑事部 科学捜査研究所
〒541-0053 大阪市中央区本町1-3-18

**Metabolism and Urinary Excretion of
N-Hydroxy-3,4-methylenedioxymethamphetamine, a Recently Banned
Narcotic in Japan**

Tooru Kamata, Munehiro Katagi, Keiko Nakanishi, Kei Zaitzu, Noriaki Shima,
Hiroe Kamata, Akihiro Miki and Hitoshi Tsuchihashi

*Forensic Science Laboratory, Osaka Prefectural Police H.Q.
1-3-18, Hommachi, Chuo-ku, Osaka 541-0053, Japan*

(Received 6 April 2009; accepted 29 July 2009)

The metabolism and urinary excretion of *N*-hydroxy-3,4-methylenedioxy-methamphetamine (*N*-OH MDMA), a newly banned narcotic in Japan, were explored to confirm biotransformation of *N*-OH MDMA to 3,4-methylenedioxy-methamphetamine (MDMA) and to discriminate between *N*-OH MDMA and MDMA intake in forensic urine analysis. The *in vitro* and the *in vivo* experiences were performed with human liver S9 and rats, respectively, and the resultant products or metabolites were determined using liquid chromatography/mass spectrometry and liquid chromatography/tandem mass spectrometry.

In both the *in vitro* and the *in vivo* experiences, MDMA and 3,4-methylenedioxyamphetamine (MDA) were detected, and the MDA levels exceeded the MDMA levels throughout the entire periods except for during 3 h after administration to the rats. This suggests the existence of the metabolic pathway(s) from *N*-OH MDMA to MDA not *via* MDMA. In urine samples from the administered rats parent *N*-OH MDMA and its demethylated metabolite *N*-hydroxy-3,4-methylenedioxyamphetamine (*N*-OH MDA) with very low levels during short period after administration (≤ 6 h) were detected. The ratios of the urinary MDA/MDMA levels for *N*-OH MDMA-administered rats were higher than those for MDMA-administered rats. In addition, the determination of urinary diastereomers of glucuronidated 4-hydroxy-3-methoxymethamphetamine (HMMA), MDMA metabolite, revealed that the relative peak intensity of *l*-HMMA-glucuronide to *d*-

* 本論文の内容は日本鑑識科学技術学会第14回学術集会発表における奨励賞を受賞した。

HMMA-glucuronide was higher in the case of N-OH MDMA-administration than in the case of MDMA-administration.

Detection of MDMA in both the *in vitro* and the *in vivo* experiences suggests that N-OH MDMA intake will result in MDMA excretion also in human urine. To discriminate between N-OH MDMA and MDMA intake the following view points would be applicable in urine analysis: 1) detection of N-OH MDMA and/or N-OH MDA, 2) MDA/MDMA ratio, and 3) peak intensities of diastereomeric HMMA-glucuronides.

Key words: N-Hydroxy MDMA, Metabolism, Urinary excretion, Discrimination

緒 言

N-ヒドロキシ-3,4-メチレンジオキシメタンフェタミン (N-OH MDMA; Fig. 1) は、麻薬である 3,4-メチレンジオキシメタンフェタミン (MDMA) のアミノ基に水酸基が導入された化合物で、用量 100–160 mg で、MDMA と同様の効果を示すとされている¹⁾。我が国では 2006 年頃から、MDMA の代替薬物として違法ドラッグ (いわゆる脱法ドラッグ) 市場で販売されるようになった²⁾。しかし、N-OH MDMA は麻薬と同種の有害作用および乱用の危険性が確認されたことから、2009 年 1 月より麻薬として法規制されている³⁾。

薬物乱用の取締りにおいては、各薬物の代謝経路や代謝様式を把握し、尿等の生体試料の分析法を確立することが必要不可欠である。しかし、N-OH MDMA の代謝に関する知見はこれまでほとんど報告されていない。一方、N-OH MDMA の類似化合物である N-ヒドロキシ-3,4-メチレンジオキシアニフェタミン (N-OH MDA) はラット体内で脱水酸化され、3,4-メチレンジオキシアニフェタミン (MDA) へと代謝されることが報告されている⁴⁾。そのため、N-OH MDMA を摂取した場合、その易分解性⁵⁾の面からも、尿中に MDMA が排泄される

ことが予想された。また、MDMA が代謝物として排泄される場合、尿試料中 MDMA の由来を特定することが不可欠となる。

そこで本研究では、ヒト肝 S9 を用いた *in vitro* 代謝実験を行うとともに、N-OH MDMA 投与ラット尿中代謝物を探索し、N-OH MDMA 摂取者尿中への MDMA 排泄の可能性について検討した。さらに、ヒト *in vitro* およびラット *in vivo* 代謝実験の結果から、尿鑑定における MDMA 摂取と N-OH MDMA 摂取との識別法についても検討を行った。

材料および方法

1 試薬および材料

ヒト肝 S9 には、BD Biosciences 社製 BD Gentest プールドヒト肝 S9 (Lot Number 13238) を用いた。トリス (ヒドロキシメチル) アミノメタンは和光純薬製の生化学用試薬を、その他の試薬は和光純薬製の特級試薬を用いた。ラットは、日本エスエルシーより Wistar 系雄性ラットを購入し、Tecniplast 社製代謝ケージ内で一週間馴化させた後に用いた。

N-OH MDMA および N-OH MDA は、それぞれヒドロキシメチルアミンおよびヒドロキシルアミンとピペロニルメチルケトンから、既報^{1,6)}にしたがって還元アミノ化により合成し、いずれも塩酸塩として精製した。

MDMA, MDA, 4-ヒドロキシ-3-メトキシメタンフェタミン (HMMA) および HMMA-硫酸抱合体は、既報⁷⁻¹⁰⁾にしたがい合成した。d-HMMA-グルクロン酸抱合体および l-HMMA-グルクロン酸抱合体は、Pizarro *et al.* の方法¹¹⁾にしたがって d-

Fig. 1 Structure of N-OH MDMA.

HMMA および *l*-HMMA を合成後、さらに既報¹⁰⁾にしたがってグルクロン酸抱合体とした。

10 mM ギ酸アンモニウム (pH 3.5) は、10 mM ギ酸アンモニウム水溶液にギ酸を添加して、100 mM トリス緩衝液 (pH 7.4) は、100 mM トリス (ヒドロキシメチル) アミノメタン水溶液に濃塩酸を添加して、それぞれ作製した。

2 装 置

液体クロマトグラフィー/質量分析 (LC/MS) および液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析 (LC/MS/MS) は、Agilent Technologies 社製 1100 ポンプを接続した、Waters 社製 QuattroLC を用いて行った。カラムは、化学物質評価研究機構製 L-column2 ODS (内径 1.5 mm × 150 mm, 粒子径 5 μ m) を用いた。移動相はメタノール-10 mM ギ酸アンモニウム系グラジエント (メタノール濃度: 5% → 95%, 2.25%/min), 流速は 0.1 ml/min とした。コーン電圧は 20 V, キャピラリー電圧は 2.5 kV とした。コリジョンガスにはアルゴンを用い、コリジョンエネルギーは 15 eV とした。

3 定量分析

定量分析は、LC/MS/MS の選択反応モニタリング (SRM) モードで内部標準法により行った。各成分の SRM トランジションは以下のとおりとした。N-OH MDMA: 210 > 163; N-OH MDA: 196 > 163; MDMA: 194 > 163; MDA: 180 > 163; HMMA: 196 > 165; ジベンジルアミン (内部標準): 198 > 98。なお、検出限界はいずれも尿中濃度で 0.003 μ M であった。

4 ヒト *in vitro* 代謝実験

反応液は、ヒト肝 S9 を酵素源とし、100 mM トリス緩衝液 (pH 7.4) を用いて、プラスチックチューブ中で作製した。反応液中のタンパク質濃度は 2 mg/ml, 基質濃度は 10 μ M とし、空試験には、S9 に代えて同量の 100 mM トリス緩衝液 (pH 7.4) を加えた液を用いた。

基質添加前の反応液を 37°C で 5 分間プレインキュベートした後、基質を添加して反応を開始し、37°C

でインキュベートした。インキュベーション時間は 0, 30, 60 および 120 分間とし、繰り返し回数は 2 回とした。反応停止は、二倍量の氷冷メタノールを添加することで行った。

メタノールを添加した反応液を氷上に 5 分間保った後、内部標準としてジベンジルアミンを 25 μ g/ml になるように加え、1500 × g で 5 分間遠心した。得られた上清を、孔径 0.22 μ m のメンブレンフィルターに通じた後、その 5 μ l を LC/MS および LC/MS/MS により分析した。

5 ラット *in vivo* 代謝実験

24 時間絶食させた雄性ラット (8 週令) 各 2 個体に、N-OH MDMA 塩酸塩 (ラット #1 および #2) あるいは MDMA 塩酸塩 (ラット #3 および #4) を、体重 1 kg あたり 5 mg 腹腔内投与した。その後、絶食状態を維持しながら、予め pH 調整のための酢酸 50 μ l および雑菌繁殖防止のためのトルエン 50 μ l を加えた採尿容器へ、氷冷下で蓄尿した。給水は全期間を通じて自由に行った。投与後 48 時間まで経時的に尿を回収し、得られた尿試料は使用直前まで -20°C で保存した。

尿試料の前処理は、メタノールを用いて行った。解凍した尿試料を 100 μ l とり、メタノール 300 μ l を加えて混和した後、1500 × g で遠心した。上清を回収し、50°C、窒素気流下で蒸発乾固した。得られた残渣を 10 μ g/ml ジベンジルアミン水溶液に溶解したものを、孔径 0.22 μ m のメンブレンフィルターに通じた後、その 5 μ l を LC/MS および LC/MS/MS により分析した。

結果および考察

1 ヒト *in vitro* 代謝実験

N-OH MDMA を基質とし、S9 存在下で 60 分間インキュベートした反応液について、LC/MS および LC/MS/MS により生成物の探索を行ったところ、MDMA および MDA の生成が認められた。なお、空試験ではそれらは検出されなかった。このことから、MDMA および MDA は N-OH MDMA から酵素反応により生成したものと考えられる。

各インキュベーション時間での、反応液中の N-

Fig. 2 Time course of substrate and product level in *in vitro* metabolism experience with human liver S9 using N-OH MDMA (A) and MDMA (B) as substrate.

OH MDMA, MDMA および MDA の定量分析を LC/MS/MS により行ったところ, それらの濃度の経時変化は Fig. 2A のとおりであった. インキュベーション時間に依存する, 基質である N-OH MDMA の減少ならびに MDMA および MDA の増加が観察され, 120 分間インキュベーション後には N-OH MDMA は検出されなかった. 各時点での MDA の濃度は, MDMA 濃度の 5.9–9.0 倍であり, 120 分間のインキュベーションで生成した MDA は基質である N-OH MDMA の 67%, MDMA は同じく 11% に相当していた. 一方, MDMA を基質とした場合は, 120 分間インキュベーション後でも MDA は検出されず, 基質である MDMA は 93% が残存していた (Fig. 2B).

上記の N-OH MDMA を基質とした実験の結果から, ヒト体内において N-OH MDMA は, MDMA および MDA へと代謝されることが示唆された. また, 反応液中 N-OH MDMA の減少は, MDMA を基質とした場合の MDMA の減少と比較して非常に早かった. したがって, 生体試料では未変化体が主要な分析対象となる MDMA と異なり, 摂取された N-OH MDMA は極めて速やかに代謝され, 未変化体を生体試料から検出することは容易ではないと予想された. また, MDMA を基質とした実験では, 120 分間のインキュベーションで MDA が検出されなかったことから, N-OH MDMA から MDMA を経由して生成する MDA はごくわずかであると考えられるが, N-OH MDMA

を基質としたときに生成した MDA は, MDMA よりもはるかに高濃度であった. このことから, 生成した MDA の大部分が, MDMA を経由しない経路によるものであったと考えられる. そのような経路として, N-OH MDMA のヒドロキシルアミノ基が脱水によりイミン体となり, さらに加水分解されて MDA とホルムアルデヒドを生ずる経路が予想されるが, その存在を確認するためには今後の検討が必要である.

なお, いずれの実験でも, 120 分間インキュベーション後の検出成分の総量は, 反応前の基質量よりも少なかったが, その理由として, 基質が他の経路でも代謝された, あるいは代謝物がさらに代謝を受けた可能性が考えられる. また, MDMA 摂取者尿から通常検出される MDA が, MDMA を基質とした実験で検出されなかったのは, S9 の酵素活性の低さがひとつの要因であると考えられる.

2 ラット *in vivo* 代謝実験

(1) 第 I 相代謝

N-OH MDMA 投与後 1 時間の尿試料について, LC/MS および LC/MS/MS による成分分析を行ったところ, いずれのラットにおいても, 未変化体, N-OH MDA, MDMA, MDA および HMMA が検出された (Fig. 3 に, ラット #1 から得られたクロマトグラムを示す). 各尿試料について, LC/MS/MS によるそれらの成分の定量分析を行った結果は, Table 1A のとおりであった. 未変化体は, 投与後 3 時間までの尿試料で検出可能であった. また, 投

Fig. 3 MRM chromatograms obtained from the urine specimen of rat #1 collected at 1 h after N-OH MDMA-administration.

与後 6 時間以上の尿では、MDA が MDMA よりも高濃度であり、ヒト *in vitro* 代謝実験の結果と同様の傾向を示した。

この *in vivo* 代謝実験の結果から、①ラット体内でも N-OH MDMA から MDMA が生成すること、②ラット体内で N-OH MDMA の一部が脱メチル化を受けること、③ N-OH MDMA は未変化体としても尿中へ排泄されることが明らかとなった。Ravis *et al.*⁴⁾ は、N-OH MDA を用いた *in vitro* および *in vivo* 代謝実験の結果から、ラット体内で N-OH MDA が速やかに MDA へと変換されることを示しているが、本研究でも、N-OH MDMA 投与ラット尿中未変化体濃度は、MDMA やその代謝物である HMMA の濃度よりもはるかに低かった (Table 1A)。したがって、生体内における脱水酸化は、N-ヒドロキシフェネチルアミン類が共通して受ける、非常に速い反応であることが予想される。なお、N-OH MDMA の脱水酸化を触媒する可能性のある酵素としては、Clement *et al.*¹²⁾ が報告している benzamidoxime reductase が挙げられるが、今後、関与する酵素の特定が望まれる。

一方、MDMA を投与した場合の尿中 MDMA、MDA および HMMA 濃度は Table 1B のとおりであった。MDA 濃度は、高いものでも MDMA 濃度と同程度であり、MDA が高濃度に検出された、N-OH MDMA 投与の場合と大きく異なる傾向を示した。各ラットにおける MDMA および MDA の尿中排泄傾向を、MDA 濃度/MDMA 濃度比として表

Fig. 4 Time course of urinary MDA/MDMA ratio in N-OH MDMA- or MDMA-administered rats.

した場合の経時変化を Fig. 4 に示す。N-OH MDMA 投与群では、投与直後を除いて、濃度比は常に 1.5 以上であり、MDMA 投与群では 1.1 以下であった。このことから、ラット体内においても、N-OH MDMA から MDMA を経由せずに MDA が生成する経路が存在すると予想され、尿中 MDA 濃度/MDMA 濃度比が、摂取薬物識別の指標となる可能性が示された。

(2) 第Ⅱ相代謝

N-OH MDMA、N-OH MDA は水酸基を有し、それぞれ抱合体としても尿中へ排泄されている可能性が考えられたため、N-OH MDMA 投与ラット尿抽出物について LC/MS を行い、各抱合体のプロトン

Table 1 Urinary concentrations of N-OH MDMA, MDMA, and their metabolites in rat *in vivo* experience.

rat #	Time after administration (h)	Concentration (μM)				
		N-OH MDMA	N-OH MDA	MDMA	MDA	HMMA
A: N-OH MDMA-administration						
#1	1	0.013	0.027	15.9	9.45	0.874
	6	trace	n.d.	38.4	71.1	2.15
	10.5	n.d.	n.d.	14.3	32.0	1.75
	12	n.d.	n.d.	0.730	2.54	0.199
	15	n.d.	n.d.	0.150	0.397	trace
	21	n.d.	n.d.	0.606	1.19	0.099
	27	n.d.	n.d.	0.311	0.598	0.228
	36	n.d.	n.d.	0.313	0.900	0.180
	48	n.d.	n.d.	trace	trace	n.d.
#2	1	0.190	0.094	18.9	6.93	0.670
	3	0.010	trace	34.0	29.2	1.01
	6	n.d.	n.d.	24.9	37.4	2.01
	9	n.d.	n.d.	3.20	5.78	0.347
	12	n.d.	n.d.	0.0811	0.254	n.d.
	15	n.d.	n.d.	0.201	0.494	trace
	21	n.d.	n.d.	0.064	0.179	trace
	27	n.d.	n.d.	trace	trace	trace
	36	n.d.	n.d.	trace	trace	n.d.
	48	n.d.	n.d.	0.089	0.217	n.d.
B: MDMA-administration						
#3	1	—	—	8.67	n.d.	0.060
	5	—	—	212	37.2	1.11
	10.5	—	—	28.2	30.8	1.03
	14	—	—	2.84	2.47	0.094
	21	—	—	0.224	0.160	trace
	27	—	—	1.75	0.535	0.070
	36	—	—	0.180	trace	0.057
	48	—	—	0.230	0.240	0.041
#4	2	—	—	47.5	3.17	0.316
	9	—	—	78.2	40.5	1.15
	14	—	—	1.77	1.09	0.035
	21	—	—	0.110	0.120	0.062
	27	—	—	0.160	0.110	0.041
	36	—	—	0.170	n.d.	0.037
	48	—	—	0.222	0.140	0.062

n.d.: not detected

化分子に相当するマスキロマトグラムを作成して、それら抱合体を探索したところ、N-OH MDMA、N-OH MDA の抱合体に相当するピークは見られなかった。一方、MDMA の代謝物としてラット尿中へ排泄されることが知られている、HMMA のグル

クロン酸抱合体および硫酸抱合体は、N-OH MDMA 投与ラット尿からも検出された。HMMA-グルクロン酸抱合体については、Shima *et al.* の方法¹⁰⁾を一部改変した今回の分析条件により、*dl*-体である N-OH MDMA が代謝されて生じた、シア

ステレオマーの関係にある *d*-HMMA-グルクロン酸抱合体と *l*-HMMA-グルクロン酸抱合体とが分離して検出された。それらのピーク強度比を、MDMA (*dl*-体) 投与ラット尿中 HMMA-グルクロン酸抱合体のピーク強度比と比較したところ、Fig. 5 のように違いが見られ、投与後 1 時間では、*N*-OH MDMA 投与で *l*-体の抱合体のピークが *d*-体の抱合体のピークよりも強かったのに対し、MDMA 投与では 2 本のピークの強度が同程度であった。各尿試料中 HMMA-グルクロン酸抱合体のピーク強度比を観察したところ、投与からの時間が長くなるにしたがって、*N*-OH MDMA 投与では 2 本のピー

Fig. 5 SRM chromatograms of urinary HMMA-glucuronides obtained from *N*-OH MDMA-administered rat #1 (A) and MDMA-administered rat #3 (B) at 1 h after administration. *d*-: *d*-HMMA-glucuronide; *l*-: *l*-HMMA-glucuronide; SRM transition: m/z 372 > 165.

クの強度差が縮まったが、強度の高低が逆転することにはなかった。一方、MDMA 投与では、*d*-体の抱合体のピークが *l*-体の抱合体のピークよりも強く検出されるようになり、*l*-体の抱合体のピークの方が強く検出される尿試料はなかった。したがって、*l*-体の抱合体のピークが *d*-体の抱合体のピークよりも強いという現象は、*N*-OH MDMA 投与でのみ見られることが明らかとなった。これらの結果から、*N*-OH MDMA と MDMA とでは、*d*-体と *l*-体の代謝速度のちがいに比較的大きな差があると考えられ、HMMA-グルクロン酸抱合体のピーク強度比も摂取薬物識別の指標となる可能性が示された。

3 ヒトにおける代謝・尿中排泄と摂取薬物識別法の検討

ヒト *in vitro* およびラット *in vivo* の代謝実験いずれにおいても、*N*-OH MDMA からの MDMA および MDA の生成が見られたことから、ヒト体内においても、*N*-OH MDMA は MDMA および MDA へ代謝されると考えられる (Fig. 6)。また、*N*-OH MDMA 投与ラット尿から検出された代謝物である *N*-OH MDA が、摂取者尿においても検出される可能性がある。したがって、被疑者尿試料から MDMA が検出された場合、その由来を検討するためには、*N*-OH MDMA および *N*-OH MDA を分析対象に加えることが必要である。ただし、ラット *in vivo* 代謝実験の結果から、*N*-OH MDMA および *N*-OH MDA の検出期間は、MDMA や MDA と比較して非常に短いことが予想される。そのため、尿中 *N*-OH MDMA や *N*-OH MDA の検出に

Fig. 6 An expected metabolic pathway for *N*-OH MDMA.

よって、N-OH MDMA 摂取を明確にすることができるのは、摂取後間もない場合に限られると考えられる。

本研究では、N-OH MDMA を母化合物とした場合、特にヒト *in vitro* 代謝実験で、MDMA を母化合物とした場合よりも高比率に MDA が生成することも示された (Fig. 2 および 4)。したがって、N-OH MDMA 摂取者でも、MDMA 摂取の場合に比べて、MDA が高濃度に尿へ排泄されることが期待される。このことから、尿試料中 MDMA および MDA の定量分析を行い、その濃度比を観察することが、N-OH MDMA 摂取と MDMA 摂取との識別において、有用な情報を与えると思われる。特にこの MDA と MDMA の濃度比は、ラット *in vivo* 代謝実験では投与後 48 時間の尿試料でも明確な差が見られたことから、摂取から採尿までの時間の長い試料においても摂取薬物を識別する指標となる可能性が高い。ヒトにおける MDMA の尿中排泄については、これまでにいくつかの報告¹³⁻¹⁸⁾が見られ、乱用者尿中 MDMA および MDA 濃度では、Zhao *et al.* が 34 名の乱用者から得られた尿試料で、MDMA が 71–140400 ng/ml (0.4–727 μ M)、MDA が 0–7671 ng/ml (0–43 μ M) であったとしており¹⁷⁾、Shima *et al.* は 25 名分の尿試料から、10.7–694 μ M の MDMA および 1.50–45.3 μ M の MDA が検出されたことを報告している¹⁸⁾。それらの試料の MDA 濃度 / MDMA 濃度比は 0.01–0.28 (平均 0.08) と算出され、これらの値が、N-OH MDMA 摂取と MDMA 摂取とを識別する上で、ひとつの目安になると思われる。

また、投与ラット尿で母化合物によってピーク形状が異なることが観察された、HMMA–グルクロン酸抱合体は、ヒトにおいても MDMA の代謝物として尿中へ排泄されることが知られている¹⁰⁾。したがって、尿試料中 HMMA–グルクロン酸抱合体のピーク強度比も、摂取薬物の識別の指標となることが期待される。同抱合体のピーク強度比による摂取薬物の識別は、MDA 濃度 / MDMA 濃度比では識別ができない、摂取直後の尿試料にも適用されうる点でも、非常に有用であると考えられる。

文 献

- 1) Shulgin, A. and Shulgin, A.: Pihkal, A Chemical Love Story. pp. 671–674, Transform Press, Berkeley (1991).
- 2) 内山奈緒子, 花尻 (木倉) 瑠理, 川原信夫, 合田幸広: 2006 年度買い上げ違法ドラッグ製品から検出されたデザイナードラッグ成分の NMR を中心とした分析. 薬学雑誌, **128** 1499–1505 (2008).
- 3) 平成 20 年 12 月 17 日政令第 385 号
- 4) Ravis, W. R., Valaer, A. K., Brzozowski, D. and Clark, C. R.: The pharmacokinetics and liver metabolism of *N*-hydroxy-3,4-methylenedioxyamphetamine (N-OH MDA) in rats. *Life Sci.*, **54** 519–524 (1994).
- 5) Noggle, F. T., Clark, C. R., DeRuiter, J. and Cain, P.: Analytical properties of *N*-hydroxy-3,4-methylenedioxymethamphetamine (“FLEA”), a potential new street drug. *Microgram*, **24** 10–15 (1996).
- 6) Shulgin, A. and Shulgin, A.: Pihkal, A Chemical Love Story. pp. 744–747, Transform Press, Berkeley (1991).
- 7) Shulgin, A. and Shulgin, A.: Pihkal, A Chemical Love Story. pp. 733–739, Transform Press, Berkeley (1991).
- 8) Shulgin, A. and Shulgin, A.: Pihkal, A Chemical Love Story. pp. 714–719, Transform Press, Berkeley (1991).
- 9) Lim, H. K. and Foltz, R. L.: In vivo and in vitro metabolism of 3,4-(methylenedioxy) methamphetamine in the rat: identification of metabolites using an ion trap detector. *Chem. Res. Toxicol.*, **1** 370–378 (1988).
- 10) Shima, N., Kamata, H., Katagi, M., Tsuchihashi, H., Sakuma, T. and Nemoto, N.: Direct determination of glucuronide and sulfate of 4-hydroxy-3-methoxymethamphetamine, the main metabolite of MDMA, in human urine. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life*

- Sci.*, **857** 123–129 (2007).
- 11) Pizarro, N., de la Torre, R., Farré, M., Segura, J., Llebaria, A. and Joglar, J.: Synthesis and capillary electrophoretic analysis of enantiomerically enriched reference standards of MDMA and its main metabolites. *Bioorg. Med. Chem.*, **10** 1085–1092 (2002).
 - 12) Clement, B., Behrens, D., Möller, W. and Cashman, J. R.: Reduction of amphetamine hydroxylamine and other aliphatic hydroxylamines by benzamidoxime reductase and human liver microsomes. *Chem. Res. Toxicol.*, **13** 1037–1045 (2000).
 - 13) Verebey, K., Alrazi, J. and Jaffe, J. H.: The complications of ‘ecstasy’ (MDMA). *JAMA*, **259** 1649–1650 (1988).
 - 14) Maurer, H. H.: On the metabolism and the toxicological analysis of methylenedioxyphenylalkylamine designer drugs by gas chromatography-mass spectrometry. *Ther. Drug Monit.*, **18** 465–470 (1996).
 - 15) Helmlin, H. J., Bracher, K., Bourquin, D., Vonlanthen, D. and Brenneisen, R.: Analysis of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) and its metabolites in plasma and urine by HPLC–DAD and GC–MS. *J. Anal. Toxicol.*, **20** 432–440 (1996).
 - 16) de la Torre, R., Farré, M., Ortuño, J., Mas, M., Brenneisen, R., Roset, P. N., Segura, J. and Camí, J.: Non-linear pharmacokinetics of MDMA (‘ecstasy’) in humans. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **49** 104–109 (2000).
 - 17) Zhao, H., Brenneisen, R., Scholer, A., McNally, A. J., ElSohly, M. A., Murphy, T. P. and Salamone, S. J.: Profiles of urine samples taken from ecstasy users at rave parties: analysis by immunoassays, HPLC, and GC–MS. *J. Anal. Toxicol.*, **25** 258–269 (2001).
 - 18) Shima, N., Katagi, M., Kamata, H., Zaitu, K., Kamata, T., Nishikawa, M., Miki, A., Tsuchihashi, H., Sakuma, T. and Nemoto, N.: Urinary excretion of the main metabolites of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA), including the sulfate and glucuronide of 4-hydroxy – 3 – methoxymethamphetamine (HMMA), in humans and rats. *Xenobiotica*, **38** 314–324 (2008).