モルヒネとヘロインの法中毒学

小栗一太, 吉村英敏

九州大学薬学部

Forensic Toxicology of Morphine and Heroin

KAZUTA OGURI and HIDETOSHI YOSHIMURA

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University,

3-1-1 Maidashi, Higashi-ku, Fukuoka 812, Japan

Recent progress of forensic toxicology of morphine and heroin, and of the boundary area was reviewed. Topics included in this review were 1) opioid peptides, 2) opioid receptors, 3) endogenous morphine, 4) metabolism of morphine: glucuronidation, sulfate conjugation, *N*-demethylation and dehydrogenation, 5) pharmacological activity of morphine conjugates, 6) metabolism of heroin, 7) analytical methods of morphine and heroin for forensic toxicological purpose.

Keywords—forensic toxicology; morphine; heroin; opioid peptide; opioid receptor; morphine glucuronide; morphine etherial sulfate; normorphine; gas chromatography; HPLC

1. はじめに

17世紀の医師 Sydenham は“全能の神が人間に与えた鎮痛薬のうちアヘンほどに優れた効能をもつものはない”と記しているという。19世紀初頭 Sertürner¹⁻³⁾ がアヘンの有効成分としてモルヒネの単離について報告して以来, この世紀の中頃にはアヘン製剤よりもモルヒネの方が広く使われるようになった。この時代, アメリカの南北戦争後にはすでにモルヒネの依存性が社会的な問題となっている。以来, 依存性のない強力鎮痛薬を開発するための数多くの試みがなされてきたが, 理想的な鎮痛薬はまだ見出されていない。ヘロインは皮肉にも依

存性のない鎮痛薬として1890年に世に紹介されたものである。今日, ヘロインは欧米, 中近東, 東南アジアなど世界各地でその乱用が社会的な問題となっており, その規制あるいは患者の治療と更生に費される出費は莫大なものである。最近アメリカでは“China White”とよばれる methyl fentanyl 類がヘロインに代わる強力な不正麻薬として登場してきて憂慮された事件があった (Fig. 1.)⁴⁾ しかし, Table I に示すように全世界の乱用薬物の押収量の内, アヘン, モルヒネ, ヘロインなどの麻薬の占める割合は大麻について多く, 世界的には麻薬は依然として憂慮すべき状況にあるといえる。⁵⁾ わが国ではヘロイ

TABLE I. Seized Drugs of Abuse in the World

	1980	1981	1982
Opium	51786 ^{a)}	54452	45753
Morphine	1495	1903	2202
Heroin	2510	5613	6153
Other opium narcotics	34	5	10
Synthetic narcotics	15	22	67
Cocain	11820	9541	12092
Coca leaves	41058	6435	9446
Marihuana	5433732	5170684	6222009
Hashish	171750	291493	224295
Amphetamines	736	653	1470
LSD	0.447	0.111	0.233

Modified from the table in reference 5.

a) Unit of the figure is kg.

Fig. 1. Abused Derivatives of Fentanyl

ンの乱用は薬物乱用の第2期，すなわち第2次世界大戦直後の覚せい剤のあと，昭和33年頃から増加しはじめ昭和36年におけるヘロイン事犯は2265名に上っている。しかし，第3期の覚せい剤の乱用が続いている今日では，わが国のヘロインの乱用はほぼ撲滅されたといえる。昭和58年度の統計では覚せい剤事犯 23635 名に対してヘロイン関係は22名である。

ヘロインの医療用の使用を認めている国は限られるが，モルヒネは今日でも最も消費量の多い強力鎮痛薬である。最近，モルヒネ様の作用をもつ物質を意味するオピオイドをめぐる研究分野は非常に勢いで進展しつつあり，またそれらを分析する手段もめざましい進歩を遂げつつある。これらの新しい知見はモルヒネ及びヘロインの法中毒学あるいはそれらの臨床毒性学にも重要な意義をもっていると考えられるので，本稿ではそれらについて触れるとともに，モルヒネ及びヘロインの作用発現機構，代謝及び分析方法の最近の知見について述べることにする。

2. オピオイドの作用機構

モルヒネ様の作用をもつオピオイドペプチドとその作用部位であるオピオイドレセプターが発見されたことを契機として，麻薬の薬理学的，生理学的あるいは生化学的研究は急速に発展してきた。ここでいうオピオイドとは，オピオイドペプチドと従来の麻薬性及び麻薬拮抗性の鎮痛薬を総称する意味に使われている。それはアヘンを意味するオピウム (opium) に由来しており，オピエ

ート (opiate) と呼ばれることもあるが，現在ではオピオイド (opioid) の方が広く使われている。最近基礎的な学問分野では麻薬という言葉は過去のものとなりつつあるが，法中毒学では乱用されるオピオイドを対象としていることから，それを呼ぶには依然として麻薬 (narcotics) が適切と考えられる。

2-1 オピオイドペプチド 初期の研究で見出されたオピオイドペプチドはペンタペプチドであるメチオニンエンケファリン⁶⁾，ロイシンエンケファリン⁶⁾と31のアミノ酸からなる β -エンドルフィン⁷⁻⁹⁾であるが，今日では Fig. 2 に示すように非常に多くのペプチドが見出されている。また，これらは Fig. 2 に示す3つの前駆体由来することも最近明らかにされた。その詳細について述べることは本稿の目的ではないが，麻薬の作用を知る意味から以下に概略を述べる。

Fig. 2 に示す3つの前駆体にはそれぞれ特異的な産生部位のあることが知られている。第1のグループの ACTH- β -リボトロピン 前駆体であるプロオピオメラノコルチンは主に脳下垂体で産生される。その全構造は中西らにより遺伝子工学的手法を用いて決定された。¹⁰⁾ 視床下部，¹¹⁾ 副腎¹²⁾でも同様の前駆体が見出されている。この前駆体由来する β -エンドルフィンは同じ前駆体に含まれる ACTH, MSH などの下垂体ホルモンと協調して，鎮痛や覚せい状態の制御，また血圧や体温の調節などに関与しているものと考えられている。第2グループのメチオニンエンケファリンは当初その部分構造をも

Fig. 2. Opioid Peptides and the Three Precursors

Enk, enkephalin; End, endorphin; Dyn, dynorphin; LPH, lipotropin; MSH, melanocyte stimulating hormone; ACTH, adrenocorticotrophic hormone.

つ β -エンドルフィンに由来すると推定されていたが、副腎髄質のクロム親和性顆粒からプロエンケファリンが見出された。¹³⁾ この前駆体にはメチオニンエンケファリン 6 単位とロイシンエンケファリン 1 単位が含まれる。その後この前駆体は脳内にも存在することが明らかにされた。¹⁴⁾ これらのペプチドは脳内では線条体と視床で濃度が高く、先に述べた β -エンドルフィンや後で述べるダイノルフィンとは脳内の分布が異なっており、生合成系の異なることを支持している。エンケファリンは脊髄、延髄、視床などにおいて痛覚伝導に対して抑制的に機能しているものと推定されているが、その他の機能あるいは、他の部位における生理的役割についてはまだ解明されていない。第 3 のグループのペプチドであるネオエンドルフィン¹⁵⁾ とダイノルフィン¹⁶⁾ の前駆体としてプロダイノルフィンが見出された。¹⁷⁾ ロイシンエンケファリンはダイノルフィンの N-末端にも存在し、ここでも産生されるものと考えられている。このグループのペプチドの生理的役割についてはほとんど解明されていないが、これまで述べてきたエンケファリンあるいはエンドルフィンが作用するミュー (μ) レセプターあるいはデ

ルタ (δ) レセプターとは違って、カッパ (κ) レセプター作用性である。

このようなオピオイドペプチドは神経伝達物質あるいは神経調節物質として、他の伝達物質あるいはホルモンなどと共役し、広範な機能を果たしているものと考えられている。したがって、モルヒネやヘロインなどの麻薬においても鎮痛作用以外にオピオイドペプチドと同様の作用があることになる。

2-2 オピオイドレセプター モルヒネなどの強力鎮痛薬には一定の構造活性相関があることから、それらの特異的な作用部位すなわちレセプターがあるものと推定されていたが、1973 年 3 つの研究室からその存在が報告された。¹⁸⁻²⁰⁾ オピオイドレセプターは単一ではなく多様性のあることが知られている。代表的なものに Martin ら²¹⁾ が薬理学的作用から分類したミュー、カッパ、シグマ (σ) の 3 種と神経膜との結合実験によって見出されたデルタレセプターがある。²²⁾ このような 4 種への大別はオピオイドに薬理学的な作用の違いのあること、あるいはモルモット回腸やマウスの輸精管など摘出平滑筋に反応性の差のあること、また神経組織の膜分画に対

する各種のオピオイドの結合性に違いのあることからなされている。このうちのミューレセプターがモルヒネに代表される強力鎮痛薬の作用部位であって、鎮痛作用、多幸感あるいは強い依存性の形成に関わっているといわれている。ミューと呼ばれるのはモルヒネの頭文字のギリシャ文字に由来する。デルタレセプターはエンケファリンなどのオピオイドペプチドの摘出平滑筋に対する作用、あるいは神経膜との結合性実験によって見出されたレセプターで、²²⁾ このレセプターのみを介する作用がどのようなものであるかについては必ずしも定説はない。このレセプター名は、当初マウスの輸精管 (vas deferens) にこのレセプターが存在することが見出されたことから deferens の頭文字のギリシャ文字が付けられた。オピオイドペプチドの鎮痛作用にはダイノルフィン類を除いて、ミューレセプターの関与があるとする考え方が一般的である。われわれの研究室で見出したモルヒネ代謝物の1つであるモルヒネ-6-グルクロナイドはモルヒネよりも強力な鎮痛作用を示す活性代謝物であるが、これはミューレセプターとの結合性はモルヒネよりもむしろやや弱い、デルタレセプターへの結合性が強いという性質を示す。このことについては抱合型代謝物の薬理作用の項で更に詳しく述べる。次にカッパレセプターの典型的な作用薬はケトサイクラゾシンである。カッパはこの薬物の頭文字のギリシャ文字に由来する。非麻薬性鎮痛薬として広く使われているペンタゾシンあるいはダイノルフィン類がこのレセプターの作用薬である。したがって、このレセプター作用薬の鎮痛作用はミューレセプター作用薬とは違うものと考えられている。ナロルフィンもこのレセプター作用性であるが、ペンタゾシンなどのベンゾモルフェン系の薬物とは違って、部分作用性 (partial agonist) であるといわれている。²³⁾ この薬物は以前ヘロイン中毒患者を鑑別するため禁断症状の誘発に使われたことがあるが、それはペンタゾシンと同様にナロルフィンがミューレセプターに対して拮抗性であることによる。ジグマレセプターの典型的な作用薬はSKF-10047 (N-アシルフェナゾシン) である。この薬物の頭文字のギリシャ文字がレセプター名に使われている。鎮痛作用は非常に弱く、不快感、頻呼吸、頻脈、散瞳、体温上昇作用とミューレセプターを介する作用とはほぼ逆の作用を示す。アメリカでの乱用が問題となっているフェンサイクリジンはこのレセプター作用性で、その催幻覚作用はLSDとは違う機序によるといわれている。オピオイドレセプターは以上の4つに大別されるが、更にそれらはいくつかのサブタイプに分け得ると考えられている。レセプターを精製しようとしたり、それ

をコードしている遺伝子を取り出す試みもされているが、まだ完全な成功には至っていない。

モルヒネの作用部位は先に述べたようにミューレセプターであることから、ヘロインの作用もミューレセプターを介すると予想される。ヘロインはその3位にアセチル基があるためオピオイドレセプターとの結合性はほとんどないが、ヘロインから速やかに代謝されて生ずる6-アセチルモルヒネは強い結合性を示す。このことについてはヘロインの代謝の項で述べる。

オピオイドに対する耐性の獲得、あるいは依存性の形成については細胞レベルでの適応現象として捉えられている。オピオイドは神経伝達物質、神経ホルモンとしての広範な作用を及ぼすが、どのような機序によるのかほとんど解明されていない。1つの機構として神経細胞由来の培養細胞におけるモデルがある。²⁴⁾ この細胞においては、オピオイドレセプターは抑制性のGTP結合中間伝達系を介してアデニレートシクラーゼと共役していることが知られており、オピオイドは細胞内のサイクリックAMPを低下させる。オピオイドに永くさらされると細胞は適応して、その状態で平常のサイクリックAMPの産生を示すようになる。すなわち、それが正常な状態になる。つまり耐性の獲得である。ここで、オピオイドが除かれるとサイクリックAMPの過剰な産生が起る。これが禁断症状の発現に関わると推定されている。しかし、多くの機能に関わっているオピオイドレセプターにおいて、レセプター以降の情報伝達系のうちアデニレートシクラーゼと共役しているものがどれほどあるかという点については明らかにされていない。

2-3 内在性モルヒネ モルヒネはオピオイドレセプターとオピオイドペプチドが発見されてからは、外来性のオピオイドであると認識されてきた。しかし、最近このモルヒネが動物界にも微量ではあるが存在することが見出された。Spector ら^{25,26)} はモルヒネに対するウサギの抗血清を用いたラジオイムノアッセイによって動物の神経組織ばかりでなく、ヒトの脳脊髄液あるいは尿中に内在性のモルヒネ様物質を見出した。Hazum ら²⁷⁾ は牛乳と母乳に200—500 ng/lのモルヒネ様物質を検出した。そのミューレセプター及びデルタレセプターに対する結合性、あるいはモルモット回腸の収縮の抑制作用などレセプターを介する作用がモルヒネと同等であること、更に数種の高速度液体クロマトグラフィーで同じ挙動を示し、またマススペクトルも同一であることからモルヒネと同定された。彼等はその由来について、レタスや飼料の干し草に微量のモルヒネ様物質が含まれていることから食餌から摂取されたものと推定している。Gold's-

tein ら²⁸⁾ はウシの脳の視床下部あるいは副腎から数 pmol/g のモルヒネ様物質を精製し、核磁気共鳴スペクトルでモルヒネと同定している。両組織には彼等が用いた2種のヒツジのモルヒネ抗血清の内の1つとモルヒネ以外に免疫反応する成分が5種存在することを認め、体内でのモルヒネ合成の前駆体である可能性があると示唆している。更に Spector ら²⁹⁾ は動物の脳よりも皮膚にモルヒネ様物質がやや多く存在することを見出し、カエルの皮膚からその精製を進めて、マススペクトルによりモルヒネと同定した。この場合、動物の飼料やカエルの餌にはモルヒネ抗体に反応性の物質が検出されないことから、モルヒネは動物体内で合成されるものと推定されている。これらの知見について Kosterlitz³⁰⁾ はミュレセプターのよいリガンドとなる内在性のオピオイドペプチドが未だに見出されていないことから、このレセプターは生理的にモルヒネをリガンドとしている可能性があるとしている。しかし、その量がオピオイドペプチドの1/10 ないし 1/100 と少ないこと、また組織中の含有量に極めて大きな個体差のあることから、内在性モルヒネに生理的役割を与えるには疑問点が多いとも言及している。

当然のこととして、このことは法中毒学的にも問題となる。先に述べたヒトの尿中のモルヒネ抗体陽性の物質がモルヒネであることが証明されるべきではあるが、超微量のモルヒネを検出する種々の方法がある現在、極く微量のモルヒネを検出するに際して留意すべき問題である。

3. モルヒネの代謝

薬物は代謝を受けると一般に極性が増して生体膜の透過性が低下するとともに、薬物分子が変化を受けるため作用部位との相互作用も低下して、作用が失われることが多い。モルヒネとヘロインについても、薬効あるいは耐性発現の機序を解明する手掛りとして、それらの代謝が古くから研究されてきた。モルヒネについては Fig. 3 に示すようにこれまで非常に多くの代謝物が報告されている。代謝経路の明らかでないものもあるが、代謝に関与する酵素とともに以下に述べる。

3-1 抱合反応 3-1-1 グルクロン酸抱合——モルヒネが抱合型代謝物になることは古くから知られていた。そのことはモルヒネを投与したイヌの尿³¹⁾ あるいはモルヒネ依存のヒトの尿³²⁾ を酸加水分解するとモルヒネが多く回収されることから想定された。この抱合体

Fig. 3. Major Metabolic Pathway of Morphine

M-3-G, morphine-3-glucuronide; M-6-G, morphine-6-glucuronide;
M-3,6-diG, morphine-3,6-diglucuronide; M-3-S, morphine-3-sulfate;
NM-3-G, normorphine-3-glucuronide; NM-6-G, normorphine-6-glucuronide.

TABLE II. Analgesic Activity of Morphine-6-glucuronide, Morphine-6-sulfate and Morphine

	ED ₅₀ mg/kg		ED ₅₀ ng/body
	Hot plate (s.c.)	Haffner (s.c.)	Haffner (i.c.v.)
Morphine hydrochloride	4.5 (3.2—6.3)	5.9 (3.9—8.9)	700 (440—1120)
Morphine-6-glucuronide	1.2 (0.7—2.0)	1.5 (0.8—2.7)	16 (9— 27)
Morphine-6-sulfate	1.7 (1.1—2.7)	2.0 (1.1—3.8)	12 (6— 29)

Drugs were injected to mice subcutaneously (s.c.) or intracerebroventriculally (i.c.v.).
Values in parentheses are 95% confidence limits.

のうち主なものが3位のグルクロナイドであることは Woods³³⁾ がイヌの尿及び胆汁, また Way ら³⁴⁾ がヒトの尿からこれを結晶状に単離することによって明らかにされた。著者らもウサギの尿中から主代謝物に相当するこのグルクロナイドを結晶状に単離した。³⁵⁾ 著者らはこの抱合体の精製の初めの段階で活性炭を用いた。モルヒネ抱合体の単離にしばしば使用されている Amberlite XAD-2 よりも, ノルモルヒネ抱合体なども含めた全抱合体の回収には活性炭の方がよいようである。この抱合体が大部分の動物におけるモルヒネの主代謝物である。ニワトリとか生体異物に対するグルクロン酸抱合能の低いネコでは3位の硫酸抱合体の排泄が多い。³⁶⁻³⁹⁾ したがって, 法中毒学的なモルヒネの検出においては抱合体を切って未変化のモルヒネとともに全モルヒネを検出するのが最も効率が良いことになる。

著者らの研究室ではウサギ尿中のモルヒネ代謝物として主代謝物であるモルヒネ-3-グルクロナイドのほか, 6位水酸基のグルクロン酸抱合体が存在することを見出した。³⁵⁾ このグルクロナイドの存在は著者らが合成したモルヒネの2つのグルクロナイドの標品^{40,41)} により同定して認めたものである。また, この6-グルクロナイドはウサギ以外にも, モルモットなどの動物のほかヒトのモルヒネ代謝物であることも見出した。⁴²⁾ このグルクロナイドが注目されたのは, 先の3-グルクロナイドが鎮痛作用を失った解毒産物であるのに対して, これはモルヒネよりも強力な鎮痛作用を有したためである。⁴³⁾ その鎮痛作用はマウスでは Table II に示すように皮下注射でモルヒネよりも3—4倍強く, 脳室内に注射すると約45倍強い。このグルクロナイドが最初に見出されたウサギにおいては, その排泄が後述のように, かなり少ないことからモルヒネの作用に対する寄与はほとんどないものと推定されていたが, 最近モルヒネを摂取したヒトの尿あるいは血液中にこのグルクロナイドがかなり多いことが見出されて注目されている。Svensson ら⁴⁴⁾ 及び Säwe ら^{45,46)} はモルヒネを経口投与しているガン患者の

血液中にはモルヒネ-3-グルクロナイドが最も多いものの遊離のモルヒネよりもモルヒネ-6-グルクロナイドの血中濃度の方が高く持続しており, 3-と6-グルクロナイドの比は約10:1であると報告している。これはガン患者における経口投与の場合であるが, Yeh ら⁴⁷⁾ もモルヒネを1日4回 60 mg ずつ連続投与したヒトの尿中から両グルクロナイドをほぼこの割合で結晶状に単離している。著者らの最近の研究結果では, モルヒネ-6-グルクロナイドの排泄にはかなり大きな種差があって, ラットではモルヒネ-3-グルクロナイドの約1/250であるが, モルモットでは約1/4とヒトよりもその比が大きいことを見出している。⁴⁸⁾ また, このような排泄の違いが肝臓のミクロソームにおけるモルヒネ6位へのグルクロン酸転移酵素活性の差に対応することから, グルクロナイドの生成の違いが反映されているものと考えられる。⁴⁹⁾

モルヒネのグルクロン酸抱合体としては, 他に Yeh らが単離したモルヒネ-3,6-ジグルクロナイドがある。⁴⁷⁾ 結晶としてではなく, 非晶形の粉末として得られたこの代謝物はフェノール性水酸基を有せず, 酸あるいはβ-グルクロニターゼで加水分解すると1モルのモルヒネと2モルのグルクロン酸が遊離することから, その構造は3,6-ジグルクロナイドであると推定されている。また, ノルモルヒネのグルクロナイドもあるが, これについてはノルモルヒネの項で述べる。

グルクロン酸抱合反応を司る酵素はUDP-グルクロン酸転移酵素である。肝臓のミクロソーム画分におけるグルクロン酸抱合反応に, 酵素誘導剤による誘導性あるいは個体発生時の酵素活性の発現に基質特異性があるのは, グルクロン酸転移酵素の分子的多様性に由来することが近年証明されつつある。モルヒネはグルクロン酸抱合反応をよく受けることから典型的な基質の1つとしてこの酵素の研究によく用いられてきた。チトクローム P-450 はフェノバルビタール, 3-メチルコラントレンあるいはプレグネノロン-16α-カルボニトリルなどの誘導剤によってそれぞれに特異的なアイソザイムが誘導され

るが、それはチトクローム P-450 に限られたことではなく、ほかにも種々の酵素も誘導されることが知られている。UDP-グルクロン酸転移酵素もその1つであって、個体発生時の活性発現,⁴⁹⁾ 活性の臓器分布,⁵⁰⁾ あるいは誘導剤に対する誘導性⁵¹⁾ に機能的な多様性がある。これは酵素の分子的多様性を反映しているものと考えられている。モルヒネに対するこの転移酵素活性はフェノバルビタールによって誘導される。^{52,53)} しかし、モルヒネを連続投与しても、ラットではこの活性はむしろ低下することが知られている。⁵⁴⁾ モルヒネ依存の患者においても血液中のグルクロン酸抱合体の増加はみられないことが報告されている。⁴⁵⁾ したがって、モルヒネに対する耐性の形成には代謝の亢進は寄与していないものと考えられる。最近多くの UDP-グルクロン酸転移酵素が精製されつつあるが、モルヒネに特異性の高い酵素はフェノバルビタールで前処理したラットから精製された標品についての報告があるに過ぎない。^{55,56)} 正常の動物にモルヒネに対して高い活性をもつこの転移酵素がいくつかあるのか、あるいはフェノバルビタールなどで誘導される酵素の分子種は正常動物には少ないのかなどについてはまだ明らかにされていない。

3-1-2 硫酸抱合——グルクロン酸抱合とともに生体異物の抱合反応として重要な硫酸抱合もモルヒネの代謝に関与しているが、すでに述べたようにネコ³⁶⁾ やニワトリ³⁷⁾ などを除いて、その寄与は大きくはない。ヒトのモルヒネ代謝物としてもモルヒネ-3-サルフェイトが見出されているが、その排泄量はモルヒネ-3-グルクロナイドの1%程度であると報告されている。⁴⁷⁾ イヌにおいてもこの代謝物が認められているが、ヒトと同様にその排泄量は少ない。⁵⁷⁾ 著者らも合成した3位と6位の両サルフェイト抱合体の標品⁵⁸⁾ を用いて、モルヒネを投与したラット尿につきこれらの検出を試みたが、微量の3-サルフェイトの存在を認めたに過ぎず、6-サルフェイトは見出せなかった。⁵⁹⁾ しかし、グルクロン酸抱合能の低いネコやニワトリにおいてはモルヒネ-3-サルフェイトが主代謝物である。この3-サルフェイトは3-グルクロナイドと同様に活性のほとんどない解毒産物であるが、6-サルフェイトは6-グルクロナイドと同様モルヒネよりも強い活性抱合体である。⁴⁸⁾ モルヒネを投与したネコの尿より6-サルフェイトを検出しようと試みたが、その存在は確認できなかった。⁵⁸⁾ Peterson と Fujimoto はラットについてモルヒネ3位のグルクロナイドとサルフェイトの胆汁中への排泄について検討し、モルヒネ-3-サルフェイトは胆汁流量の増加するフェノバルビタール処理によってその排泄も増加するが、グルクロナイドの排泄に

は胆汁流量は影響しないことを報告している。⁶⁰⁾ これには、グルクロナイドは先に述べたように、肝臓の小胞体で生成するが、硫酸抱合体は細胞質にあるスルホキナーゼによって生成するという生合成部位の違いが関与している可能性がある。

3-2 N-脱メチル化反応 モルヒネの主要な代謝は上述のように抱合反応であるが、一部は酸化的 N-脱メチル化反応によってノルモルヒネになる。*in vivo* におけるノルモルヒネの生成については、N-メチル基を¹⁴Cでラベルしたモルヒネを投与すると¹⁴CO₂が呼気中に現れることから明らかにされた。⁶¹⁾ ラットでは呼気中への¹⁴CO₂の排出には性差のあることが見出されている。⁶²⁾ モルヒネ N-メチル-¹⁴C 塩酸塩 5 mg/kg を皮下注射した雄ラットでは6時間内に投与量の5%の放射性 CO₂の呼気中排出がみられるが、雌では同時間内に0.5%以下しか排出されない。イヌとサルでは2 mg を皮下注射したとき24時間呼気中に投与量のそれぞれ0.2%と1.2%の放射性 CO₂ がみられている。⁶³⁾

ヒトでは5人にそれぞれ10—15 mg を筋肉注射したとき、24時間内に注射量の3.5%から6%の呼気中排出が認められている。⁶¹⁾ このとき、2名の男性と3名の女性の間には排出¹⁴CO₂量に性差はみられていない。

モルヒネの脱メチル化反応は肝臓の小胞体に局在する一酸素添加酵素であるチトクローム P-450 によって N-メチル基が水酸化を受け、不安定中間体のヒドロキシメチル体の非酵素的な加水分解によりホルムアルデヒドが遊離するものと考えられる。モルヒネの O-エチル体であるエチルモルヒネはプレグネノロン-16 α -カルボニルで誘導されるチトクローム P-450 のよい基質として知られているが、⁶⁴⁾ モルヒネをよい基質とするチトクローム P-450 の分子種については特定されていない。先に述べたように、ラットにおいては性差がみられることから、正常ラットの雄においては雄型のチトクローム P-450 がその代謝に関与しているものと考えられる。

モルヒネに対する耐性動物においても¹⁴CO₂の呼気からの排出が正常動物との間に差がないことから、*in vivo* においてはモルヒネ連用は N-脱メチル化反応にほとんど影響ないものと考えられている。⁶¹⁾ しかし、ラットにおいては Axelrod が肝ミクロソームの薬物代謝酵素の活性がモルヒネの連用によって低下することを見出している。⁶⁵⁾ また、Beckett らはモルヒネの N-脱メチル化反応が脳内における鎮痛作用の発現に関わっているという説を提唱した。^{66,67)} しかし、オピオイドレセプターが見出されたことによってこの説は今日では否定的である。

モルヒネから N-脱メチル化反応によって生成したノ

Fig. 4. Adducts of Morphinone and Morphine with Glutathione and Other SH Compounds

ルモルヒネが、更に抱合反応を受けることは古くから知られていたが、この抱合体はヒトの尿から初めて検出された。⁴⁷⁾ しかし、ヒトの尿から検出されたのは、ノルモルヒネ-6-グルクロナイドであって、ノルモルヒネ-3-グルクロナイドについてはその存在を示唆しているに過ぎない。著者らは最近、合成した2つのノルモルヒネグルクロナイドを用いてモルヒネ投与ラットの尿について検索した結果、6位よりも3位のグルクロナイドの方が圧倒的に多かった。⁵⁹⁾ ノルモルヒネを投与しても3位のグルクロナイドが主代謝物として見出されていることから、⁶⁸⁾ モルヒネから生成したノルモルヒネもモルヒネと同様に抱合を受けるものと考えられる。

もう1つの酸化的代謝物として *N*-オキシドの生成がある。しかし、*in vivo* でモルヒネ *N*-オキシドが見出されているのは特殊な場合である。モルヒネと同時に tacrine や amiphenazol を与えたときにこの代謝物の排泄がみられている。⁶⁹⁾ 一般に *N*-オキシドは *in vitro* 系で生成が証明されても *in vivo* ではほとんど検出されないことが多い。それは一旦生成した *N*-オキシドが還元されることによると考えられている。*N*-オキシドの生成には肝臓の小胞体酵素であるチトクローム P-450 とフラビン含有一酸素添加酵素の2つの酵素が関与していることが知られているが、モルヒネ *N*-オキシドの生成を触媒する酵素については明らかにされていない。

3-3 6位水酸基の脱水素反応 モルヒネ6位水酸基が脱水素反応によって、モルヒノンになることが近年明らかにされた。⁷⁰⁾ モルヒノンは α, β -不飽和ケトンであるため酸性域ではいくらか安定であるが、塩基性域では極めて不安定で、通常の水層を塩基性にして抽出する方法では検出することは不可能である。チオール化合物

と8位にスルフィド結合を容易に作ることから、モルヒノンはメルカプトエタノール結合体として証明されている。⁷¹⁾ 胆汁中からは Fig. 4 に示す8位のグルタチオン抱合体も見出されている。⁷⁰⁾ モルモット肝臓の可溶性画分からモルヒネ 6-脱水素酵素が精製されているが、7,8-ジヒドロ体よりも二重結合をもつ化合物に活性が高く、逆反応も触媒するという。モルヒノンは反応性が高いため生体内でも種々の SH 化合物と反応する。特にオピオイドレセプターの SH 基と結合するとレセプターの減少を招き耐性発現の一因になっているものと考えられている。^{72,73)}

モルヒネのグルタチオン抱合体としては上記の8位のほかに Fig. 4 に示す10位の抱合体が *in vitro* においてラットとヒトの肝小胞体で生成することが見出された。^{74,75)} チトクローム P-450 によってモルヒネの10位に電子吸引基をもつ中間代謝物を生じ、ここにグルタチオンあるいは *N*-アセチルシステインのチオール基が入るものと推定されている。

4. モルヒネ抱合体の薬理作用

モルヒネの主代謝物であるモルヒネ-3-グルクロナイドが活性を失った解毒産物であることは、この代謝物を初めて単離した Woods によって明らかにされた。⁸³⁾ また、モルヒネ-3-サルフェイトにもほとんど作用のないことが知られている。⁷⁶⁻⁷⁸⁾ このことはモルヒネの3位の水酸基が遊離であることが強い鎮痛作用に必須であることを物語っている。3位がメトキシ基であるコデインの作用が弱いこともこれに対応している。すでに述べたように、著者らはもう一方の6位の水酸基に対するグルクロナイドが、モルヒネ自身よりも強い鎮痛作用を示すことを前に見出し報告している (Table II)。代謝物が薬

理的に活性な例は酸化あるいは加水分解などいわゆる薬物代謝の第一段階反応には枚挙にいとまがない程に多い。しかし、グルクロン酸抱合あるいは硫酸抱合での例は非常に少ない。それは第一段階反応が保護基を外す反応となったり、あるいは活性基を生成する反応となり得るのに対し、抱合反応では大きな修飾基を導入して母化合物の反応性に大幅な低下を来たすことによるものと考えられる。また、極性基の導入による生体膜の透過性の低下も寄与しているものと考えられる。

^{14}C ラベルのモルヒネ-6-グルクロナイドの脳内への移行性を ^{14}C -モルヒネと比較すると、グルクロナイドのそれはモルヒネの約 1/5 に過ぎないが、グルクロナイド投与時の脳内からはモルヒネ-6-グルクロナイドのみが検出され、⁷⁹⁾ その作用がグルクロナイド自身にあることを示した。

モルヒネ-6-グルクロナイドが作用本体であることは Table III に示すように、オピオイドレセプターとの結合性からも証明された。⁸⁰⁾ 3-グルクロナイドの結合性は極めて低いが、6-グルクロナイドには高い結合性が認められた。このことはグルクロナイドのみでなく、硫酸抱合体においても同様であった。しかし、6位抱合体のオピオイドレセプターとの結合には Table III に示すように奇妙な現象がみられた。オピオイドレセプターに多様性があり、モルヒネのレセプターはミューレセプターであることについてはすでに述べた。6位抱合体はモルヒネよりも作用が強いにもかかわらず、ミューレセプターへの結合性はモルヒネよりむしろやや低く、オピオイドペプチドが強く結合するデルタレセプターへの強い結合性を認めた。しかし、6位抱合体の作用がデルタレセプターのみを介して強い作用を発現したと解釈するには不都合な知見が得られた。すなわち、ナロルフィンなど拮抗薬の6位抱合体はモルヒネの鎮痛作用に母化合物以上に強く拮抗するが、レセプター結合性はデルタの方で高くなることが認められたことである。⁸¹⁾ このことはミューレセプターを介する作用がデルタレセプターとの結合により増強されていることを意味している。また、ナロルフィンの6-グルクロナイドとサルフェイトはマウスに連続投与するとナロルフィンにはない身体的依存性の形成が認められた。6位抱合体の強い作用にこのようなレセプターとの結合性の変化がどのように関わっているのか不明である。この点について著者らはミューとデルタ両レセプターに一定の結合性をもつことがミューレセプターを介する作用に強く反映されてくるのではないかと推定している。ヒトにかなり多いことが明らかにされたモルヒネの活性代謝物 6-グルクロナイドのオピオ

TABLE III. Effect of Morphine, Nalorphine and Their Conjugates on Opioid Receptor Binding of ^3H -Morphine and ^3H -Leu-enkephalin

	IC ₅₀ nM	
	^3H -Morphine	^3H -Leu-enkephalin
Morphine	1.2	159.7
Morphine-6-glucuronide	12.3	97.0
Morphine-6-sulfate	3.5	4.7
Nalorphine	2.1	31.6
Nalorphine-6-glucuronide	22.0	24.8
Nalorphine-6-sulfate	3.2	5.3

ドレセプターとの結合性にモルヒネと違いのあることは留意すべきことがらであろう。

5. ヘロインの代謝

ヘロイン (heroin, diacetylmorphine と呼ばれる) は緒論で述べたように日本でこそ幸いにほとんど問題となっていないが、世界各地ではその乱用が社会的な問題となっている。ヘロインは Fig. 5 に示すように生体内でまず3位のアセチル基が加水分解されて6-アセチルモルヒネとなり、更に6位のアセチル基も外れてモルヒネを生成し、その後はモルヒネと同様に代謝されることが知られている。⁸²⁻⁸⁴⁾ ヘロインの脱アセチル化を触媒するエステラーゼ活性は脳、肝臓、腎臓あるいは血液などに広く分布することが認められている。^{85,86)} Elliott ら⁸⁷⁾ はヒトにヘロイン塩酸塩 70 mg を7時間にわたって連続注入したとき、40.5時間の尿からヘロイン0.05—0.3%、6-アセチルモルヒネ0.5—2.8%、遊離モルヒネ3.1—5.3%モルヒネ抱合体34—43%の排泄を認めている。ここでヘロインと6-アセチルモルヒネが検出されているが、一般にヘロインはもちろんのこと6-アセチルモルヒネの尿からの検出は困難であるといわれている。ラットにヘロイン 2 mg/kg を与えて尿の抽出物を GC-MS のマスフラグメントグラフィーに付して検出しても、モルヒネは容易に検出できるが、6-アセチルモルヒネは極めて少なく、ヘロインは痕跡程度しか検出されていない。⁸⁸⁾ Umans ら⁸⁹⁾ は高速液体クロマトグラフィーを用いてヘロインを摂取したヒトの血液中のヘロインを定量し、ヘロインの生物学的半減期は2分程度と極めて短いことを明らかにしている。このように尿のみからヘロインかモルヒネのいずれを摂取したかを鑑別することは困難であるといわれている。

ヘロインの作用本体が何であるかについてはこれまで議論のあったところである。著者らがヘロイン、6-アセ

Fig. 5. Major Metabolic Pathway of Heroin

チルモルヒネとモルヒネのオピオイドレセプターとの結合性を比較した結果によると、ヘロインの結合性は極めて低いが、後二者の結合性はほぼ同等である。⁹⁰⁾ したがって、3位の水酸基がアセチル化されたヘロインには作用がなく、6-アセチルモルヒネが作用本体であることを支持している。ヘロインの強い作用にはヘロインと6-アセチルモルヒネの高い脳内移行性の寄与が大きいものと考えられる。またこのほかに6-アセチルモルヒネには抱合型代謝物の項で述べたようなモルヒネ-6-グルクロナイドあるいはモルヒネ-6-サルフェイトなどと同様な6位抱合体としての修飾効果が認められた。すなわち、6-アセチルモルヒネはミューレセプターに対する結合性がモルヒネよりもやや低く、デルタレセプターに対してやや高い結合性を示した。したがって、ヘロインの強い作用にはその高い脳内移行性の他にこのような効果も寄与しているものと考えられる。

6. モルヒネ及びヘロインの分析

機器分析の最近の進歩には目覚ましいものがある。乱用薬物の法中毒学的な分析にもこれが適用されて、微量の試料について適確に確認、同定することが可能になった。麻薬も含めて法中毒学的に問題となる薬物の分析方法には優れた総説がある。Gough と Baker⁹¹⁾ は1980年までの薄層クロマトグラフィー、ガスクロマトグラフィー及び高速液体クロマトグラフィーなどクロマトグラフィーを用いた主な乱用薬物の分析法の文献を網羅している。しかし、この総説で対象としている報告は押収試料

のような量的に多いものの分析についてである。また、Baker と Phillips⁹²⁾ の総説は先の文献で対象とされなかった結晶形、呈色反応あるいはスペクトルによる解析などについて詳細に述べている。ここではガスクロマトグラフィーと高速液体クロマトグラフィーに限って最近の報告を紹介するとどめる。

6-1 ガスクロマトグラフィー ガスクロマトグラフィーは水素炎イオン化検出器 (FID)、窒素リン検出器 (NPD)、あるいはマスマスペクトルと組み合わせた GC/MS など、高感度の検出ができることから法中毒学で最も広く使われている。殊に近年シリカキャピラリーカラムが開発され、その取り扱いの容易さと吸着性が低いことから高いカラム性能が得られるようになった。液相も従来の内壁に塗布した形式の WCOT (Wall Coated Open Tubular) カラムから化学反応によって結合させた化学結合型カラムになってカラムを洗浄したり、より高温での分析が可能になってきた。最近この液相の化学結合技術が確立され、膜厚タイプでカラム径のやや太いワイドボアカラムが開発されたことと、キャピラリーカラム用の種々のインジェクターが開発されたことにより、不純物の多い試料についてもパックドカラムに近い分析ができるようになってきた。Moore⁹³⁾ は不正ヘロイン中の不純物をヘキサフルオロ酪酸誘導体にして、OV-1 あるいは OV-17 を結合させた 11 m×0.25 mm 溶融シリカキャピラリーカラムで電子捕獲型検出器 (ECD) 付ガスクロマトグラフで分析し、大部分の誘導体を最小

限 10^{-12} — 10^{-13} g までも検出している。Allen ら⁹⁴⁾ は不正ヘロイン中の酸性及び中性の不純物をキャピラリーカラム, FID で分析して 33 のピークを検出している。Newmann⁹⁵⁾ もアヘンと粗製モルヒネを FID によるキャピラリーガスクロマトグラフィーに付して不純物ピークのプロファイルを明らかにしている。これらの研究の狙いの 1 つはピークパターンを比較して粗製ヘロインの出所をつきとめることにある。不正ヘロインにはこのような原料となるモルヒネ中のアヘン由来の不純物とともに、人為的にその他の薬物あるいは稀釈のために種々の物質が加えられている。最近 “speedballs” と呼ばれるヘロインとコカインの混合物の使用が問題となっている。Barni Comparini ら⁹⁶⁾ は不正麻薬中に含まれる種々の薬物あるいは糖などをシリル化してキャピラリーカラムで同時分析している。

血液中のモルヒネについて Lewis は⁹⁷⁾ モルヒネと混在する可能性のある薬物をヘプタフルオロ酪酸誘導体にして ECD 付ガスクロマトグラフィーで分析している。Cone ら⁹⁸⁾ はコデイン、モルヒネとそれらの 10 種の遊離型代謝物を GC/MS に付して分析するとともに、尿からの抽出条件を検討した結果についても述べている。尿を 10% 塩酸濃度としてオートクレーブ中で 115°C 30 分加熱して抱合体を加水分解している。それを pH 10.0 に調節し 40% K_2HPO_4 と NaCl を加えてから種々の溶媒で抽出して抽出率を検討している。有機溶媒層の代謝物は一旦 2 N HCl に転溶し、更に pH 10 として有機溶媒で抽出し、シリル化したあと GC/MS に付している。ノルモルヒネのように極性の高い代謝物はクロロホルムやクロロホルム-イソプロパノール混液からの抽出率が低いことから、加水分解尿に K_2CO_3 を加えてイソプロピルアルコールで抽出して、先の方法の 3 倍の抽出率を得ているが、それでもノルモルヒネの抽出率は約 40% にとどまっている。

6-2 高速液体クロマトグラフィー 不正ヘロインあるいは生体試料中のモルヒネの分析に高速液体クロマトグラフィー (HPLC) が近年使用されるようになった。モルヒネなどアヘンアルカロイドは極性が高いので先に述べたように、ガスクロマトグラフィーではしばしば誘導体に導いてから分析されているが、HPLC では直接分析される。また、先にも述べたように不正ヘロインには種々の化合物が含まれている。それらは 2 つに大別され、1 つはアヘンに由来する粗製モルヒネ中の不純物とアセチル化の不完全な中間体やアセチル化工程中の分解物などの不純物である。もう 1 つは人為的に添加したカフェイン、グルコースなどの混和物である。Laurent ら⁹⁹⁾ は

ヘロインの他 6-アセチルモルヒネ、アセチルコデインなど 11 の不正ヘロイン中の化合物を、アルミナカムラである Spherisorb A5Y と溶離液に tetramethylammonium citrate (0.01 M) pH 6.5 を含む $\text{MeOH}-\text{CH}_3\text{CN}-\text{H}_2\text{O}$ (12.5 : 12.5 : 75) を用いて分析している。White ら¹⁰⁰⁾ は不正ヘロインに含まれる可能性のある 18 のアヘンアルカロイドなどのアミンとグルコース、蔗糖及び乳糖を順相のシリカを充填したカラム溶離液に isooctane-diethyl ether- CH_3OH -diethylamine- H_2O (400 : 325 : 225 : 0.5 : 15) を用いて分析している。Doner と Hsu¹⁰¹⁾ はアヘン乳液中のアヘンアルカロイドの分析に Zorbax NH_2 カラムを用いて好成績を得ている。HPLC に一般によく用いられる逆相系のカラムを使った報告に Kubiak と Munson¹⁰²⁾ の方法がある。溶離液に 0.1 M phosphate buffer pH 3.3, 36% CH_3CN , 5 mM sodium dodecyl sulfate を用いている。シリカを素材とするカラムによるアミンの分析ではシラノール基によるテーリングが問題となるが、この報告のように酸性の溶離液を用いる条件は好成績を与える。

血液中のヘロインとその代謝物の分析については Umans ら⁹⁹⁾ の方法がある。しかし、この方法はかなり長い前処理操作が必要である。Svensson ら⁴⁴⁾ は法中毒学的な検出を目的とはしていないが、前処理操作の比較的簡単な尿と血液中のモルヒネの定量法を報告している。また、Svensson¹⁰³⁾ は同様の条件下に電気化学検出器を用いて更に高感度分析を可能にしている。Todd ら¹⁰⁴⁾ と Ishikawa ら¹⁰⁵⁾ も電気化学検出器を用いた血液中のモルヒネの高感度分析法を報告している。

代謝の項でも述べたように、モルヒネグルクロナイドの分析にも HPLC が用いられるようになって、モルヒネ-3-グルクロナイドと 6-グルクロナイドの定量を容易に行うことができるようになった。先に述べた Svensson ら⁴⁴⁾ の方法は血清及び尿中のモルヒネ両グルクロナイドの分析が本来の目的で、Ultrasphere ODS カラム、溶離液に 26% CH_3CN を含む 10 mM NaH_2PO_4 pH 2.1 (H_3PO_4 で調節), 1 mM sodium dodecyl sulfate を用いて分析している。Liu と Franklin は¹⁰⁶⁾ *in vitro* でモルヒネ、1-ナフトール、テストステロン、エストロンなどのグルクロン酸転移酵素活性の測定に ODS/SIL-X カラム、溶離液に 16% CH_3CN , 8% CH_3OH を含む 20 mM KH_2PO_4 buffer (pH 2.1), 2.5 mM sodium dodecyl sulfate を用いる方法を報告している。

7. おわりに

オピオイドペプチドとオピオイドレセプターに多くのスペースをさいて述べた。それはこの分野の急速な進歩

によりモルヒネとヘロインの各種のオピオイドにおける位置付けが明確になったことを述べることにあった。しかし、オピオイドは神経アミン、カルシウムイオンあるいはオキシトシンなどのホルモンの調節を介して鎮痛以外にも種々の作用をしているものと考えられており、その全貌を知るには脳機能についての理解がもっと進む必要がある。

モルヒネの代謝における最近の興味はモルヒネ-6-グルクロナイドとモルヒノンにある。それはいずれもかなり生成量の多い活性代謝物であることから、前者は特に鎮痛作用に対して、また後者は依存性あるいは毒性発現における寄与が注目される。

内在性のモルヒネに生理的な作用があるのだろうか。その由来は食事なのか、あるいは生合成されるのだろうか。いずれにせよ健常人の体液からモルヒネが検出されるとなると外因性のモルヒネのレベルとの識別が法中毒学上の重大な問題となる。

臨床的には耐性、依存性のない理想的な強力鎮痛薬の出現が待たれる。しかし、将来そのような鎮痛薬が現れたとしても乱用薬物としてのヘロインあるいはモルヒネの地位に変化がでてくるであろうか。それには乱用薬物の効果的な取締りとともに、その乱用に逃避し、快楽を享受しようとする心理的状况を生むかどうか社会的環境にも左右される問題であろう。

引用文献

- 1) F.W. Sertürner, *J. Pharm. (Trommsdorffs)*, **13**, 234 (1805).
- 2) F.W. Sertürner, *J. Pharm. (Trommsdorffs)*, **14**, 47 (1806).
- 3) F.W. Sertürner, *J. Pharm. (Trommsdorffs)*, **20**, 99 (1811).
- 4) R.M. Baum, *Chem. Eng. News*, **63**, 7 (1985).
- 5) 厚生省薬務局編, “昭和58年における麻薬・覚せい剤行政の概況,” 1979, p.40.
- 6) J. Hughes, T.W. Smith, H.W. Kosterlitz, L.A. Fothergill, B.A. Morgan, H.R. Morris, *Nature (London)*, **258**, 577 (1975).
- 7) A.F. Bradbury, D.G. Smyth, C.R. Snell, *Nature (London)*, **260**, 165 (1975).
- 8) R. Guillemin, N. Ling, R. Burgus, *C.R. Acad. Sci. Ser.*, **282**, 783 (1976).
- 9) C.H. Li, D. Chung, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **73**, 1145 (1976).
- 10) S. Nakanishi, K. Inoue, *Nature (London)*, **278**, 423 (1979).
- 11) A.S. Liotta, D. Gildersleeve, M.J. Brownstein, D.T. Krieger, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **76**, 1448 (1979).
- 12) H. Imura, Y. Nakai, K. Nakao, S. Oki, J. Fukuta, I. Tanaka, *Acta Physiol. Pol.*, **32**, suppl. 23, 15 (1981).
- 13) R.V. Lewis, A.S. Stern, S. Kimura, J. Rossier, S. Stein, S. Udenfriend, *Science*, **208**, 1459 (1980).
- 14) Y. Ikeda, K. Nakao, T. Yoshimasa, N. Yanaihara, S. Numa, H. Imura, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **107**, 656 (1982).
- 15) 松尾寿之, 寒川賢治, 水野健作, 南野直人, 林 友二郎, 榊原平俊, 芽野直良, 五十嵐正雄, 蛋白質 核酸 酵素, **26**, 115 (1981).
- 16) A. Goldstein, S. Tachibana, L.I. Lowney, M. Hunkapiller, L. Hood, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **76**, 6666 (1979).
- 17) H. Kakidani, Y. Furutani, H. Takahashi, M. Noda, Y. Morimoto, T. Hirose, M. Anai, S. Inayama, S. Nakanishi, S. Numa, *Nature (London)*, **298**, 245 (1982).
- 18) C.B. Pert, S.H. Snyder, *Science*, **179**, 1011 (1973).
- 19) E.J. Simon, J.M. Hiller, I. Edelman, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **70**, 1947 (1973).
- 20) L. Terenius, *Acta Pharmacol. Toxicol.*, **33**, 377 (1973).
- 21) W.R. Martin, C.G. Eades, J.A. Thompson, R.E. Huppler, P.E. Gilbert, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **197**, 517 (1976).
- 22) J.A.H. Load, A.A. Waterfield, J. Hughes, H.W. Kosterlitz, *Nature (London)*, **267**, 495 (1977).
- 23) P.E. Gilbert, W.R. Martin, *Drug Alcohol Depend.*, **1**, 373 (1976).
- 24) W.A. Klee, M. Nierenberg, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **71**, 3474 (1974).
- 25) A.R. Gintzler, A. Levy, S. Spector, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **73**, 2132 (1976).
- 26) J. Shorr, K. Foley, S. Spector, *Life Sci.*, **23**, 2057 (1978).
- 27) E. Hazum, J.J. Sabatka, K.J. Chang, D.A. Brent, J.W.A. Findley, P. Cuatrecasas, *Science*, **213**, 1012 (1981).
- 28) A. Goldstein, R.W. Barrett, I.F. James, L.I. Lowney, C.J. Weitz, L.L. Knipmeyer, H. Rapoport, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **82**, 5203 (1985).

- 29) K. Oka, J.D. Kantrowitz, S. Spector, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **82**, 1852 (1985).
- 30) H.W. Kosterlitz, *Nature* (London), **317**, 671 (1985).
- 31) E.G. Gross, V. Thompson, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **68**, 413 (1940).
- 32) F.W. Oberst, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **69**, (1940).
- 33) L.A. Woods, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **112**, 158 (1954).
- 34) J.M. Fujimoto, E.L. Way, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **121**, 340 (1957).
- 35) H. Yoshimura, K. Oguri, H. Tsukamoto, *Biochem. Pharmacol.*, **19**, 2353 (1970).
- 36) J.M. Fujimoto, V.B. Haarstad, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **165**, 45 (1969).
- 37) D.G. May, J.M. Fujimoto, C.E. Inturrisi, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **157**, 626 (1967).
- 38) S.Y. Yeh, H.I. Chernov, L.A. Woods, *J. Pharm. Sci.*, **60**, 469 (1971).
- 39) D.S. Smith, R.E. Peterson, J.M. Fujimoto, *Biochem. Pharmacol.*, **22**, 485 (1973).
- 40) H. Yoshimura, K. Oguri, H. Tsukamoto, *Chem. Pharm. Bull.*, **16**, 2114 (1968).
- 41) K. Oguri, H. Yoshimura, H. Tsukamoto, *Chem. Pharm. Bull.*, **18**, 209 (1970).
- 42) K. Oguri, S. Ida, H. Yoshimura, H. Tsukamoto, *Chem. Pharm. Bull.*, **18**, 2414 (1970).
- 43) K. Shimomura, O. Kamata, S. Ōda, K. Oguri, H. Yoshimura, H. Tsukamoto, *Tohoku J. Exp. Med.*, **105**, 45 (1971).
- 44) J. Svensson, A. Rane, J. Säwe, F. Sjöqvist, *J. Chromatogr.*, **230**, 427 (1982).
- 45) J. Säwe, J. Svensson, A. Rane, *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **16**, 85 (1983).
- 46) J. Säwe, L. Kager, J. Svensson, A. Rane, *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **19**, 495 (1985).
- 47) S.Y. Yeh, C.W. Gorodetzky, H.A. Krebs, *J. Pharm. Sci.*, **66**, 1288 (1977).
- 48) 植岡伸光, 郭錦閏, 星川洋一, 鯉川寿美子, 竹葉昭代, 満井哲也, 小栗一太, 吉村英敏, 第18回薬物代謝と薬効・毒性シンポジウム講演要旨, 富山, 1986年10月, p.215.
- 49) G.J. Wishart, *Biochem. J.*, **174**, 485 (1978).
- 50) K.W. Bock, U.C. von Clausbruch, R. Kaufmann, W. Lilienblum, F. Oesch, H. Pfeil, K.L. Platt, *Biochem. Pharmacol.*, **29**, 495 (1980).
- 51) G.J. Wishart, *Biochem. J.*, **174**, 671 (1978).
- 52) E. Sanchez, T.R. Tephly, *Drug Metab. Dispos.*, **2**, 247 (1974).
- 53) D.I. Roerig, A.T. Hasegawa, R.E. Peterson, R.I.H. Wang, *Biochem. Pharmacol.*, **23**, 1331 (1974).
- 54) A.E. Takemori, G.A. Glowacki, *Biochem. Pharmacol.*, **11**, 867 (1962).
- 55) K.W. Bock, U.C. von Clausbuch, D. Josting, H. Ottenwalder, *Biochem. Pharmacol.*, **26**, 1097 (1977).
- 56) K.W. Bock, D. Josting, W. Lilienblum, H. Pfeil, *Eur. J. Biochem.*, **98**, 19 (1979).
- 57) A.L. Misra, S.Y. Yeh, L.A. Woods, *Biochem. Pharmacol.*, **19**, 1536 (1970).
- 58) M. Mori, K. Oguri, H. Yoshimura, K. Shimomura, O. Kamata, S. Ueki, *Life Sci.*, **11**, 525 (1972).
- 59) 未発表データ.
- 60) R.E. Peterson, J.M. Fujimoto, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **184**, 409 (1973).
- 61) H.W. Elliott, B.M. Tolbert, T.K. Adler, H.H. Anderson, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med. (N.Y.)*, **85**, 77 (1954).
- 62) C.H. March, H.W. Elliott, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med. (N.Y.)*, **86**, 494 (1954).
- 63) L.B. Mellett, L.A. Woods, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med. (N.Y.)*, **106**, 221 (1961).
- 64) A.Y.H. Lu, A. Somogyi, S. West, R. Kutzman, A.H. Conny, *Arch. Biochem. Biophys.*, **152**, 452 (1972).
- 65) J. Axelrod, *Science*, **124**, 263 (1956).
- 66) A.H. Beckett, A.F. Casy, N.J. Harper, *J. Pharm. Pharmacol.*, **8**, 874 (1956).
- 67) A.H. Beckett, A.F. Casy, N.J. Harper, P.M. Phillips, *J. Pharm. Pharmacol.*, **8**, 860 (1956).
- 68) S.Y. Yeh, R.L. McQuinn, C.W. Gorodetzky, *J. Pharm. Sci.*, **67**, 878 (1978).
- 69) J.T.C. Woo, G.A. Gaff, M.R. Fennessy, *J. Pharm. Pharmacol.*, **20**, 763 (1968).
- 70) 土岐 智, 法中毒学ニュース, **4**, 34 (1986).
- 71) S. Yamano, E. Kageura, T. Ishida, S. Toki, *J. Biol. Chem.*, **260**, 5259 (1985).
- 72) K. Nagamatsu, Y. Kido, T. Terao, T. Ishida, S. Toki, *Life Sci.*, **30**, 1121 (1982).
- 73) K. Nagamatsu, Y. Kido, T. Terao, T. Ishida, S. Toki, *Life Sci.*, **31**, 1451 (1982).
- 74) M.A. Correia, G. Krowech, P.S. Caldera-Munoz, S. Lee Yee, K. Straub, N. Castagnoli, *Chem-Biol. Interact.*, **51**, 13 (1984).
- 75) G. Krowech, P.S. Caldera-Munoz, K. Straub, N. Castagnoli, M.A. Correia, *Chem-Biol. Interact.*, **58**, 29 (1986).
- 76) C.K. Himmelsbach, H.L. Andrew, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **77**, 17 (1943).

- 77) G.C. Knowlton, E.G. Gross, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **78**, 93 (1943).
- 78) F.W. Oberst, E.G. Gross, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **80**, 188 (1944).
- 79) H. Yoshimura, S. Ōda, K. Oguri, H. Tsukamoto, *Biochem. Pharmacol.*, **22**, 1423 (1973).
- 80) K. Oguri, I. Mori, T. Hirano, J. Shigezane, E. Sonoda, H. Yoshimura, "Advances in Endogenous and Exogenous Opioids," Kodansha, Tokyo, 1981, p.455.
- 81) K. Oguri, I. Yamada-Mori, J. Shigezane, T. Hirano, H. Yoshimura, *Eur. J. Pharmacol.*, **102**, 229 (1984).
- 82) F.W. Oberst, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **73**, 401 (1941).
- 83) J.W. Kemp, E.L. Way, *Fed. Proc.*, **18**, 409 (1959).
- 84) E.L. Way, J.W. Kemp, J.M. Young, D.R. Grassetti, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **129**, 144 (1960).
- 85) C.I. Wright, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **71**, 164 (1941).
- 86) E.L. Way, J.M. Young, J.W. Kemp, *Bull. Narcotics*, **17**, 25 (1965).
- 87) H.W. Elliott, K.D. Parker, J.A. Wright, N. Nomof, *Clin. Pharmacol. Ther.*, **12**, 806 (1971).
- 88) 渡辺敬三, 牧野由起子, 箭内博行, 広部雅昭, 岡本敏彦, *薬学雑誌*, **93**, 695 (1973).
- 89) J.G. Umans, T.S.K. Chiu, R.A. Lipman, M.F. Schultz, S.-U. Shin, C.E. Inturrisi, *J. Chromatogr.*, **233**, 213 (1982).
- 90) T. Fujieda, K. Enokiya, K. Oguri, H. Yoshimura, *J. Pharmacobio-Dyn.*, **7**, s-92 (1984).
- 91) T.A. Gough, P.B. Baker, *J. Chromatogr., Sci.*, **20**, 289 (1982).
- 92) P.B. Baker, G.F. Phillips, *Analyst (London)*, **108**, 777 (1983).
- 93) J.M. Moore, *J. Chromatogr.*, **281**, 355 (1983).
- 94) A.C. Allen, D.A. Cooper, J.M. Moore, *Anal. Chem.*, **56**, 2940 (1984).
- 95) H. Newmann, *J. Chromatogr.*, **315**, 404 (1984).
- 96) I. Barni Coparrini, F. Centini, *J. Chromatogr.*, **279**, 609 (1983).
- 97) K.W. Lewis, *J. Chromatogr. Sci.*, **21**, 521 (1983).
- 98) E.J. Cone, W.D. Darwin, W.F. Buchwald, *J. Chromatogr.*, **275**, 307 (1983).
- 99) C.J.C.M. Laurent, H.A.H. Billiet, L. de Galan, *J. Chromatogr.*, **285**, 161 (1984).
- 100) P.C. White, I. Jane, A. Scott, B.E. Connete, *J. Chromatogr.*, **265**, 293 (1983).
- 101) L.W. Doner, A.-F. Hsu, *J. Chromatogr.*, **253**, 120 (1982).
- 102) E.J. Kubiak, J.W. Munson, *J. Pharm. Sci.*, **69**, 152 (1980).
- 103) J. Svensson, *J. Chromatogr.*, **375**, 174 (1986).
- 104) R.D. Todd, S.M. Muldoon, R.L. Watson, *J. Chromatogr.*, **232**, 101 (1982).
- 105) K. Ishikawa, J.L. McGaugh, S. Shibasaki, T. Kubo, *Jpn. J. Pharmacol.*, **32**, 969 (1982).
- 106) Z. Liu, M.R. Franklin, *Anal. Biochem.*, **142**, 340 (1984).