

研究種目：基盤研究（C）  
 研究期間：2007～2008  
 課題番号：19590687  
 研究課題名（和文） 直接導入型質量分析による中毒原因物質の迅速スクリーニング法の開発  
 研究課題名（英文） Rapid screening method for drug and poisonous substances by direct mass spectrometry  
 研究代表者  
 井上 博之（INOUE HIROYUKI）  
 科学警察研究所・法科学第三部・室長  
 研究者番号：40159992

研究成果の概要：直接導入型質量分析計を用いて、エクスタシー錠（MDMA含有錠剤、アンフェタミン及びカフェイン含有錠剤等）や医薬品錠剤（アセトアミノフェン、ジアゼパム等含有）中の成分を迅速に判定する手法を開発した。また、薬物添加尿についても適用可能であった。本法は、遺留試料や尿試料からの薬毒物スクリーニング法として利用可能であると考えられた。また、シルデナフィル関連化合物の分析法や覚せい剤の迅速な定量分析法を開発した。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,400,000	0	1,400,000
2008年度	800,000	0	800,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,200,000	0	2,200,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：社会医学・法医学

キーワード：乱用薬物、スクリーニング、質量分析計、尿、覚せい剤、MDMA、医薬品、法中毒学

#### 1. 研究開始当初の背景

犯罪事実の立証には原因物質の特定が必須である。中毒の原因となる物質は、青酸やヒ素等の比較的古典的なものから覚せい剤、麻薬等の乱用薬物や向精神薬等の医薬品、化粧品等の家庭用品、殺虫剤や除草剤等の農業用品等、きわめて多種類に及んでおり、原因物質の確認検査を行う前の効率的なスクリーニングは重要である。また、救急医療の現場では、急性中毒患者が搬送された場合、とりあえず一般的な処置と対症療法を行いながら、薬毒物スクリーニングが実施され、治療方針が決定される。

このように、中毒原因物質の検査において、その前段階としてのスクリーニングのもつ意義はきわめて大きく、スクリーニングの成否がそれぞれの目的の成否に大きく関与している。

生体試料からの薬毒物スクリーニングに関する研究は従来から多数報告されており、その方法は、大きく2つの工程（試料の前処理と機器分析）に分けられる。まず、試料の前処理として、従来は液-液抽出法が多用されてきたが、近年、固相抽出法や固相マイクロ抽出等による方法が多く見られる。次に機器分析としては、同定

能力の高いガスクロマトグラフィー/質量分析 (GC/MS) から、分析対象化合物が GC/MS よりも多く、高感度な液体クロマトグラフィー/質量分析 (LC/MS) へと変化してきた。しかしながら、これらの方法はいずれも試料の前処理として「抽出操作」を必要とし、迅速な結果が求められる臨床の現場での要求を満たすものではない。また、固相抽出や固相マイクロ抽出などはある程度熟練を要するため、病院の関係部門 (救急部、薬剤部等) での実施は容易であるとはいえない。最近、尿試料を直接 LC/MS に導入するスクリーニング法が紹介され、時間短縮では大きな成果を上げているが、装置を常にベストの状態に保つには専門家としての知識が不可欠である。誰もが容易に使用でき、迅速に結果が得られ、かつ特異性の高い薬毒物スクリーニング法の開発が真に求められている。

## 2. 研究の目的

### (1) 薬毒物の迅速スクリーニング法の開発

本研究では、中毒原因物質のうち、とくに乱用薬物や医薬品に焦点を絞り、中毒事故現場での遺留試料や尿試料から簡便、迅速、かつ特異性の高いスクリーニング法を開発を目的とした。

### (2) 勃起不全 (ED) 治療薬の分析

ED 治療薬は、国内で医薬品として承認された製品が発売されているが、購入には医師の処方箋が必要である。そのため、国内では未承認の類似品や模造品を輸入販売する事例や、いわゆる健康食品から ED 治療薬成分が検出される事例が多数報告されている。そこで、ED 治療薬関連化合物を対象とした分析法の開発を行った。

### (3) 覚せい剤の定量分析法の開発

従来、わが国で乱用される覚せい剤は、純度の極めて高いものがほとんどであった。ところが、近年、押収される覚せい剤に増量剤としてジメチルスルホン (DMS) が混入された事例が多発している。そこで、覚せい剤中のメタンフェタミン (MA) 及び DMS の同時定量法を開発を行い、その実態を調査するとともに、薬毒物スクリーニング法開発のための情報とした。

## 3. 研究の方法

### (1) 薬毒物の迅速スクリーニング法の開発

GCやHPLCなどの分離機器を接続しない直接導入型質量分析計 (日立DS-1000) を測定装置として用い、以下の実験を行った。

まず、MA、アンフェタミン (AP)、MDMA 類 (4 種) 及び医薬品成分等のメタノール溶液をそれぞれガラス製ろ紙に滴下し、装置に導入、加熱器温度、針電極電圧、フォーカス電圧などを最適化した。

ろ紙上の分析対象物は、金属製ブロックヒータにて熱脱離され、ダイアフラムポンプによりイオン源へ送られる。コロナ放電によりイオン化された分析対象物は、電場によって質量分析部に送られ、質量分析 (MS及びMS/MSモード) される (図1)。

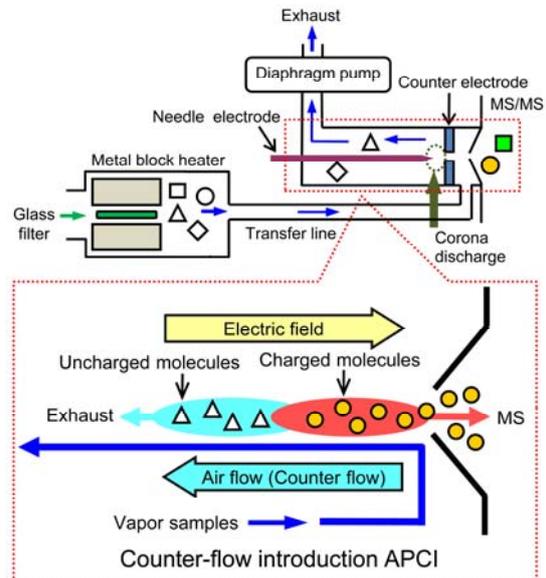


図1 質量分析計の直接導入部 (熱脱離逆流型大気圧化学イオン化法) の構造

MS/MSモードの際の衝突解離電圧については、薬物毎に最適化した。また、薬物を添加した尿試料50  $\mu$ Lをろ紙に滴下し、同様に測定した。

### (2) ED 治療薬の分析

ED 治療薬及び関連化合物として、シルデナフィル、バルデナフィル、タダラフィル及びヒドロキシホモシルデナフィルを分析対象物とし、薄層クロマトグラフィー (TLC)、赤外分光分析 (IR)、GC/MS 及び LC/MS を行った。

### (3) 覚せい剤の定量分析法の開発

覚せい剤結晶中の MA 及び DMS を効果的に抽出するための条件設定とナローボアキャピラリーカラムを用いた迅速 GC 分析法の条件設定を行った。

## 4. 研究成果

### (1) 薬毒物の迅速スクリーニング法の開発

MA、AP、MDMA 類、医薬品等の薬物のプロトン化分子をプリカーサイオンとするプロダクトスキャンから得られたスペクトル (図2) は各薬物に特徴的であり、薬物の同定に有効であると考えられた。

MDEA、MBDB 及び MDDMA を用いて位置異性体間の識別の可能性を検討した。MDEA と MBDB は明瞭に識別可能であったが、MDEA と MDDMA はマスペクトルに若干の差異は認められたものの、類似

したフラグメントピークを与えた (図2)。

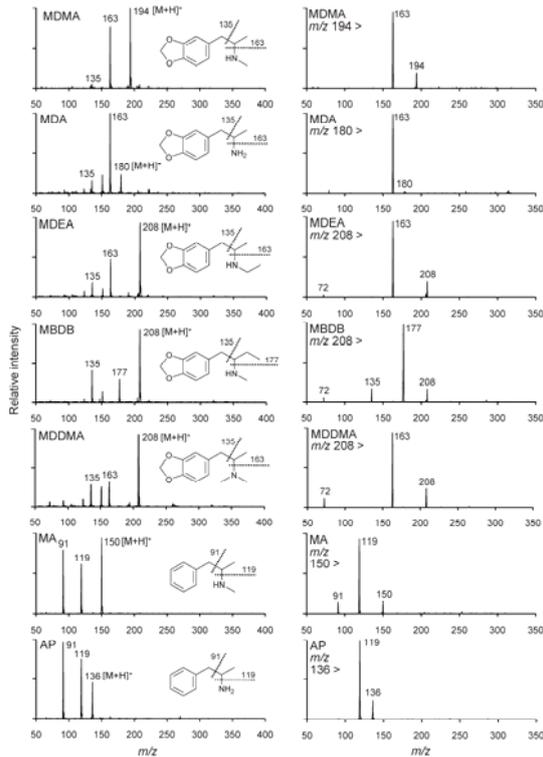


図2 薬物のMSスペクトル(左欄)及びMS/MSスペクトル(右欄)

本法は、他のスクリーニング法(例えば呈色反応やイムノアッセイ等)と比較し、特異性の優れた原理を利用しているが、構造が類似した違法ドラッグの近年の流通を考慮すると、その判定には注意が必要であると考えられた。

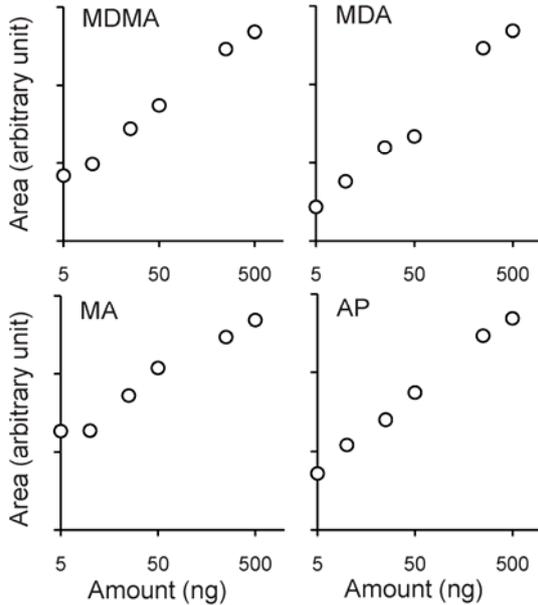


図3 薬物の用量とピーク強度の相関

MDMA, MDA, MA及びAPについて、それぞれ薬物の滴下量とピーク強度の関係を

調べたところ、5-500 ngの範囲で良好な直線性を得た(図3)。

4種類のエクスタシー錠剤を約2分間隔で連続分析したところ、いずれの試料もそれらの成分を正しく判定することができた(図4)。また、本法を医薬品錠剤に適用したところ、同様に錠剤中の有効成分を正しく判定することが可能であった(図5)。

健康成人尿に薬物を添加した試料については、さまざまな程度のイオン抑制効果が認められた。そこで、尿試料を滴下後、アルカリ溶液(NaOH)を滴下し、同様に分析したところ、MAとMDMAについては、そのイオン抑制が抑えられ、ピーク強度が増大した。しかしながら、第1級アミンであるAPとMDAについては、アルカリ溶液滴下による効果は限定的であった。薬物添加尿試料をアルカリ性下、有機溶媒抽出し、その有機層を同様に分析したところ、AP及びMDAのピークは大幅に増大した。

以上の結果から、本法は、遺留試料や尿試料からの薬毒物スクリーニング法として利用可能であると考えられた。

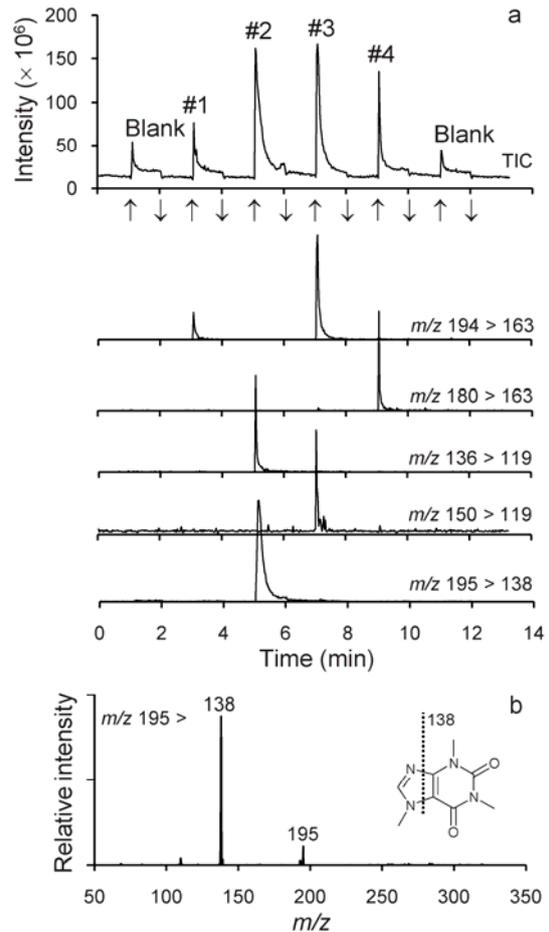


図4 エクスタシー錠剤の連続分析. 錠剤#1, MDMA含有; #2, AP, カフェイン含有; #3, MDMA, MA含有; #4, MDA含有.

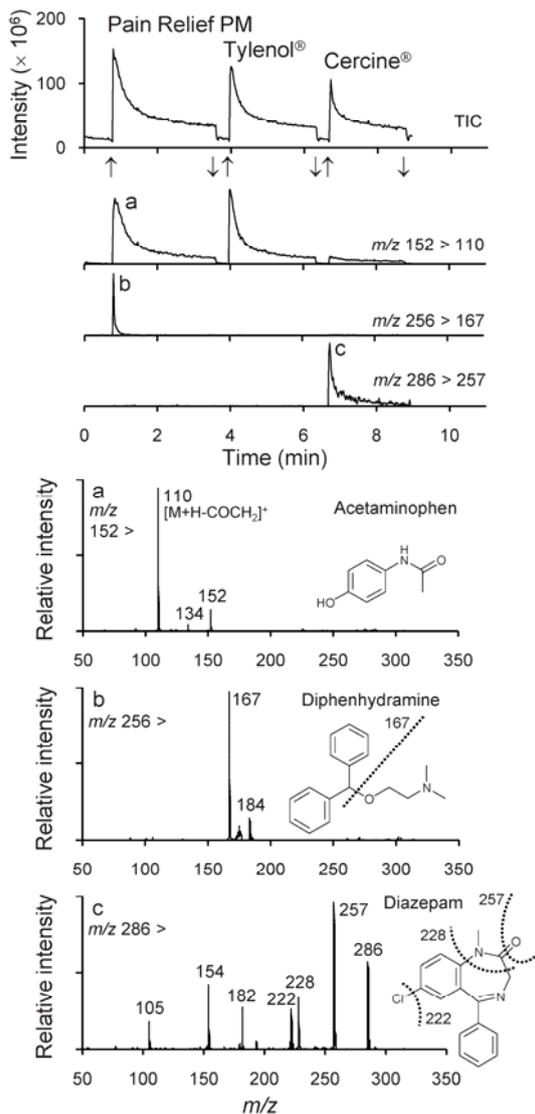


図5 医薬品錠剤の連続分析. Pain Relief PM, アセトアミノフェン及びジフェンヒドรามミン含有; Tylenol, アセトアミノフェン含有; Cercine, ジアゼパム含有.

(2) ED 治療薬の分析

TLC では、2-プロパノール・25%アンモニア水 (95 : 5) により、4 種類の化合物を良好に分離可能であった。IR では、各化合物に特徴的な吸収が認められ、それぞれの識別が可能であった。

GC/MS では、遊離塩基、TMS 誘導体のいずれにおいても各化合物を分離可能であったが、ヒドロキシホモシルデナフィルは遊離塩基としてピークが検出されなかった。また、マススペクトルにより各化合物を確認可能であった (図6, 7)。

HPLC では、ODS カラムと酢酸アンモニウム・メタノール系溶媒の組み合わせにより、各化合物を良好に分離可能であった (図8)。LC/MS では、いずれのマススペクトルにおいてもプロトン付加分子が強

く検出された。

以上の検査から、各化合物を確実に識別できるものと考えられた。

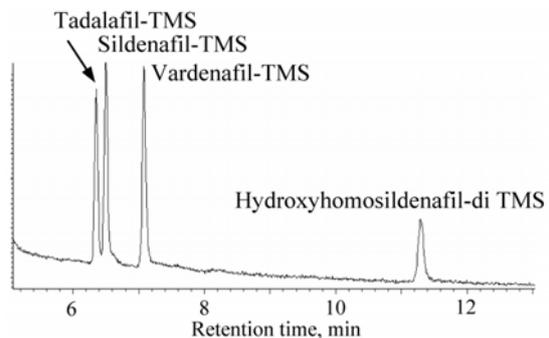


図6 シルデナフィル及び関連化合物のTMS誘導体のGC/MSクロマトグラム

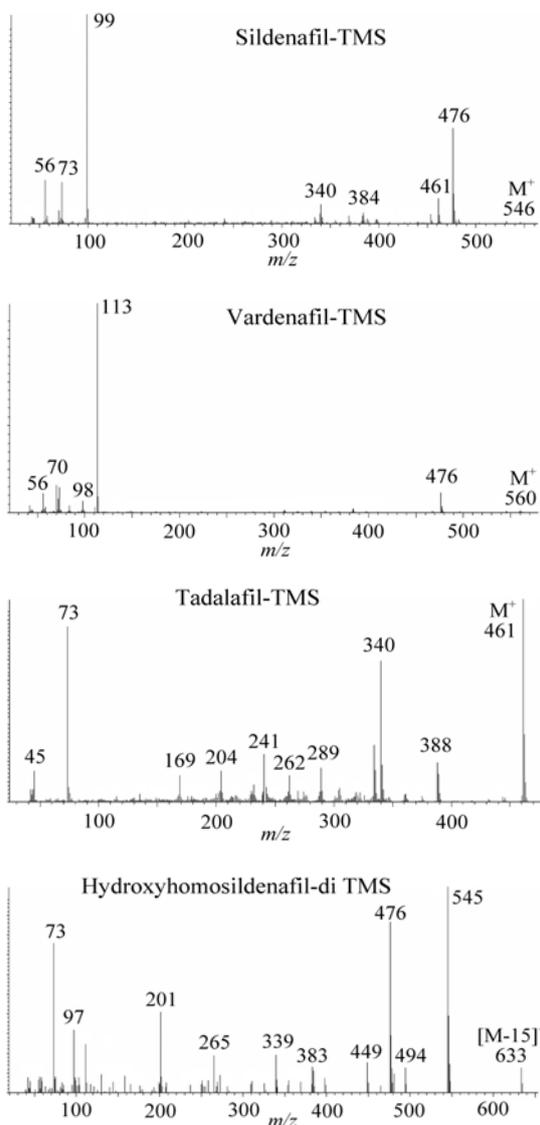


図7 シルデナフィル及び関連化合物のTMS誘導体のマススペクトル

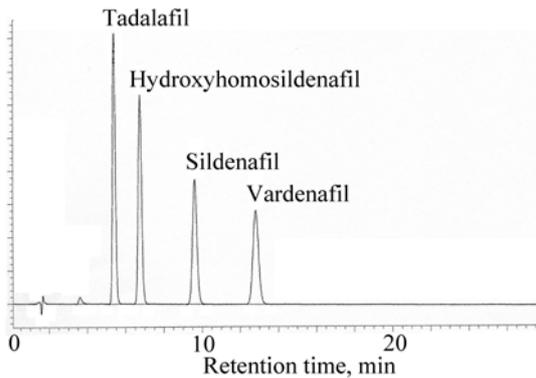


図8 シルденаフィル及び関連化合物のHPLCクロマトグラム

(3) 覚せい剤の定量分析法の開発

MAは塩基性下では高回収率で有機溶媒抽出されたが、DMSの回収率はpHに依存せず、また回収率は50%以下であった。そこで、種々検討の結果、アルカリ化溶液として80%炭酸カリウム溶液、抽出溶媒としてジクロロメタン・2-プロパノール(3:1、内部標準としてジフェニルメタン含有)を用いることにより、概ね満足する回収率を得た(表1)。

表1 メタンフェタミン(MA)及びジメチルスルホン(DMS)の水溶液からの回収率(%)

Concentration (µg/ml)	Recovery (%)			
	MA		DMS	
	Mean ± SD	CV (%)	Mean ± SD	CV (%)
0.1	101 ± 1.5	1.5	87.4 ± 1.2	1.4
0.5	102 ± 0.9	0.9	87.2 ± 0.8	0.9
2.4	101 ± 1.0	1.0	89.4 ± 0.7	0.8

SD, Standard deviation; CV, coefficient of variation

ナローボアGCカラムを用いて得られたクロマトグラムを図9に示す。DMS、MA及びIS(ジフェニルメタン)の分離は良好であり、1.3分以内に3物質が検出可能であった。

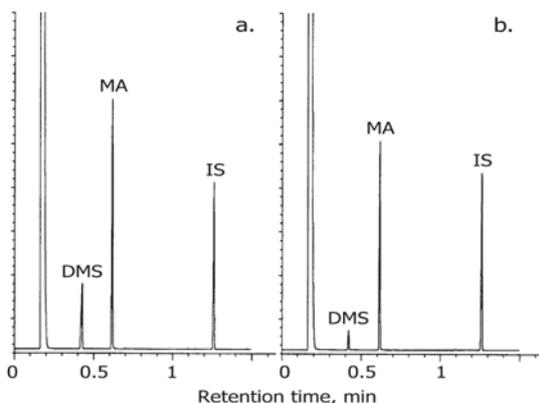


図9 ガスクロマトグラム。a, 標準品; b, 押収覚せい剤

押収された覚せい剤127試料に本法を適用したところ、約30%の試料にDMSが混入され、その含有率はほとんどが50%以下であったが、中には92%も含有する覚せい剤が不正に流通していることが明らかとなった(表2)。これらの知見は、覚せい剤が疑われる試料を迅速スクリーニングする際の貴重な情報のひとつとなった。

表2 押収覚せい剤127例中のメタンフェタミン(MA)及びジメチルスルホン(DMS)含有量(%)

Concentration range (%)	MA-HCl		DMS	
	n	(%)	n	(%)
0	0	0.0	86	67.7
0.1-9.9	2	1.6	4	3.1
10-19.9	4	3.1	11	8.7
20-29.9	0	0.0	7	5.5
30-39.9	0	0.0	6	4.7
40-49.9	1	0.8	6	4.7
50-59.9	6	4.7	1	0.8
60-69.9	8	6.3	0	0.0
70-79.9	8	6.3	1	0.8
80-89.9	11	8.7	4	3.1
≥90	87	68.5	1	0.8
Total	127	100	127	100

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計4件)

- ① Inoue, H., Hashimoto, H., Watanabe, S., Iwata, Y.T., Kanamori, T., Miyaguchi, H., Tsujikawa, K., Kuwayama, K., Tachi, N., Uetake, N., Thermal desorption counter-flow introduction atmospheric pressure chemical ionization for direct mass spectrometry of ecstasy tablets., *J. Mass Spectrom.*, *in press*. 査読あり
- ② Inoue, H., Iwata, Y.T., Kuwayama, K., Characterization and Profiling of Methamphetamine Seizures., *J. Health Sci.*, 54, 615-622, 2008. 査読あり
- ③ Inoue, H., Kuwayama, K., Iwata, Y.T., Kanamori, T., Tsujikawa, K., Miyaguchi, H., Simple and simultaneous detection of methamphetamine and dimethyl sulfone in crystalline methamphetamine seizures by fast gas chromatography, *Forensic Toxicol.*, 26, 19-22, 2008. 査読あり
- ④ Inoue, H., Kanamori, T., Kuwayama, K., Iwata, Y.T., Satoh, T., Yanagihori, A., Matsushima, K., Chemical profile of sildenafil and related compounds, *Jpn. J. Forensic Sci. Tech.*, 13, 73-82, 2008. 査読あり

[学会発表] (計 5件)

- ①井上博之, 警察関連領域における薬毒物鑑定, 第1回関西中毒分析研究会, 平成20年9月6日, 大阪府吹田市.
- ②Inoue, H., Hashimoto, H., Iwata, Y.T., Kanamori, T., Tsujikawa, K., Miyaguchi, H., Kuwayama, K., Rapid and direct analysis of MDMA tablets by atmospheric pressure chemical ionization/ion-trap mass spectrometry., 7th International Symposium ADVANCES IN LEGAL MEDICINE, 平成20年9月4日, 大阪市.
- ③井上博之, 乱用薬物の分析に関する研究, 日本法中毒学会第27年会, 平成20年6月13日, 東京都品川区.
- ④Inoue, H., Kuwayama, K., Iwata, Y.T., Kanamori, T., Tsujikawa, K., Miyaguchi, H., Simple and simultaneous detection of methamphetamine and dimethyl sulfone in crystalline methamphetamine seizures by fast gas chromatography., 第46回国際法中毒学会, 平成20年6月6日, フランス領マルティニーク.
- ⑤Inoue, H., Kuwayama, K., Iwata, Y.T., Kanamori, T., Tsujikawa, K., Miyaguchi, H., Simultaneous determination of methamphetamine and dimethyl sulfone in crystalline methamphetamine seizures by fast gas chromatography., Pitcon2008, 2008/3/6, 米国ニューオーリンズ.

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

井上 博之、科学警察研究所・法科学第三部・室長、40159992

### (2) 研究分担者

岩田 祐子、科学警察研究所・法科学第三部・主任研究官、20356190