

令和 2 年 6 月 2 日現在

機関番号：82505

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K12994

研究課題名(和文) 表面増強ラマン散乱を用いた薬物スクリーニング法の高度化

研究課題名(英文) Sophistication of screening method for drugs of abuse by surface enhanced Raman spectroscopy

研究代表者

瀬川 尋貴 (Segawa, Hiroki)

科学警察研究所・法科学第三部・研究員

研究者番号：80778978

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、表面増強ラマン散乱(SERS)を用いた新しい規制薬物スクリーニング法の基盤を確立することを目標とし、手法の最適化、適用範囲の検証、解析法の検証および実試料での試行を中心に研究を行った。その結果、通常のラマン散乱に比べ1万倍以上の強度を達成する簡便な測定方法の開発に成功した。また、開発した手法で幅広い規制薬物の測定が可能であることを確認した。さらに、規制薬物を含有する模擬試料や実試料の測定に本法を用いた結果、薬物のSERSスペクトルを取得することに成功し、スクリーニング法としての有用性を示すことに成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

規制対象となる薬物には、化学的な構造が類似した様々な物質が含まれている。そのため、科学的な証拠に基づいた客観的な薬物事犯の捜査を行うためには迅速かつ正確な薬物スクリーニングは重要である。本研究で開発した手法は簡便かつ高い識別能力を有していた。このことから、薬物スクリーニング法の一つの選択肢となる可能性を示すことができた。また、物質の構造に依存して信号強度に差がみられた。この構造と信号の相関はSERSの適用範囲を明らかにし、信号が発生するメカニズムを解明するための一助となることが期待された。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study is establishing basic knowledges and experimental protocols for applying surface-enhanced Raman scattering (SERS) spectroscopy to forensic drug analysis as a rapid screening method. For this purpose, optimization of the experimental protocol, clarifying the range of application, optimizing analytical protocols, and application to the pseudo- and real-samples were performed. The developed method could provide 10,000 times higher signal intensity than spontaneous Raman scattering, with simple experimental protocols. Various controlled drugs including stimulant, narcotics, hypnotics and new psychoactive substances could be observed by the developed SERS method. The controlled drugs could be detected from pseudo- and real-samples like beverages and herbal highs. These results show the possibility of the developed method as a rapid drug screening method.

研究分野：法薬物分析、分光分析、超臨界流体クロマトグラフィー

キーワード：表面増強ラマン散乱 薬物分析 規制薬物 金ナノ粒子 スクリーニング

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

薬物犯罪は日本社会の秩序を脅かす犯罪の一つである。近年国内でも問題となったいわゆる危険ドラッグを始めとして、乱用薬物には様々な構造のものが存在している。それゆえ、科学的な証拠に基づいた客観的な薬物事犯捜査を遂行するためには、迅速かつ正確な薬物スクリーニングが求められる。呈色反応や抗原抗体反応を利用する方法がこれまで簡易スクリーニング法として用いられてきた。これらの手法では薬物のおおまかな種類の迅速な判定は可能であるものの、わずかな構造の差異を反映した識別力の高い分析は困難であるという課題があった。

一方で、分光学的手法、特にラマン分光等の振動分光法も簡易な測定方法としての応用が期待されてきた。この手法は分子構造を鋭敏に反映した振動スペクトルを与えるが、強度が小さく容易に夾雑物による妨害を受けるという課題があった。

2. 研究の目的

ラマン散乱の強度を増強させることができれば、迅速かつ高い識別力を有する薬物スクリーニング法としての応用が期待できる。表面増強ラマン散乱 (SERS) は近年活発に研究が行われている現象の一つであり、ラマン散乱強度を飛躍的に増強させることが知られている。本研究では、SERS を用いた薬物スクリーニング法の開発のため、測定条件の最適化、スペクトル分析法の開発、標準スペクトルの取得および実試料での検証等を行い、スクリーニング技術としての基盤部分を確立することを目的に研究を遂行した。

3. 研究の方法

SERS の測定においては、ナノ構造体 (以下、「SERS 基質」と呼ぶ) が必須であるため、条件検討の第一として、SERS 基質の構成元素、マクロな構造、粒子径等の最適化を行った。あわせて、測定条件の最適化も行った。得られた条件下で科学警察研究所が所有する薬物標品を幅広く測定し、標準スペクトルの取得とともに得られたデータの基礎的な解析法を検討した。また、開発した手法が実際の薬物試料の測定に適用できるかを検証するために、清涼飲料に薬物を添加した模擬試料や、いわゆる脱法ハーブ製品について、測定を試みた。

4. 研究成果

(1) SERS 測定条件の最適化

一般的な SERS 測定では金あるいは銀のナノ構造体を SERS 基質として用いる場合が多い。今回の最適化においては金および銀で作られた、粒子径や構造が異なる様々なナノ構造体を用いて信号の測定を行った。その結果、粒子径約 45 nm の金ナノ粒子を用いた際に最も良好な信号を取得できた。開発した実験条件では、試料溶液 6 μ L、凝集開始剤としての 1 M 塩化ナトリウム水溶液 6 μ L、および金ナノ粒子分散液 48 μ L を順次添加し軽く攪拌するだけで直ちに測定を行うことができた。測定は 1064 nm の励起光として用いる携帯型ラマン分光光度計でも十分可能であった。実際に、睡眠薬の一種であるニトラゼパムのスペクトルを用いて SERS による増強度を見積もると、一万倍のオーダーでの増強を確認できた。

(2) 標準スペクトル測定

覚醒剤、麻薬、危険ドラッグ等の規制薬物に加え、睡眠薬および抗うつ薬等の幅広い薬物標準品について、確立した条件下で SERS 測定を行い、標準スペクトルの取得を行った。多くの薬物から SERS 信号を得ることができたが、一部については信号を与えなかった。これらの薬物の化学構造には近接した位置に複数のカルボニル基が存在するという共通した特徴があった。SERS 信号が得られなかった原因は薬物分子の金ナノ粒子への吸着が見られなかったことと推定された。得られた SERS スペクトルを比較すると、薬物分子の置換基の種類や置換位置の相違を反映して SERS スペクトルは明瞭に変化しており、高い識別力を有していることが分かった。一方で、炭素数の長短といった、振動スペクトルに明瞭な変化を与えにくい官能基の差異については容易に判別可能な変化は検出されなかった。

(3) スペクトル解析法の検討

確立した実験条件で得られる SERS スペクトルには蛍光由来と推測されるブロードなバックグラウンド信号に加え、金ナノ粒子の合成に付随する成分由来と推測されるピーク状のノイズ信号が観察された。前者についてはスペクトルに外接する楕円の中心の軌跡を利用して補正するプログラムを作成することで、無視できるレベルまで影響を排することに成功した。後者のノイズについては、ノイズの標準スペクトルをバックグラウンドとして取得し、後に減算することで対応を試みたが、金ナノ粒子のロット間差や日間変動等によるものと推測されるスペクトルパターンの変化が観察されたため、単純な減算での補正は困難であった。

(4) 清涼飲料に薬物を添加した模擬試料の測定

清涼飲料の例として、お茶、カフェオレおよび各種果汁入り飲料 (りんご、オレンジ、グレープフルーツ、桃) を用い、100 μ g/mL の濃度となるように 4 種類の睡眠薬 (フルニトラゼパム、エチゾラム、ゾルピデムおよびゾピクロン) をそれぞれ添加した模擬試料を作成し、測定を行った。カフェオレでは信号を得ることができなかった。一方、他の飲料について、フルニトラゼパムを除いた 3 種類の睡眠薬は試料の直接測定でも信号を取得できた。検出の可否の差異は各薬物分子の金ナノ粒子への吸着性の差異によるものと推測された。実際に薬物標準品の希釈系列を測定して得られる SERS 強度-濃度のプロットをとると、フルニトラゼパムは他の 3 種類の薬

物に加えプロットの立ち上がりが遅く、吸着性が低いことが分かった。次に、模擬試料を水で 10 倍希釈したものを分析試料とすると、薬物分子の濃度が低下するにもかかわらず信号強度が増大することが分かった。これは、希釈により夾雑成分の影響が低減しとことで、薬物分子と金ナノ粒子の吸着が促進され、信号が増強したものと推測された。10 倍希釈する条件下での検出限界は飲料中の薬物濃度として 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 程度であり、処方薬に含有される各睡眠薬の濃度から推測すると、ゾルピデムおよびゾピクロンについては十分検出可能な濃度と見積もられた。

(5) いわゆる脱法ハーブ製品の測定

実際のいわゆる脱法ハーブ製品について、開発した手法での測定を試みた。脱法ハーブは植物片に主に合成カンナビノイドという薬物を添加することで造られている。合成カンナビノイドの標準品の測定では多くの化合物から SERS スペクトル得ることができた。一方で、脱法ハーブ製品を開発した手法で直接測定したところ、ごく一部からのみ有意な信号得られ、標準品の測定では SERS スペクトルが得られていた薬物についても信号が得られなかった。この原因を明らかにするために脱法ハーブ製品中の合成カンナビノイドの定量分析、各合成カンナビノイドの金ナノ粒子への吸着性の評価、および植物片表面の合成カンナビノイド結晶の有無の検査等を行ったが、信号が得られたものと得られなかったもの間に差は見られなかった。しかし、植物片をメタノールで簡易抽出して得られた溶液を分析試料として SERS 測定を行ったところ、直接測定では信号を与えなかったものも含め、多くの脱法ハーブ製品から信号を得ることができた。以上の結果から、直接測定の成否は合成カンナビノイド分子の水溶性の差に起因するものと推測された。実際に化学構造から分子の水溶性を予測すると、直接測定で信号が得られた合成カンナビノイドはそうでなかったものに比べ、モル濃度で 2 桁から 5 桁程度大きな水溶性を持つという予測結果が得られた。このことから、脱法ハーブ製品をメタノールで簡易抽出することで合成カンナビノイド分子が溶媒和され、水で構成される SERS 測定系への混和を促進し、金ナノ粒子との吸着を達成していると考えられ、簡便な前処理で手法の適用範囲を拡大できることが明らかになった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Segawa Hiroki, Fukuoka Takao, Itoh Tamitake, Imai Yuichi, Iwata Yuko T., Yamamuro Tadashi, Kuwayama Kenji, Tsujikawa Kenji, Kanamori Tatsuyuki, Inoue Hiroyuki	4. 巻 144
2. 論文標題 Rapid detection of hypnotics using surface-enhanced Raman scattering based on gold nanoparticle co-aggregation in a wet system	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Analyst	6. 最初と最後の頁 2158 ~ 2165
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/C8AN01829D	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Segawa Hiroki, Fukuoka Takao, Itoh Tamitake, Imai Yuichi, Iwata Yuko T., Yamamuro Tadashi, Kuwayama Kenji, Tsujikawa Kenji, Kanamori Tatsuyuki, Inoue Hiroyuki	4. 巻 144
2. 論文標題 Rapid detection of synthetic cannabinoids in herbal highs using surface-enhanced Raman scattering produced by gold nanoparticle co-aggregation in a wet system	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Analyst	6. 最初と最後の頁 6928 ~ 6935
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/C9AN01512D	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 瀬川 尊貴、福岡隆夫、伊藤民武、今井裕一、岩田祐子、山室匡史、桑山健次、辻川健治、金森達之、井上博之
2. 発表標題 表面増強ラマン散乱を用いた簡易薬物スクリーニング法の開発
3. 学会等名 日本法科学技術学会第24回学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 瀬川 尊貴、福岡隆夫、伊藤民武、今井裕一、岩田祐子、山室匡史、桑山健次、辻川健治、金森達之、井上博之
2. 発表標題 表面増強ラマン散乱を用いた合成カンナビノイド類の簡易検出法の開発
3. 学会等名 日本法中毒学会第38年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Segawa Hiroki、Fukuoka Takao、Itoh Tamitake、Imai Yuichi、Iwata Yuko T.、Yamamuro Tadashi、Kuwayama Kenji、Tsuji-kawa Kenji、 Kanamori Tatsuyuki、Inoue Hiroyuki
2. 発表標題 Rapid detection of drugs of abuse by surface-enhanced Raman scattering spectroscopy based on gold nanoparticle co- aggregation
3. 学会等名 10th International Conference on Advanced Vibrational Spectroscopy (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考