

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 28 年 6 月 14 日現在

機関番号：16401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26810097

研究課題名(和文)安全・安心に資する表面増強ラマン分光を用いた脱法ハーブ成分の新規同定法の開発

研究課題名(英文)Development of new methods for identifying synthetic cannabis components using surface enhanced Raman spectroscopy for Safety and Security

研究代表者

西脇 芳典(NISHIWAKI, YOSHINORI)

高知大学・人文社会・教育科学系・講師

研究者番号：50632585

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：乱用薬物の拡散を抑制するため、現場で行える新しい同定法の開発が求められている。表面増強ラマン分光(SERS)は、金属ナノ粒子を用いた高感度な手法である。本研究では、SERSを用いて様々な乱用薬物に適用し、その有用性を評価した。その結果、様々な乱用薬物について、高い増強効果が認められた。薄層クロマトグラフィーや固相抽出を組み合わせることで、良好なSERSスペクトルを取得できた。

研究成果の概要(英文)：In order to prevent the diffusion of drugs of abuse, the development of new identification method that can be performed in the field is required. Surface enhanced Raman spectroscopy (SERS) is a sensitive technique using metallic nanoparticles. In this study, we applied to a variety of drugs of abuse using SERS and evaluated its usefulness. As a result, high enhancing effect was observed from a variety of drugs of abuse. Using the combination of thin layer chromatography and solid phase extraction, good SERS spectra were acquired.

研究分野：法化学

キーワード：ラマン 薬物

## 1. 研究開始当初の背景

近年、麻薬や覚せい剤の代用として、脱法ドラッグと呼ばれる様々な化学物質や植物が法律の規制枠を逃れて乱用されている。容易に入手可能であることから、特に青少年の間で蔓延し、大きな社会的問題となっている。脱法ドラッグのうち、近年最も流通しているのが脱法ハーブである。脱法ハーブ成分は、いずれもカンナビノイド受容体のアゴニストであり、「合成カンナビノイド」と呼ばれ、これらを摂取することで大麻と同様の薬理作用を引き起こす。合成カンナビノイドは人工的に合成されており、規制が強化されると構造が酷似した新たな合成カンナビノイドが出現する。合成カンナビノイドの分析研究は世界的に行われ、構造決定、迅速分析、一斉分析を目的とした多数の報告がなされている。一方、薬物を取締まる上で重要なのが、現場検査法の開発である。しかし、次々と現れる多数の合成カンナビノイドに対処できる現場検査法はなく、その報告例は認められない。住所不定者、挙動不審者、外国人の身柄を現場で迅速に拘束することが、殺人等の重大犯罪を未然に防ぐことに繋がる。GC-MS、LC-MS、CE-MS、NMRなどの大型分析器を現場に持ち込むことはできない。覚せい剤や大麻の現場検査は、簡便な呈色反応試薬や抗原抗体反応キットによって行われている。しかし、脱法ハーブは含有する成分種が多い上、新しい成分を含むものが外国から次々と入ってくるため、呈色反応試薬や抗原抗体反応キットで対応することが困難である。乱用薬物のような有機化合物のスペクトル分析が可能な装置として、レーザーラマン装置がある。しかし、レーザーラマン分析は、原理的に感度の低い手法である。従って、微量な薬物の同定は難しい。さらに、レーザーラマン分析は、試料に色素が含まれると蛍光が発生し、明瞭なスペクトルを得ることが困難になるとう欠点がある。表面増強ラマン分光分析(SERS)は金属ナノ形状体に吸着した分子のラマン散乱強度が増大することを利用したレーザーラマン装置を用いた高感度分析法である。他にない優れた特長を有することから、微量環境物質の高感度分析、バイオテクノロジー、生体物質の細胞外イメージング、表面界面における反応過程の観察などの分野でも応用が期待されている。

## 2. 研究の目的

本研究では、レーザーラマン装置に専用サンプルホルダーを導入し、最適化した銀ナノ粒子試薬を加えることで、表面増強ラマン(SERS)スペクトルの高感度化を図る。しかし、当初の目的を行うことが困難な状況が生まれた。脱法ハーブの包括規制の強化である。申請時の計画で

は、インターネットを通じた買上によるサンプル調達を想定していたが、取締りの急激な強化により入手が困難となった。そこで、他の乱用薬物について、犯罪現場で行うことができる簡便な抽出法を開発し、将来的に現場で高感度に SERS スペクトルを取得して成分同定ができるよう基礎データを蓄積することとした。簡便な抽出法 SERS スペクトルによる乱用薬物の新規同定法を開発することが本研究の目的である。

具体的に、以下の5点を明らかにすることを目的とした。

- (1)レーザーラマン装置に本研究目的に特化した専用サンプルホルダーを導入し、分析の高感度化が可能になることを明らかにする。最適な銀ナノ粒子試薬濃度を決定する。
- (2)各種乱用薬物の SERS 増強効果の検討とスペクトル同定力の評価を行う。
- (3)薄層クロマトグラフィー(TLC)と SERS を組み合わせた手法を開発する。
- (4)効率よく正確な結果が得られる固相抽出法を確立する。現場で行うことを想定し、操作手順が簡便な手法にする。
- (5)固相抽出 - SERS 分析を用いた手法を開発する。

## 3. 研究の方法

### (1)レーザーラマン装置の高感度化

#### 銀ナノ粒子試薬の最適化

専用サンプルホルダーを使用する際の銀ナノ粒子試薬濃度を最適化する。濃度が濃いとレーザーは透過しないため、専用サンプルホルダーの利点が失われる。薄めすぎると SERS 効果が減少する。良好な SERS スペクトルが得られる濃度・粒子径を検討する。

#### 装置の最適化

薬物の吸収位置を勘案し、レーザーラマン分光測定には、532nmNd:YVO<sub>4</sub> レーザーを備えた堀場製作所製 T-64000 を用いた。ラマン散乱光の検出は CCD 検出器により測定した。

### (2)TLC 分析

TLC は、シリカゲル板(MERCK 社製)に抽出液をスポットし、メタノール:アンモニア(9:1)で展開し、乾燥後、シモン試薬を噴霧した。

### (3)抽出法の確立

レーザーをそのまま薬物に照射すると含有する色素が強い蛍光を発する。蛍光はレーザーラマン分析を障害し、スペクトルを取得することを困難にする。また、明瞭に同定するためには、出来るだけ成分以外の物質は抽出操作によって取り除

く必要がある。

本研究では、誰でも現場で実施できることを想定し、操作手順が簡便な方法として、「液-液抽出」、「固相抽出」を検討した。

#### 「液-液抽出」

試料約 20mg を蓋つき試験管に入れ、液性を变化させて有機溶媒抽出を行う(第一抽出操作)。有機溶媒層を分取し、新たな蓋つき試験管に入れ、希塩酸、銀ナノ粒子試薬、塩化ナトリウム水溶液を加え、抽出を行う(第二抽出操作)。銀ナノ粒子層(水層)を専用液体セルに入れてレーザーラマン測定を行う。

#### 「固相抽出」

様々な固相抽出ミニカラムを用いた抽出を行う。試料約 20mg に水-メタノール液を入れ、抽出する(第一抽出操作)。その抽出液を固相抽出ミニカラムに入れてロードし、洗浄・溶出する条件を検討し、最適化する(第二抽出操作)。溶出液を専用液体セルに入れ、銀ナノ粒子試薬、塩化ナトリウム水溶液を加え、レーザーラマン測定を行う。

#### (4) 同定能力の評価

確立した手法を用いて SERS スペクトルを取得する。得られた SERS スペクトルによって同定が可能であることを明らかにする。

GC-MS によって成分が同定・定量された試料について、SERS 測定を行う。成分・濃度がどのように SERS スペクトルに反映されるか解析を行う。様々な試料に適用し、その同定能力(鑑別能力)を明らかにすることで、本法をの新規スペクトル分析法として確立する。

### 4. 研究成果

#### (1) 銀ナノ粒子の最適化

様々な銀濃度のナノ粒子溶液を作成し、メタンフェタミン 1ppm について、SERS 測定を行った。合成したナノ粒子の透過電子顕微鏡(TEM)写真を図 1 に示す。

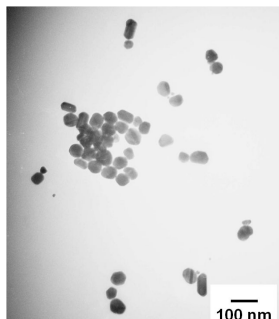


図 1. 合成した銀ナノ粒子の TEM 写真

粒形の比較的揃ったナノ粒子溶液を得ることができた。最も高感度に分析できるナノ粒子径は約 50nm であり、濃度は 5M が最適で

あった。その時のメタンフェタミン 1ppm の増強効果は 51000 倍であった。

#### (2) 様々な乱用薬物への SERS の適用

SERS の増強効果は物質によって様々であることが知られている。乱用薬物の増強効果とその SERS スペクトルから同定が可能か評価した。図 2 に様々な薬物の SERS スペクトルを示す。

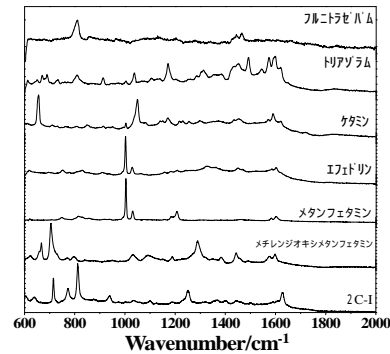


図 2. 各種乱用薬物の SERS スペクトル

いずれのスペクトルも 10000ppm 水溶液を SERS して得られたものである。それぞれ 20000 倍 ~ 60000 倍程度の増強効果が認められた。また、そのピークから高精度な同定が可能であることがわかった。

#### (3) TLC-SERS による尿中メタンフェタミンの分析

メタンフェタミン 1ppm 水溶液の水溶液を液-液抽出し、定法に従って TLC に展開した。展開後の TLC 板にシモン試薬を噴霧し、青く発色したスポットに 1% 塩化ナトリウムを 10  $\mu$ l 滴下し、その上に銀ナノ粒子を滴下しラマン測定を行った。そのスポットから、水溶液を SERS したときと同様の約 50000 倍の増強したスペクトルを取得することができた。そこでメタンフェタミン 0.5ppm を尿に添加し、同様に抽出-TLC を行い、SERS スペクトルを測定した。測定して得られたスペクトルを図 3 に示す。

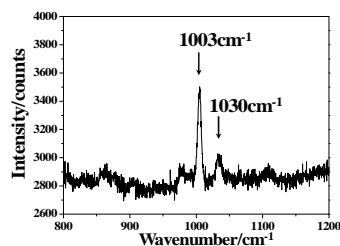


図 3. 尿中メタンフェタミン 0.5 ppm の SERS スペクトル

尿中には様々な夾雑物が存在するが、標準試料と同等程度のスペクトルを得ることができた。

#### (4) 固相抽出-SERS による各種錠剤の分析

SERS 分析に先立ち、各種錠剤に含まれる乱用薬物成分は予め GC-MS で定性・定量した。

その後、固相抽出した。各種錠剤は、様々な色をしており、ラマン分光分析にとって妨害になる蛍光が発生しやすい。しかし、開発した前処理を実施することにより、明瞭なスペクトル確認が可能であった。例として、バイアグラ錠剤の SERS スペクトルを図 4 に示す。

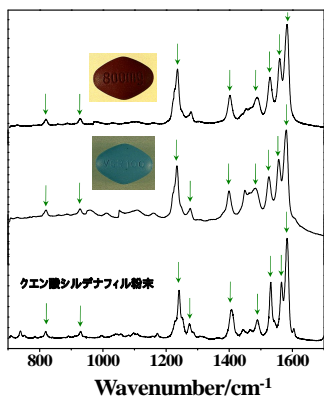


図 4 . バイアグラ錠剤の SERS スペクトル

クエン酸シルデナフィル粉末（下段）から得られた SERS スペクトルと「800mg」の刻印のある錠剤(上段)および「VGR100」の刻印のある錠剤(上段)と同様のピークが検出されていることから、錠剤中はバイアグラ有効成分であるクエン酸シルデナフィルの含有を証明できることがわかった。

#### (5)まとめ

以上の研究から、SERS は薬物を現場で鑑別するための非常に有効な手法であることが明らかになった。今回開発した手法をさらに多くの薬物に適用し、社会の安全・安心に貢献したい。

#### 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 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：  
 発明者：  
 権利者：  
 種類：  
 番号：  
 出願年月日：  
 国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：  
 発明者：  
 権利者：  
 種類：  
 番号：  
 取得年月日：  
 国内外の別：

〔その他〕  
 ホームページ等なし。

#### 6 . 研究組織

##### (1)研究代表者

西脇 芳典 (NISHIWAKI, Yoshinori)  
 高知大学・人文社会科学系教育学部門・講師

研究者番号：50632585

(2)研究分担者 なし  
 ( )

研究者番号：

(3)連携研究者 なし  
 ( )

研究者番号：