

測定速度：5000 点/秒

判定時間：5 秒（走査回数 20 回）

4. 測定容器

直径 2cm 高さ 4.7cm のスクリーキャップ付き透明ガラス瓶

5. 試料調製方法

粉末試料についてはそのままガラス瓶に入れて底を 5 回たたいて詰めた。結晶試料及び錠剤については乳鉢内で研磨し、同様に底をたたきガラス瓶に詰めた。

C. 研究結果

1. 測定条件の検討

(1) 測定容器材質の影響

NIR 測定を行う際の測定容器の材質によるスペクトルへの影響を見るため、メタンフェタミン (MAP) 塩酸塩粉末をガラス瓶及びポリエチレン袋にそれぞれ入れ、MAP 塩酸塩のみのスペクトルと比較した。その結果、両者とも大きな影響は受けないが、ポリエチレンが波長 $1.6\mu\text{m}\sim 1.8\mu\text{m}$ 及び $2.3\mu\text{m}\sim 2.4\mu\text{m}$ の領域に吸収を有するため、当該領域に若干の影響がみられた。一方、ガラスによる測定への影響は見られなかった。(図 1) よって、今後測定容器としてガラス瓶を用いることとした。

(2) 試料量の影響

測定容器に試料を入れた際、光路距離の違いによって吸光度に差が出ないかを見るため、瓶に粉末を詰めた時、底からの層の厚さが $0.1\text{cm}\sim 2.0\text{cm}$ の間で段階的にカフェイン粉末の量を変え測定を行ったところ、すべての厚さにおいてほぼ同一のスペクトルが得られた。(図 2) これは試料調製作業がおおまかでも結果に影響しないことを示し、俊敏性が要求される捜索現場での試験に適するものと思われる。

2. 同一試料測定における再現性

MAP 塩酸塩を均一化後、1 回ごとに詰めたおして 5 回連続測定したところ、図 3 のとおりほぼ同一の吸収スペクトルが得られ、安定した結果が得られた。

3. 押収物間のスペクトル比

押収時期及び場所の異なる 3 種類の不正コ

カイン塩酸塩を測定した結果、図 4 のとおり 3 種から同一の吸収スペクトルが得られ、NIR スペクトルによる不正コカイン塩酸塩の識別が可能であることが示唆された。

4. 各種規制薬物のスペクトル特性

フェネチルアミン系の麻薬及び覚せい剤 8 種類、コカイン塩酸塩、ヘロイン塩酸塩、モルヒネ塩酸塩について測定を行った。各薬物はすべて標準品であり、それらから得られた NIR スペクトルは図 5～図 7 に示すとおりである。各薬物間で波長 $2.2\mu\text{m}$ より長波長側の吸収パターンに僅かな差が見られる。しかしながら目視によって現場で識別することは困難と思われる。また、メタンフェタミンと 2-CB には $2.0\mu\text{m}$ 近辺に弱い吸収、MDMA、ヘロイン及びモルヒネには同領域に強い特徴的な吸収がある。これらが何に基く吸収であるかは今後の検討課題である。なお、N-メチル- α -エチル-3,4-(メチレンジオキシ)フェネチルアミン (MBDB) と N-エチル- α -メチル-3,4-メチレンジオキシフェネチルアミン (MDEA) は立体異性体であり、現場試験では識別不可能と考えられるが、波長 $2.3\mu\text{m}$ 以上の超波長領域の吸収パターンに差が生じた。

5. 多変量解析による分類

上述のとおり、多くの薬物のスペクトル目視識別が困難と思われたので、吸光度の数値データを基に、多変量解析のクラスター分析を試みた。試料はメタンフェタミン塩酸塩標準品そのもの (MAP 1)、これをポリ袋に入れたもの (MAP 2) とガラス瓶に入れたもの (MAP 3)、標準品の α -メチル-3,4-(メチレンジオキシ)フェネチルアミン塩酸塩 (MDA)、MBDB、4-プロモ-2,5-ジメトキシフェネチルアミン塩酸塩 (2-CB) 及び 4-プロピルチオ-2,5-ジメトキシフェネチルアミン塩酸塩 (2-CT-7) をガラス瓶に入れたものを用いた。

得られた数値データを Microsoft EXCEL 表に転写し、波長を変数としてサンプルクラスター分析を行なった。全波長領域、低波長領域及び高波長領域の 3 領域に分けて Ward 法のユークリッド距離で計算させ、図 8 のとおりの樹形

図が得られた。フェネチルアミン系麻薬（2-CB及び2-CT-2）では長波長側の吸収データのみを利用した方がサンプル間の距離が短く、特徴をつかみやすいことが判った。これはスペクトルの目視結果と一致する。また、アンフェタミン系麻薬（エクスタシー類）であるMDAとMBDBとのユークリッド距離が大きく、前述のMDMA特異吸収と合わせて、NIR スペクトルはエクスタシー類薬物間の識別に効果的である可能性が高い。

D. 考察

NIR分光光度計は他の光学機器より振動に強く、車での移動に耐えるので現場試験に適している。また、透過度が高いので非破壊検査法として、サイズの大きな試料でもそのまま測定できる利点を有する。本研究では主に薬物の標準品を試料としたが、スペクトル目視とクラスター分析の併用によりNIR吸収スペクトルによる違法薬物識別の可能性が示唆された。今後さらに薬物の種類を増やし、また押収された不正薬物の測定データを数多く加えて解析を行い、本法により、どの程度識別できるかの検討を行ない現場試験としての実用性を追求したい。

謝辞 本研究の遂行に当たり、NIR測定に協力していただき、貴重なご助言を賜った株式会

社テクニカル・ソフトウェア・ラボラトリー 佐々木哲郎氏、株式会社システム・エンジニアリング 樋渡史子氏及び同社 新村泰雄氏に感謝いたします。

参考文献

- 1) Nicole Sondermann, Karl-Artur Kovar (1999), Identification of ecstasy in complex matrices using near-infrared spectroscopy., *Forensic Science International*, **102**, 133-147.
- 2) Nicole Sondermann, Karl-Artur Kovar (1999), Screening experiments of ecstasy street samples using near infrared spectroscopy., *Forensic Science International*, **106**, 147-156.
- 3) Ralph Carsten Schneider, Karl-Artur Kovar (2003), Comparison of reflectance and transmittance near infrared spectroscopy., *Forensic Science International*, **134**, 187-195.

E. 健康危機情報

なし

F. 研究発表

なし

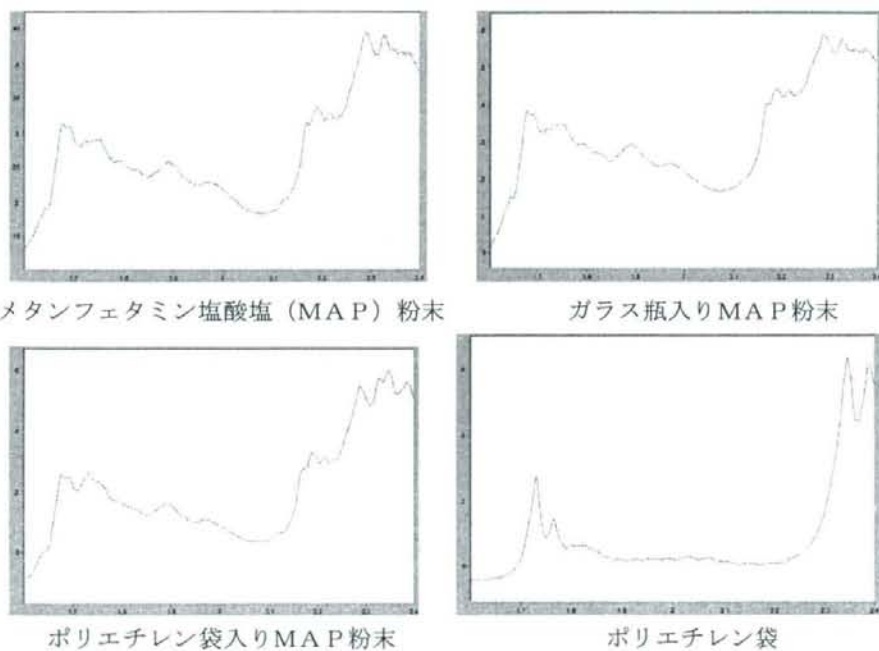


図1. 容器・被包材質によるNIRスペクトルへの影響

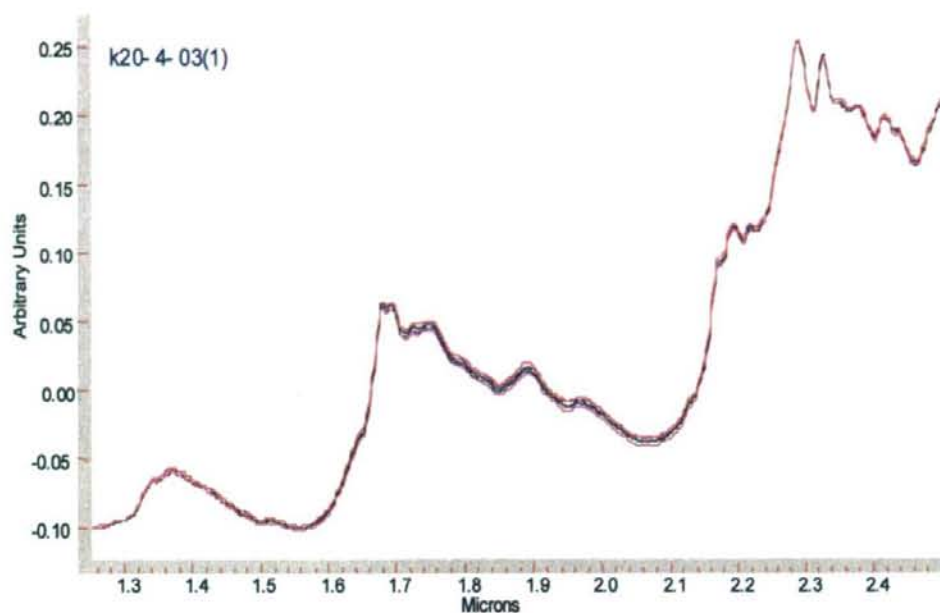


図3 メタンフェタミン塩酸塩を5回繰り返し測定して得られた
N I Rスペクトル

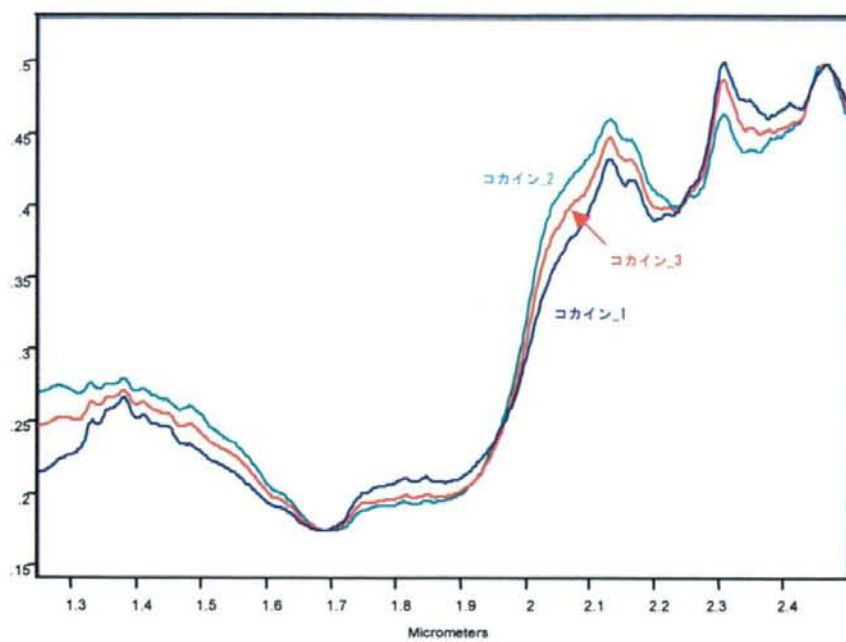


図4 コカイン塩酸塩押収物間のスペクトル比較

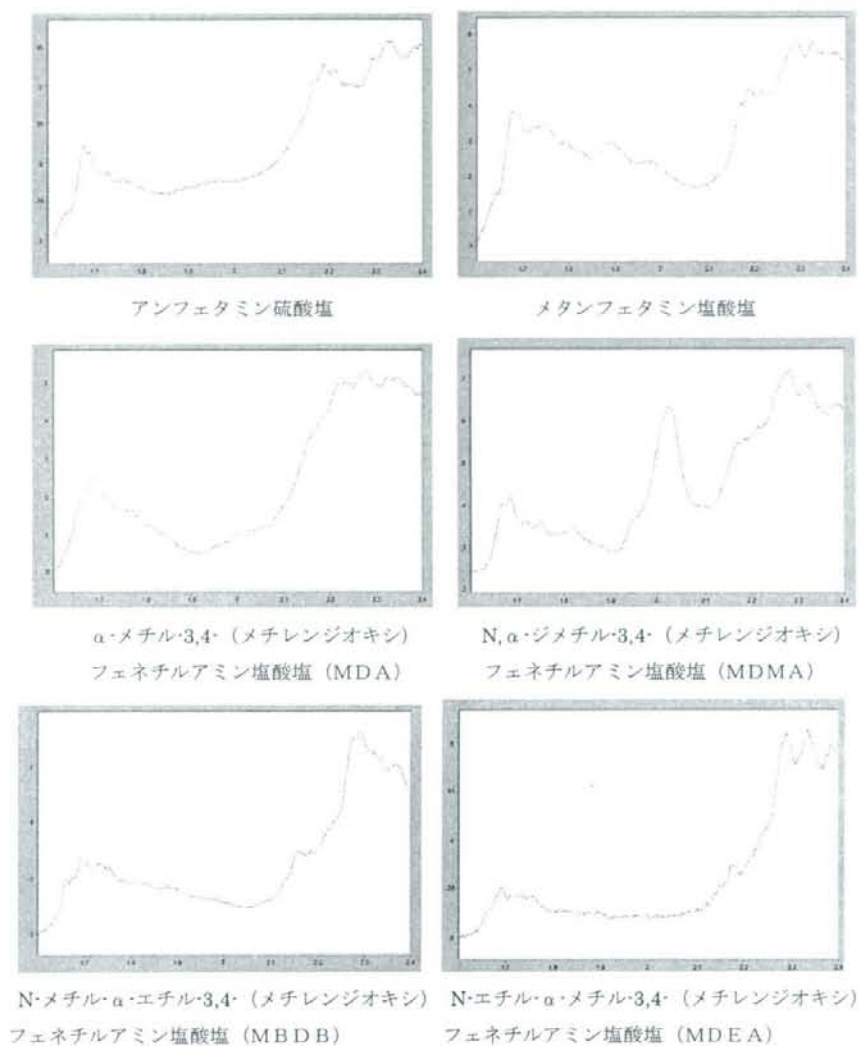
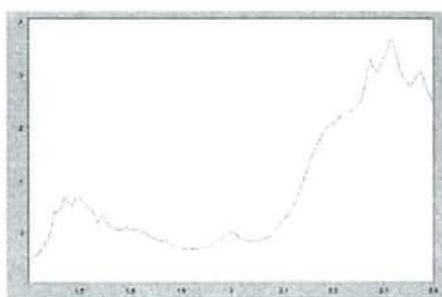
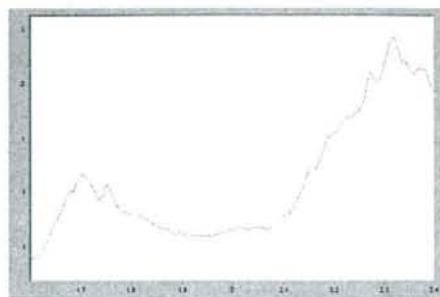


図5 アンフェタミン類のNIRスペクトル

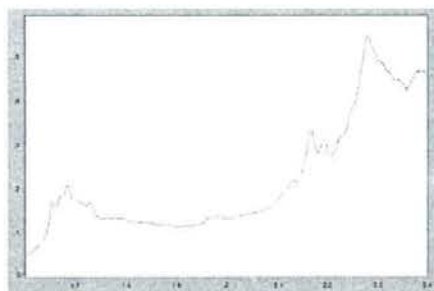


4-ブロモ・2,5-ジメトキシフェネチルアミン
塩酸塩 (2-CB)

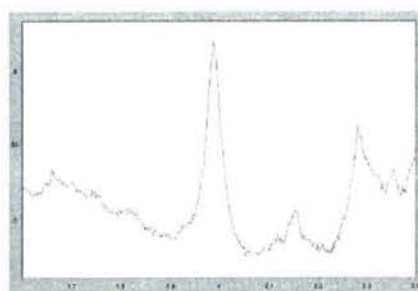


4-プロピルチオ・2,5-ジメトキシフェネチルアミン
塩酸塩 (2-CT-7)

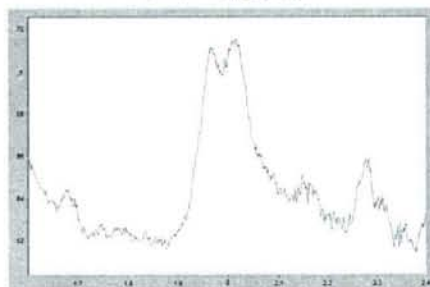
図6 フェネチルアミン系麻薬のNIRスペクトル



コカイン塩酸塩

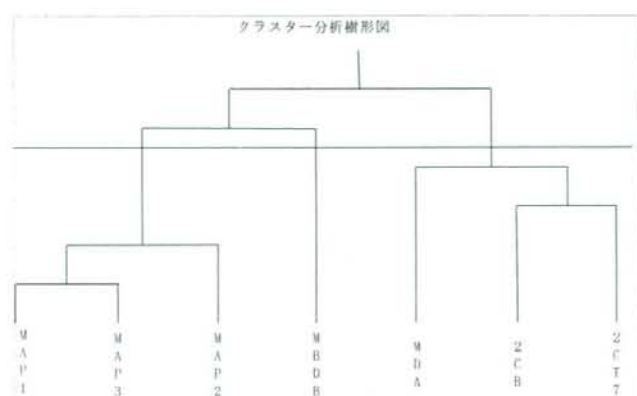


ヘロイン塩酸塩

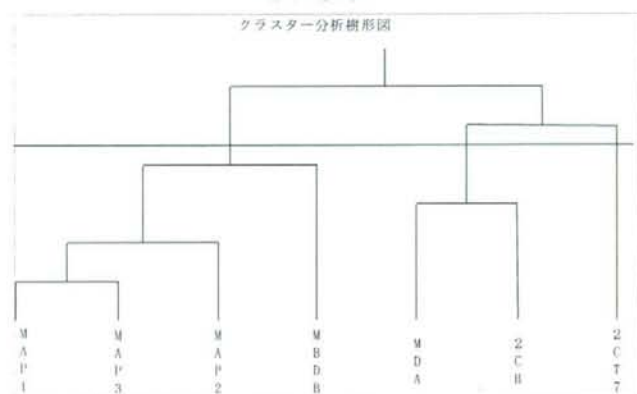


モルヒネ塩酸塩

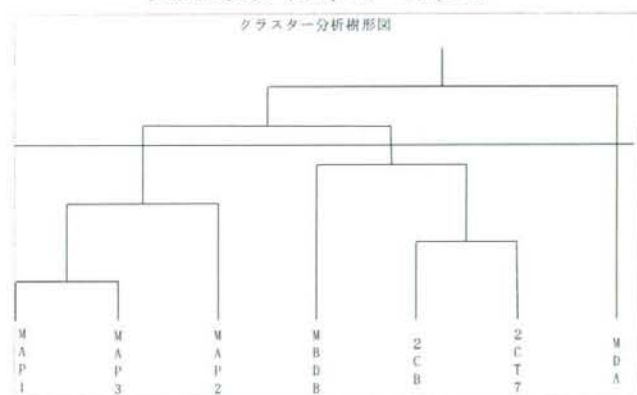
図7 その他の代表的麻薬のNIRスペクトル



全波長領域



低波長領域 (1.6 μm ~ 2.0 μm)



長波長領域 (2.0 μm ~ 2.4 μm)

図8 クラスター樹形図

分担研究課題 薬物の分析と同定に関する研究
分担研究者 花尻瑠理 国立医薬品食品衛生研究所生薬部 室長

GC-MSにおける質量スペクトルの機種間再現性の検討
研究協力者 津村ゆかり 近畿厚生局麻薬取締部神戸分室 鑑定官

研究要旨 異なる分析機関間でガスクロマトグラフ質量分析計(GC-MS)の質量スペクトルデータを相互利用するための基礎的検討を行った。代表的な3社の四重極型質量分析計8台を使用して同一試料の質量スペクトルを測定し、同一機種内及び異なる機種間でのスペクトルパターンを比較した。その結果、化合物によってはスペクトルパターンの差が大きいためライブラリ検索でヒットしないものがあった。その程度は装置の機種よりもむしろメンテナンス状態に大きく依存すると考えられた。

研究協力者

高木敏之

近畿厚生局麻薬取締部 主任鑑定官

A. 研究目的

我が国において乱用される薬物は多様化しており、様々な化学構造の物質がインターネット等を介して流通している。次々に新規な薬物が出回るため、標準品の整備は十分でなく、分析データの対照によって薬物の構造を推定する必要に迫られる場合がある。この際、異なる分析機関の間でのデータの再現性が問題になる。

ガスクロマトグラフ質量分析計(GC-MS)は薬物同定において必須の機器であり、特に電子イオン化(EI)モードによる質量スペクトルの再現性の高さには定評がある。しかしながら、装置の機種、メンテナンス状態、分析対象物質の濃度、クロマトグラム上でスペクトルを抽出する位置、その他様々な条件の違いによりスペクトルパターンに違いが見られることも、日常的に経験するところである。

法規制の網をくぐって乱用される薬物には、構造に小さな改変を加えてデザインされたものが

あり、これらの物質相互の質量スペクトルの差は小さい。このような微妙な違いがどの程度正確に再現されるかを検討した報告は少ない^{1,2)}。

本研究においては、3社のGC-MS装置8台を用いて同一の試料液を分析し、それらのデータを相互に比較した。データ間にどのような差が見られるか解析すると共に、質量スペクトルの再現性に影響を与える要因について検討した。

B. 研究方法

1. GC-MS装置

A、B、Cの3社の装置をそれぞれ3台、3台、2台の合計8台用いた。個々の装置は本報告においてA1、B2のように略号で示す。質量分析計の機種はそれぞれ下記の通りである。

(1)A社製品 3台は同シリーズのマイナーモデルチェンジ製品であり、A3、A1、A2の順に新しい機種である。

(2)B社製品 3台は同一モデルの製品である。

(3)C社製品 2台は同シリーズのマイナーモデルチェンジ製品であり、C1はC2より新しい。

2. GC-MS条件

カラム：DB-1 (J&W Scientific, 膜厚0.25 μ m,

0.25 mm x 30 m)

ただし B1 及び B2 での測定には ZB-5ms (Phenomenex, 膜厚 0.25 μ m, 0.25 mm x 30 m) を使用した。

カラム温度: 100°C (1min) \rightarrow (10°C/min) \rightarrow 300°C

注入口温度: 250°C

注入量: 1 μ L

キャリアガス: ヘリウム

流速: 1 mL/min (コンスタントフローモード)

注入方法: スプリット (20:1)

イオン化法: EI (イオン化電圧 70eV)

イオン源温度: 230°C

スキャン範囲: m/z 40-500

スキャンスピード: 各社の最適速度

四重極温度: 各社の最適温度

3. 試薬

薬物標準品: メタンフェタミン塩酸塩 (大日本製薬製、以下 MP と略す)、MDA 塩酸塩、TMA-2 塩酸塩、2C-T-4 塩酸塩、2C-T-7 塩酸塩 (以上国立医薬品食品衛生研究所より分与されたもの)

無水トリフルオロ酢酸無水物: ガスクロマトグラフ用

メタノール: HPLC 用

酢酸エチル: 特級

4. 試料液の調製

下記の試料液を調製した。

(1) 塩酸塩溶液: 5 種の薬物 (MP, MDA, TMA-2, 2C-T-4, 2C-T-7) の塩酸塩の混合メタノール溶液 (100 μ g/mL)

(2) TFA 誘導体化物溶液: バイアル瓶に上記塩酸塩溶液を 500 μ L とり、窒素気流で乾固した。これに酢酸エチル及びトリフルオロ酢酸無水物を各 100 μ L 加え、密封して 55°C で 30 分間加熱した。窒素ガスで過剰のトリフルオロ酢酸無水物を留去し、酢酸エチル 500 μ L を加えた。

5. 分析の実施方法

塩酸塩溶液については各装置 1 回、TFA 誘導体化物溶液については各 5 回の繰り返し注入を行ってデータを得た。ただし装置 B3 による TFA 誘導

体化物溶液の測定は 1 回のみ実施した。

装置 C2 については、上記測定後にメーカー指定の方法によりイオン源洗浄を実施し、塩酸塩及び TFA 誘導体について各 1 回追加の測定を実施した。

6. 解析法

(1) それぞれの GC-MS データを AIA 形式に変換し、アジレント社製質量分析計 5973N に付属の解析ソフト G1701DJ により解析した。

クロマトグラムのピーク頂点におけるスペクトルからピーク開始点のスペクトルを差し引いて各薬物の質量スペクトルを得た。それぞれについて強度が大きい 3 本のピークを選び (表 1)、強度が 2 番目及び 3 番目のピークの強度値を 1 番目のピークの強度値でそれぞれ割った数値 (a 及び b とする) を求めた。5 回の繰り返し注入については各 a 及び b の変動を計算した。なお、強度の順位は装置によって異なる場合があったが、表 1 は全装置データの平均値の順とした。

(2) a 及び b が各測定においてどの程度一致するかを比較した。比較法としては、 a 及び b をそれぞれ縦軸と横軸にとって散布図にする方法、 a 及び b の値の範囲を計算する方法の 2 通りを行った。繰り返し注入については 3 度目の注入の値を採用した。

(3) ライブラリ検索ソフト³⁾を用いて、各装置による各薬物のスペクトルをライブラリデータベースに登録した。これらのスペクトルについて相互にライブラリサーチを実施し、一致率 (Qual) を記録した。

C. 研究結果

1. 得られたデータの概要

塩酸塩及び TFA 誘導体混合溶液のクロマトグラム例を図 1 に示した。塩酸塩に関しては、装置 B2 ですべての薬物が、装置 A3 で 2C-T-4 及び 2C-T-7 がブロードなピーク形状となったため、解析対象としなかった。

表2にMP及びMDAについてTFA誘導体の主要なイオン強度比の変動を示した。各測定について変動係数は10%以下であった。

2. イオン源洗浄の影響

装置C2のMP-TFAの質量スペクトルが他のデータと大きく異なっていたため、イオン源の洗浄を実施した。その結果、図2に示した通りスペクトルパターンが変化して他の装置のデータに近づいた。

3. イオン強度比の比較

各装置により測定したイオン強度比を図3-1及び図3-2に示した。装置C2についてはイオン源洗浄後のデータも組み入れた。各データの分布範囲は化合物によって異なり、2C-T-4及び2C-T-7のTFA誘導体は各装置間で比較的一致していた。それに対し、MP・MDA・TMA-2の塩酸塩及びMPのTFA化体は差が大きかった。

同じデータを同一機種内及び異なる機種間で比較した結果を図4に示した。装置C2についてはイオン源洗浄後のデータを使用した。A社の装置は同一機種内でのデータ分布範囲が41%以下と他の機種より小さかった。機種間では、A社とB社の装置によるデータの分布範囲は39%以下であるのに対し、この2社とC社のスペクトルの差は100%を超えるものがあつた。

4. ライブラリ検索

装置間でピーク強度比に大きな差が見られたMP-TFA及び差が小さかった2C-T-7のTFA誘導体を例として、各装置によるスペクトルをライブラリに登録して相互に検索を実施した。その結果、表3に示した一致率が得られた。MP-TFAのスペクトルは各装置間の違いが大きく、一致率の低い組み合わせが多数あつた。特に、イオン源洗浄前の装置C2によるデータはライブラリデータとして他の測定のデータにヒットしなかつた。

2C-T-7のスペクトル相互は全般に良い一致率が得られた。その中で例外的にヒット率が低かつたC2及びB2のスペクトルを図5に示した。

D. 考察

1. スペクトルパターン変化の要因

今回の検討は限られた台数での実験であり、それぞれの装置の使用履歴やメンテナンス状態も異なるため、ここで得られた傾向がただちにすべての装置に当てはまるとは言えない。ただし装置C2のスペクトルがイオン源の洗浄後に大きく変化して他の装置との差が小さくなつたことから、装置のメンテナンス状態が機種間の差以上にスペクトルに影響を与えることが示唆された。メンテナンス状態とスペクトル形状との関係は既報でも指摘されているところである。

また、特にイオン源の状態に影響を受けやすい化合物は汚染状況の指標物質として利用できるとの提案もなされているが、今回比較対象としたMP-TFAは日常的に鑑定データを取得する物質であり、このスペクトルパターンに注意を払うことがイオン源の状況を確認するために有用と考えられた。

2. 分析機関間でのデータ相互利用

異なる分析機関の間で質量スペクトルデータを提供しあふことは頻繁に行われている。その方法としては、データを目視で比較する方法とライブラリ登録して継続的に利用する方法とがある。

MP-TFAのライブラリ検索において、イオン源が汚れた状態で取得された質量スペクトル(C2)は他の装置での検索結果としてヒットしなかつた。このことは、ライブラリに登録するデータは特に十分なメンテナンス状態を確保した上で取得する必要があることを示した。

また、装置B2による2C-T-7のTFA体のスペクトルは、これを被検索データとした場合の一致率が極めて低かつた。このクロマトグラムは図1に示した通り化合物ピークに比較してキャピラリーカラムのブリードによるベースラインが高くなつており、GC状態不良等の原因により、化合物が十分量導入されていなかつた可能性がある。B2のデータは、3本の主要ピークの強度比較ではB1及びB3と特段の差がなかつた。このこ

たと合わせて考えると、ライブラリサーチにおいて
は相対的に小さな多数のピークが結果に影響
しやすいことを示している。未知化合物のライ
ブラリ検索においては、できる限りベースラインの
影響を受けない高めの濃度でのデータを使用し
なければ検索結果が不正確になることを示して
いる。

機種間の比較では、C社の装置による質量スペ
クトルがA社及びB社のものと若干異なる傾向
が示唆された。ただしライブラリ検索においてヒ
ットする程度の差であり、実用上の問題は少ない
と考えられた。

謝辞

データの取得に際し、金陵電機株式会社、株式
会社 島津製作所、日本電子株式会社の各社の協
力をいただきました。関係の皆様へ深謝します。

参考文献

- 1) Revelsky IA, Yashin YS, Sobolevsky TG, Revelsky AI, Miller B, Oriedo V. (2003) Electron ionization and atmospheric pressure photochemical ionization in gas chromatography-mass spectrometry analysis of amino acids. *Eur J Mass Spectrom.*, **9**, 497-507.
- 2) Horiike M, Yuan G, Hirano C. (1991) Fuzzy Classification of Location of Double Bonds in Tetradecenyl Acetates by Electron Impact Mass Spectrometry. *Agric. Biol. Chem.*, **55**, 2521-2526.
- 3) Pesyna GM, Venkataraghavan R, Dayringer HE, McLafferty FW. (1976) Probability based matching system using a large collection of reference mass spectra. *Anal. Chem.* **48**, 1362-1368.

E. 健康危機情報

なし

F. 研究発表

表1 比較対象としたイオン(m/z)

	主要ピーク(強度順)		
	1	2	3
塩酸塩			
MP	58	91	134
MDA	44	136	77
TMA-2	182	44	167
2C-T-4	183	226	255
2C-T-7	226	183	255
TFA誘導體			
MP	154	118	110
MDA	135	162	275
TMA-2	181	151	321
2C-T-4	183	225	351
2C-T-7	225	351	238

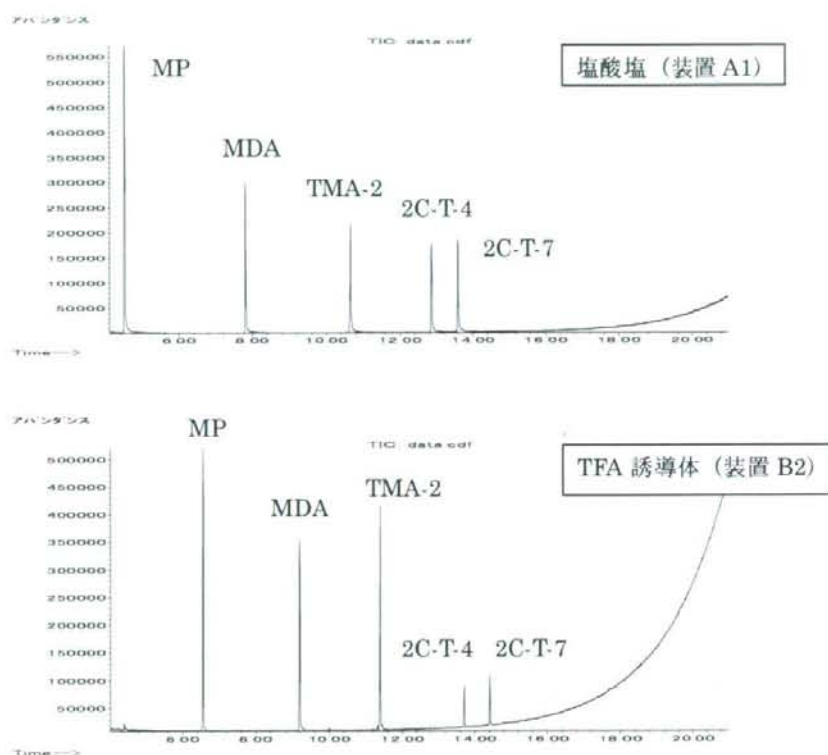


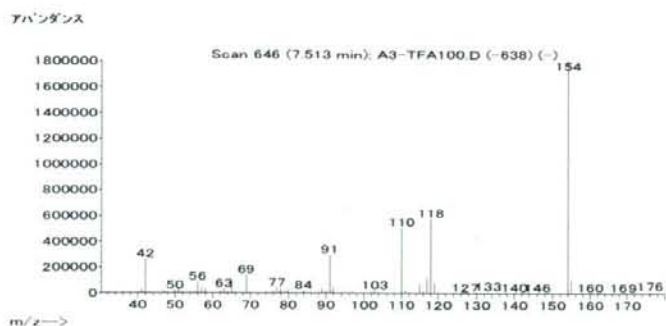
図1 薬物混合溶液またはそのTFA誘導體のクロマトグラム例

表2 繰り返し測定におけるイオンピーク強度比の安定性

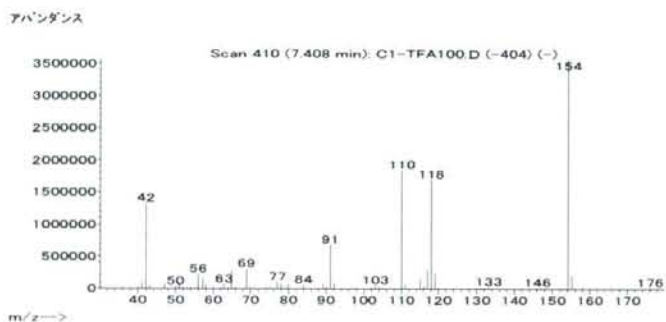
化合物	イオン	装置							
		A1	A2	A3	B1	B2	C1	C2	
MP-TFA	118 / 154	2.0	1.4	0.5	1.7	1.8	1.3	6.1	
MP-TFA	110 / 154	1.4	1.2	0.6	2.6	2.6	1.3	10.0	
MDA-TFA	162 / 135	1.5	1.1	0.3	1.5	0.8	3.0	3.5	
MDA-TFA	275 / 135	1.6	3.4	0.5	6.3	3.1	7.1	9.6	

フラグメントイオンの相対強度の変動係数(単位%, 5回繰り返し測定)

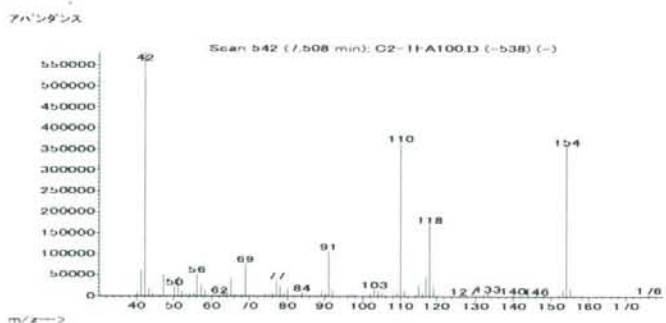
装置 A3



装置 C1



装置 C2



装置 C2 (イオン源洗浄後)

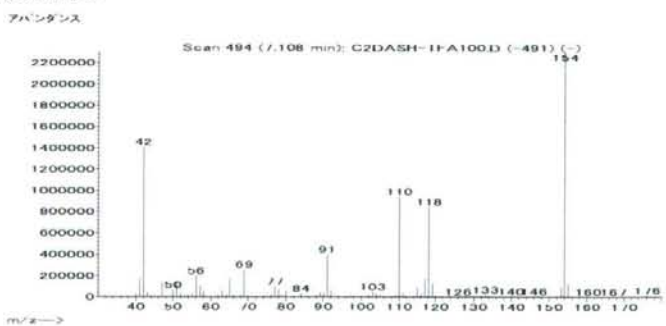


図2 各装置によるメタンフェタミンの TFA 誘導体のマススペクトル

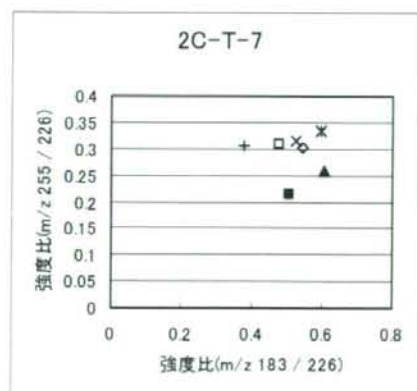
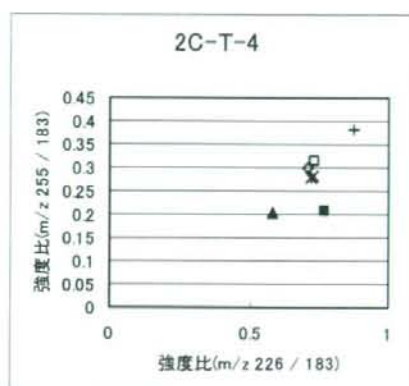
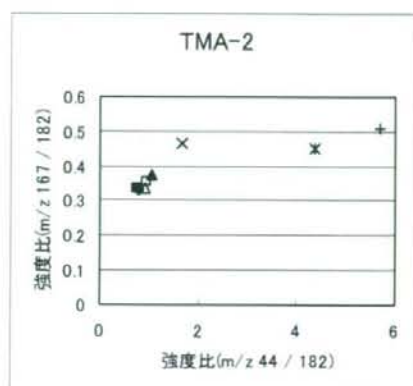
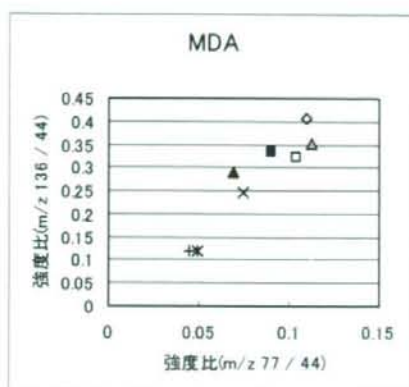
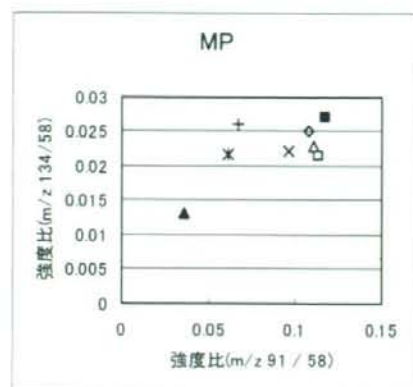


図3-1 GC-MS装置による塩酸塩のスペクトルパターンの違い(主要3ピークの強度比)

□ : A1、◇ : A2、△ : A3、■ : B1、◆ : B2、▲ : B3、× : C1、+ : C2、* : C2 (イオン源洗浄後)

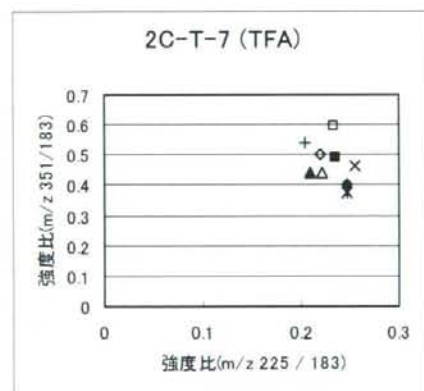
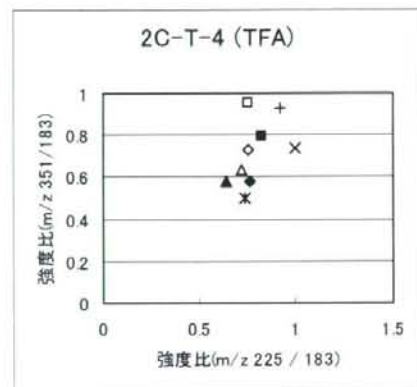
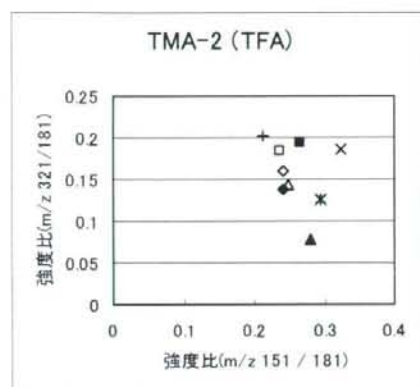
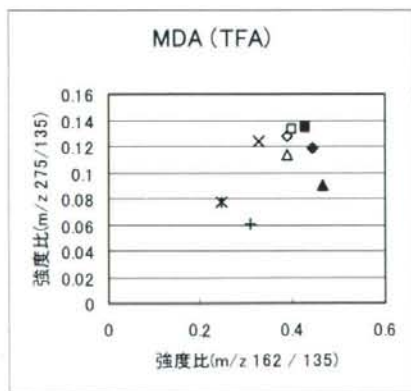
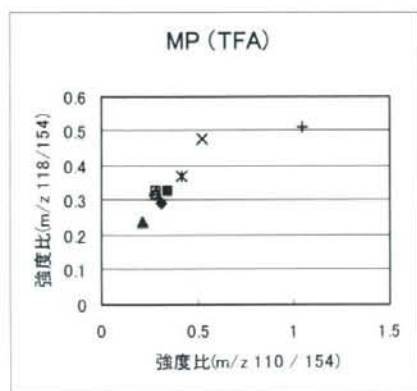


図3-2 GC-MS装置によるTFA誘導体のスペクトルパターンの違い(主要3ピークの強度比)
 □: A1、◇: A2、△: A3、■: B1、◆: B2、▲: B3、×: C1、+: C2、*: C2(イオン源洗浄後)

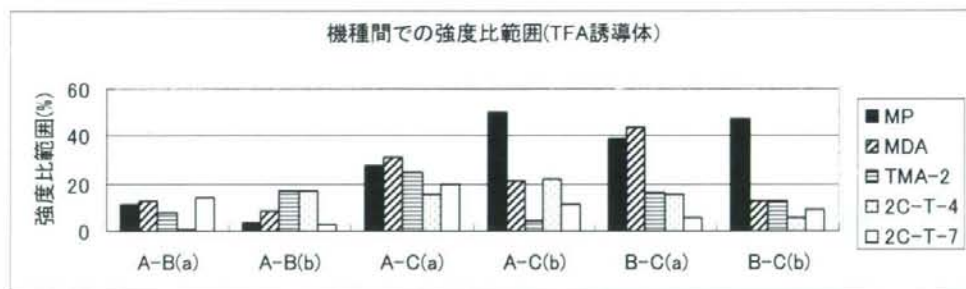
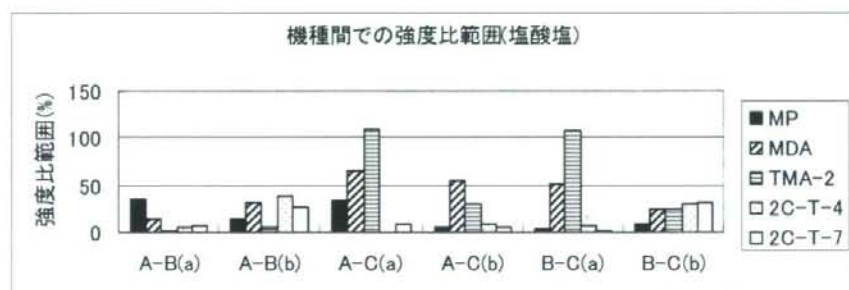
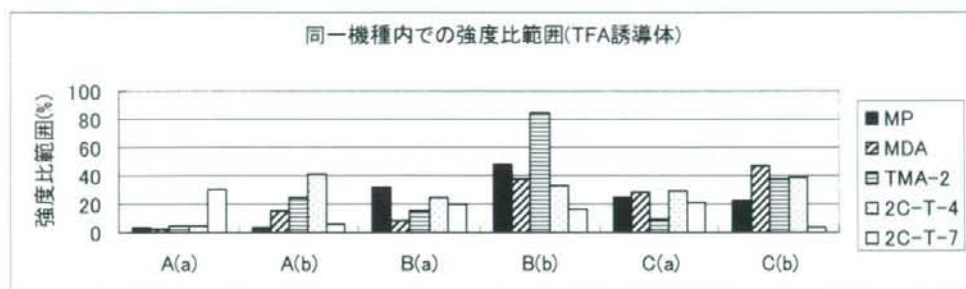
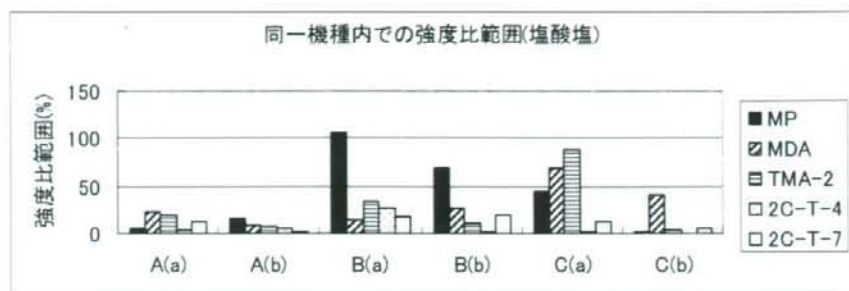


図4 同一機種内または機種間で得られたイオン強度比の範囲
 それぞれのグループの平均値に対する比(%)で表している。
 大文字A, B, Cは機種を表し、小文字a, bは解析対象のイオンを表す。
 a: 2番目の強度のピークとベースピークとの比、b: 3番目の強度のピークとベースピークとの比
 装置C2についてはイオン源洗浄後のデータのみを使用した。

表3 各装置による質量スペクトルのライブラリ検索における一致率

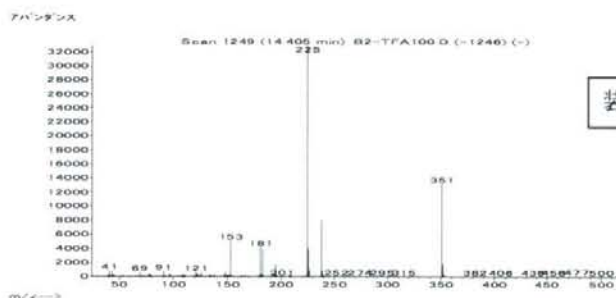
MP(TFA誘導体)		ライブラリのスペクトル									単位 %
		A1	A2	A3	B1	B2	B3	C1	C2	C2'	
検 索 対 象 ス ペ ク ト ル	A1		96	98	98	90	96	90	*	94	
	A2	98		98	96	91	86	90	*	96	
	A3	98	98		98	91	25	83	*	96	
	B1	64	92	64		91	93	91	*	93	
	B2	43	43	43	49		43	91	*	74	
	B3	43	43	43	60	53		46	*	83	
	C1	64	64	64	91	91	53		*	72	
	C2	38	11	11	25	47	30	49		53	
	C2'	95	92	95	96	90	38	83	60		

C2は装置 C2 のイオン源洗浄後を表す。

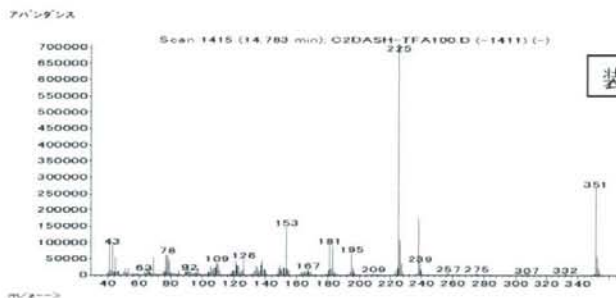
*は検索でヒットしなかったことを示す。

網掛けは 90%以上の一致率を示した組み合わせ。

2C-T-7(TFA誘導体)		ライブラリのスペクトル									単位 %
		A1	A2	A3	B1	B2	B3	C1	C2	C2'	
検 索 対 象 ス ペ ク ト ル	A1		99	99	99	95	95	99	91	87	
	A2	97		99	99	95	98	99	93	60	
	A3	96	97		99	95	95	99	90	96	
	B1	96	94	95		97	95	99	87	52	
	B2	53	38	90	38		38	64	9	78	
	B3	96	95	96	99	91		93	90	94	
	C1	93	95	97	99	97	96		87	60	
	C2	94	87	95	95	87	97	95		93	
	C2'	93	97	99	99	91	99	99	98		



装置 B2



装置 C2 (イオン源洗浄後)

図5 装置 B2 及び C2 (イオン源洗浄後) による 2C-T-7 の TFA 誘導体の質量スペクトル

分担研究報告書

分担研究課題 薬物の分析と同定に関する研究

分担研究者 花尻瑠理 国立医薬品食品衛生研究所生薬部 室長

液体クロマトグラフ-タンデム質量分析計を用いる尿中薬物鑑定法の検討

研究協力者 高木敏之 近畿厚生局麻薬取締部 主任鑑定官

研究要旨 液体クロマトグラフ-リニアイオントラップ型タンデム質量分析計(LC-MS/MS)を用いて尿中薬物の鑑定を迅速化・省力化するための検討を行った。尿中覚せい剤及び大麻成分代謝物の鑑定試験において、簡便な前処理で検出・不検出を判定して陰性検体をふるい落とすと共に、陽性検体について詳細な構造情報を得る手順を確立した。LC-MS/MS は感度が高い反面、覚せい剤メタンフェタミンを高濃度に含む試料を測定すると汚染が問題になった。日常の鑑定で汚染を避けて LC-MS/MS を使用するためのスキームを構築した。

研究協力者

津村ゆかり

近畿厚生局麻薬取締部神戸分室 鑑定官

A. 研究目的

乱用薬物の鑑定においては、基本的にガスクロマトグラフ・質量分析計(GC-MS)が検出・同定手段として用いられている。一方、異なる2通り以上の原理による試験を実施するための選択肢として液体クロマトグラフ・質量分析計(LC-MS)の必要性が増している。しかしGC-MSが汎用機として既に定着・成熟しているのに対して、LC-MSは普及の途上であり、必ずしも標準的な利用方法が確立しているとは言えない。

リニアイオントラップ型の液体クロマトグラフ・タンデム質量分析計(LC-MS/MS)¹⁾は極めて高感度で同定能力が高いため、医薬品開発における生体試料中の微量・痕跡量の代謝物分析等に繁用されている。この特質は、鑑定試験においても被疑者尿中の微量成分同定に威力を発揮するものと期待される。簡単な前処理で高感度に分析対象物質を検出し、不検出検体の篩い落としと共に、

検出検体のより確実な同定に利用できると考えられる。

しかしながら、日常の鑑定で最も囑託頻度が高い尿中覚せい剤の濃度はおよそ1~100 µg/mLの範囲内に分布しており、これは微量ではない。リニアイオントラップ型の質量分析計は高感度であるがゆえに、高濃度試料の測定後のキャリーオーバーが問題になる。理想的には日常鑑定用及び微量分析用に複数の機器を保有して使い分けのが望ましいが、予算及び設置場所の限界によりそれは困難である。

そこで本研究においては、上記の問題点を克服してリニアイオントラップ型 LC-MS/MS を尿中覚せい剤及び大麻成分代謝物のルーチン鑑定に利用する方法の確立をめざした。

B. 研究方法

1. 試薬

薬物標準品：*d*-メタンフェタミン塩酸塩（大日本製薬製）、*dl*-アンフェタミン硫酸塩（武田薬品工業製）、MDMA 塩酸塩（国立医薬品食品衛生研究所より分与）、MDA 塩酸塩（同）

大麻成分代謝物標準品：11-nor-

Δ^9 -tetrahydrocannabinol-9-carboxylic acid
(以下 THCCOOH と略) 1 mg/mL メタノール
溶液 (和光純薬工業製)

アセトニトリル、メタノール：HPLC 用

水：日本ミリポア製 Academic A10 にて製
造

その他の溶媒及び無機試薬：特級

メンブランフィルター：sartorius stedim 製
Minisart RC15 (孔径 0.2 μ m)

2. 検量線用標準液

薬物及び THCCOOH 標準品をメタノールに溶
解または希釈して調製した。以下の文中、メタン
フェタミン及びアンフェタミンはそれぞれの塩
としての濃度で示した。THCCOOH は遊離カル
ボン酸としての濃度で示した。

3. 尿試料

健康なボランティアの尿及び鑑定囑託された尿

4. LC-MS/MS 条件

表 1 に示したとおり。

5. 試料液調製方法

(1) 覚せい剤試験

尿 10 μ L をマイクロピペッターにより共栓試
験管に入れ、メタノール 10mL を加えた。密栓し
てボルテックスミキサーを用いて 60 秒間攪拌し、
約 1 mL をとってメンブランフィルターでろ過し、
試料液とした。

(2) 大麻成分代謝物試験

尿 20~50 mL をとり、その 10 分の 1 量の 10
mol/L 水酸化カリウム溶液を加え、60°C にて 30
分間加温した。これに酢酸を加えて pH 5 に調整
し、0.1 mL とってアセトニトリル 0.9 mL を加え
た。これをメンブランフィルターでろ過し、試料
液とした。

6. 添加回収試験

薬物の水溶液を健常者の尿に加え、添加回収試
験を実施した。内部標準物質は用いず、1~100
ng/mL の検量線により濃度計算を行った。

C. 研究結果

1. LC-MS/MS 条件の設定

表 1 に示した条件において、メタンフェタミン
及び THCCOOH はそれぞれ図 1-1 から 1-2
に示したとおりのクロマトグラム及びマススペ
クトルを与えた。クロマトグラムは multiple
reaction monitoring (MRM) モードで描き、マス
スペクトルは enhanced product ion scan (EPI)
モードで取得し、コリジョンエネルギー 20、35、
50 及び 35 \pm 15 V の 4 種を 1 組としている。なお、
MRM は選択イオン検出 (SRM) とほぼ同義であり、
EPI は MRM で一定量以上のイオンが検出され
た時点でのスペクトルを測定する手法である。

覚せい剤用の LC カラムとしては CR カラムの
他に ODS 系カラムである TSK-GEL ODS-100V
及び L-column ODS を用いて検討したが、これら
はメタンフェタミンとアンフェタミンの分離が
十分でなかった。

2. 高濃度試料による汚染

装置の使用開始当初、覚せい剤を数 μ g/mL か
ら数十 μ g/mL 含む尿をアセトニトリルで 5 倍希
釈して調製した試料液の注入を繰り返した結果、
質量分析計・LC 部分共に汚染が起り、ブラン
ク試料の注入時にメタンフェタミン及びアンフ
ェタミンのピークが現れるようになった。その大
きさは最大 1 ng/mL 相当程度であり、この濃度範
囲以下での分析が不可能になった。

質量分析計のイオンソース部、カーテンプレ
ート、オリフィスプレート、廃液受け金具、及び LC
のオートサンプラー、配管の洗浄を行うことによ
り汚染を除去した。

3. 定性・定量結果の濃度依存性の検討

各種濃度のメタンフェタミン、アンフェタミン、
THCCOOH を分析し、EPI スペクトルを得た。
結果の一部を図 2 に示した。おのおの 1 ng/mL か
ら 100 ng/mL の濃度において各スペクトルパ
ターンの再現性は良好であり、また、実験方法の項
に示した前処理法による尿試料溶液においても