

濃度範囲で添加し、上述したとおり前処理を行い、LC-MS MRM モードで測定して作成した。

### C. 結果・考察

危険ドラッグ摂取が起因している死亡 4 事例から得た血清及び尿試料について、別途報告したスクリーニング法で含有化合物の検索を行った結果、Figure 1 に示した 20 化合物 [カチノン系化合物 15 種類、合成カンナビノイド 2 種類、フェネチルアミン系 (ジヒドロベンゾフラン系) 化合物 1 種類、その他 2 種類] が検出された<sup>1)</sup>。そこで、検出された 2 種類の合成カンナビノイドの代謝物 7 化合物を加え、合計 27 化合物を対象として、生体試料中薬物の定量分析を行った。

まず、コントロール血清及び尿試料に各化合物を添加し、今回検討した分析法における回収率、検出限界、定量範囲、直線性、真度、精度について検討を行った。その結果を Table 1, 2 及び 3 にそれぞれ示した。化合物により検量線範囲は異なるが、良好な直線性 ( $r > 0.956$ ) が得られ、真度及び精度においても、低濃度の MPHHP 及び QUPIC-OH carboxyindole 代謝物で 30% を超える値となったが、その他は概ね良好な値が得られた。

次に、各生体試料における検出化合物の定量分析を実施した。Case 1 では血清および尿試料からカチノン系化合物 MDPPP (血清 587 ng/mL, 尿 1048 ng/mL) を高濃度検出したほか、計 10 種類のカチノン系化合物、またオピオイド受容体アゴニスト AH-7921 (235 ng/mL) を検出した (Table 4)。Case 2 においては血清中から合成カンナビノイド 5F-QUPIC を微量検出し、さらに代謝物と推定される 5 化合物を検出した。尿試料からは、未変化体は検出されず、代謝物のみ検出可能であった。酵素処理した尿からは 5F-QUPIC の quinoline 構造が脱離した carboxyindole 体、(5F-QUPIC 3-carboxyindole 422.6 ng/mL, QIPIC-COOH 3-carboxyindole 444.2 ng/mL) を高濃度に検出した (Table 5)。Case 3 は血清試

料のみ分析し、3 種類のカチノン系化合物  $\alpha$ -POP, 4F- $\alpha$ -PVP,  $\alpha$ -PHP, また極微量の 5F-QUPIC とその代謝物 3 化合物を検出した (Table 6)。Case 4 では血清および尿試料中から、NMDA 受容体アンタゴニストの Diphenidine が最も高濃度検出された (血清 217 ng/mL, 尿 97 ng/mL)。さらに、 $\alpha$ -PHP (血清 90 ng/mL, 尿 52 ng/mL) 他カチノン系 8 化合物、合成カンナビノイド 5F-AB-PINACA 及び代謝物 2 化合物、フェネチルアミン系化合物 5-APDB と、作用の異なる化合物群が混在して検出された (Table 7)。

Case 1 及び 4 の生体試料中からは、それぞれ作用の異なる化合物を含む 11 化合物 (及び代謝物) が検出された。濃度差を考慮すると、複数の化合物を含有する複数の危険ドラッグ製品を断続的に使用していたことが推測され、危険ドラッグ乱用者の危険な使用実態が憂慮された。なお、別途我々が構築した LC-QTOF によるスクリーニング法により、これら試料の危険ドラッグ成分以外の含有化合物探索を網羅的に行ったところ、Case 2 においては Sulpiride と Lidocaine が、Case 3 においては Lidocaine が検出された<sup>2)</sup>。

### E. 結論

我々はこれまでに、危険ドラッグが関与すると考えられている 4 死亡事例より得た血清、尿試料について、我々が構築した LC-MS/MS MRM モードを用いたスクリーニング法により含有化合物の検索を行い、計 20 種類の危険ドラッグ成分が検出されたことを報告している。本研究では、検出された 2 種類の合成カンナビノイドの代謝物 7 化合物を加え、合計 27 化合物を対象として、LC-MS/MS を用いて血清及び尿試料中薬物の定量分析を実施した。分析の結果、4 事例のうち、1 事例においては 1 種類の合成カンナビノイド及びその代謝物 5 化合物が検出された ( $> 444$  ng/mL)。一方、残りの 3 事例からは、薬理作用が異なる複数の危険ドラッグ成分が同一試料から検出された。特に 2 事例からは、それぞれ 11 種

類の化合物(及び代謝物)が検出され(> 1048 ng/mL), 乱用者の危険な使用実態が明らかになった。

#### E. 参考文献

- 1) 厚生労働科学研究補助金(特別研究事業)  
「いわゆる脱法ドラッグの迅速分析法に関する研究」(H26-特別-指定-031)平成26年度研究分担報告「危険ドラッグの LC-MS/MS を用いた迅速スクリーニング法の検討」(花尻(木倉)瑠理)。
- 2) 厚生労働科学研究補助金(特別研究事業)  
「いわゆる脱法ドラッグの迅速分析法に関する研究」(H26-特別-指定-031)平成26年度研究分担報告「危険ドラッグの LC-QTOF を用いた迅速スクリーニング法の検討」(花尻(木倉)瑠理)。

#### F. 健康危険情報

なし。

#### G. 研究発表

学会発表

- 1) R. Kikura-Hanajiri, M. Kawamura, K. Maebashi, S. Matsumoto, K. Iwadate and T. Hakamatsuka: Screening and quantitative analyses of newly-emerged psychoactive substances in 4 fatal cases using UPLC-MS/MS. TIAFT2014 (Nov. 2014, Buenos Aires)
- 2) 河村麻衣子, 花尻(木倉)瑠理, 前橋恭子, 松本紗里, 岩楯公晴, 袴塚高志: LC-MS/MS を用いたヒト生体試料中危険ドラッグ成分のスクリーニングおよび定量分析, 日本薬学会第 135 年会 (2015.3, 神戸)。

論文発表

なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

Table 1 Validation of results of the LC-MS/MS analyses of targeted compounds in serum samples

Compounds	MRM	Retention time (min)	Detection limits (ng/mL)	Linear ranges		Recovery (%)	Precision (% , n=4)				Accuracy (% , n=4)			
				ng/mL	r <sup>2</sup>		0.1 ng/mL	1	10	100	0.1 ng/mL	1	10	100
5-APDB	178.0>133.0	4.05	0.05	0.1-10	0.994	67.0	11.7	9.7	4.8	-	-3.0	2.4	12.5	-
a-ethylaminopentiophenone	206.0>146.0	6.18	0.05	0.1-10	0.991	69.9	10.2	16.4	7.1	-	6.2	-4.0	6.4	-
a-PBP	218.0>91.0	4.80	0.01	0.1-10	0.977	87.4	7.2	16.5	6.8	-	4.6	7.4	7.2	-
4-methyl-a-ethylaminopentiophenone	220.0>144.1	8.26	0.01	0.1-10	0.991	88.2	9.1	13.8	6.7	-	20.9	0.9	6.9	-
a-PVP	232.0>91.0	6.53	0.01	0.1-10	0.987	91.5	8.3	16.3	8.0	-	11.9	4.2	6.0	-
a-PVT	220.0>144.1	5.32	0.01	0.1-10	0.992	85.9	8.5	15.2	7.9	-	20.6	5.3	5.3	-
a-PHP	246.1>91.0	8.37	0.05	0.1-100	0.998	98.5	6.1	16.8	9.2	12.1	16.2	-1.9	-3.0	1.7
MDPPP	238.0>126.1	4.12	0.05	0.1-100	0.998	90.0	10.1	15.3	4.1	14.7	27.7	11.5	4.3	4.6
4F-aPVP	250.0>109.0	7.18	0.01	0.1-100	0.997	93.2	6.9	15.6	9.8	12.2	14.0	-2.1	-1.4	1.0
Diphenidine	266.1>181.1	9.78	0.01	0.1-100	0.997	96.3	10.8	11.7	8.5	12.4	17.9	23.6	15.1	3.1
MPHP	260.0>189.1	10.34	0.05	0.1-100	0.998	100.9	17.9	16.5	7.2	13.5	31.4	8.1	6.3	2.1
a-PHPP	260.1>91.1	10.38	0.01	0.1-100	0.998	100.2	8.9	17.6	9.7	12.4	17.4	6.4	1.2	1.0
4MeO-aPVP	262.0>121.0	7.64	0.01	0.1-10	0.992	109.6	9.5	14.1	4.3	-	12.9	7.2	8.2	-
DL-4662	266.1>217.1	6.45	0.01	0.1-10	0.996	102.3	14.0	13.6	3.3	-	18.2	6.3	8.3	-
a-POP	274.1>91.0	12.27	0.01	0.1-10	0.991	96.4	8.4	19.0	10.2	-	19.4	5.9	5.0	-
4F-aPHPP	278.1>109.0	11.00	0.05	0.1-100	0.998	101.8	5.4	19.2	12.2	12.5	18.0	-1.2	-2.0	1.6
4MeO-aPHPP	290.0>121.0	11.18	0.01	0.1-100	0.998	107.0	10.5	15.0	5.1	11.4	25.4	6.4	6.1	-1.7
AH-7921	329.1>283.9	10.16	0.01	0.1-100	0.998	115.7	11.6	13.8	4.7	12.8	24.7	4.5	8.8	0.4
5F-QUPIC	377.1>232.1	20.75	0.05	0.1-10	0.998	110.1	10.1	10.8	3.8	-	17.0	4.8	3.6	-
5FQUPICcarboxyindole	250.1>118.0	14.91	0.05	0.1-100	0.996	132.7	11.7	10.4	13.8	10.9	16.8	-7.6	-7.7	8.7
QUPIC-OH carboxyindole	230.0>144.0	10.41	0.1	0.1-100	0.993	120.0	30.4	5.9	17.5	11.2	14.5	15.1	20.4	5.5
QUPIC-COOH carboxyindole	244.0>54.9	10.23	0.5	1-100	0.994	96.6	-	17.4	17.9	14.8	-	11.9	20.0	25.9
QUPIC-N-OH	375.1>230.1	15.98	0.01	0.1-10	0.997	104.3	8.9	9.4	15.8	-	13.4	-3.6	2.0	-
QUPIC-N-COOH	389.1>244.1	15.75	0.05	0.1-10	0.997	111.7	9.5	9.0	15.2	-	12.1	-4.9	0.4	-
5F-AB-PINACA	349.0>233.0	15.00	0.05	0.1-100	0.994	105.0	7.1	8.8	6.7	13.6	18.6	9.1	14.5	0.6
AB-PINACA-NOH	347.0>213.1	10.91	0.1	0.1-10	0.994	98.5	19.9	11.0	14.9	-	-12.8	-3.9	0.6	-
AB-PINACA-NCOOH	361.0>245.0	10.81	0.1	1-10	0.975	93.3	-	13.6	15.2	-	-	-10.4	-0.8	-

Table 2 Validation of results of the LC-MS/MS analyses of targeted compounds in urine samples

Compounds	MRM	Retention time (min)	Detection limits (ng/mL)	Linear ranges		Recovery (%)	Precision (% , n=3)					Accuracy (% , n=3)				
				ng/mL	r <sup>2</sup>		0.1 ng/mL	0.5	1	10	100	0.1 ng/mL	0.5	1	10	100
5-APDB	178.0>133.0	4.05	0.1	0.1-10	0.993	46.9	5.3	8.1	10.2	8.6	-	27.1	-8.9	3.5	3.9	-
a-ethylaminopentiophenone	206.0>146.0	6.18	0.05	0.1-10	0.980	72.5	13.7	7.5	15.0	11.4	-	-2.8	20.3	20.4	20.8	-
a-PBP	218.0>91.0	4.80	0.01	0.1-10	0.993	65.7	6.9	8.3	13.4	9.9	-	-16.3	2.4	2.3	13.4	-
4-methyl-a-ethylaminopentiophenone	220.0>144.1	8.26	0.01	0.1-10	0.987	65.1	7.3	8.7	10.6	7.9	-	0.0	15.2	17.9	16.5	-
a-PVP	232.0>91.0	6.53	0.01	0.1-10	0.996	65.6	10.8	11.5	17.5	10.3	-	-13.5	8.3	6.9	12.3	-
a-PVT	220.0>144.1	5.32	0.01	0.1-10	0.995	60.4	8.1	11.3	19.1	12.2	-	-11.7	1.9	3.7	16.2	-
a-PHP	246.1>91.0	8.37	0.05	0.1-100	0.996	65.9	25.5	18.1	21.8	10.5	18.0	20.9	27.8	25.6	23.1	11.3
MDPPP	238.0>126.1	4.12	0.05	0.1-100	0.982	51.7	5.8	4.8	5.1	8.5	9.8	12.5	21.1	17.9	26.2	14.6
4F-aPVP	250.0>109.0	7.18	0.01	0.1-100	0.996	60.2	3.4	10.2	19.2	10.6	20.0	-3.7	14.4	18.0	24.4	10.6
Diphenidine	266.1>181.1	9.78	0.01	0.1-100	0.999	88.7	7.0	-	7.0	5.4	27.7	10.5	-	-9.4	1.5	-1.3
MPHP	260.0>189.1	10.34	0.05	0.1-100	0.993	68.1	27.6	13.7	15.2	11.0	17.2	-0.5	27.7	29.2	24.7	10.2
a-PHPP	260.1>91.1	10.38	0.01	0.1-100	0.996	65.8	7.7	9.7	16.3	10.7	18.4	-3.9	19.6	21.7	26.8	10.6
4MeO-aPVP	262.0>121.0	7.64	0.01	0.1-10	0.987	70.2	4.4	6.2	6.9	6.7	-	-6.4	25.1	24.1	13.0	-
DL-4662	266.1>217.1	6.45	0.01	0.1-10	0.992	62.9	13.5	7.8	5.2	6.5	-	-4.8	10.5	5.4	1.8	-
a-POP	274.1>91.0	12.27	0.01	0.1-10	0.997	64.4	6.8	11.2	18.5	9.4	-	-16.9	4.7	7.4	12.0	-
4F-aPHPP	278.1>109.0	11.00	0.05	0.5-100	0.996	71.3	-	9.2	21.7	10.5	19.3	-	17.0	22.5	25.2	12.2
4MeO-aPHPP	290.0>121.0	11.18	0.01	0.1-100	0.994	79.5	4.1	4.7	12.4	8.5	15.3	5.9	22.9	22.6	17.8	10.0
AH-7921	329.1>283.9	10.16	0.01	0.1-100	0.993	84.9	6.0	9.3	6.9	7.3	12.4	10.6	21.9	27.6	16.0	6.1
5F-QUPIC	377.1>232.1	20.75	0.05	0.1-10	0.996	67.3	3.9	4.4	5.5	13.1	-	-1.5	1.3	1.6	-2.6	-
5FQUPICcarboxyindole	250.1>118.0	14.91	0.05	0.1-100	0.991	72.2	15.2	10.1	3.3	9.7	4.1	28.4	-7.0	-9.4	-23.6	2.8
QUPIC-OH carboxyindole	230.0>144.0	10.41	0.1	0.5-100	0.992	85.6	-	8.0	19.4	14.2	4.1	-	17.7	12.8	-11.1	-1.2
QUPIC-COOH carboxyindole	244.0>54.9	10.23	0.5	1-100	0.984	62.0	-	-	18.9	8.0	4.8	-	-	-2.9	-20.4	1.8
QUPIC-N-OH	375.1>230.1	15.98	0.01	0.1-10	0.993	65.8	4.6	9.0	6.6	7.9	-	20.9	11.9	10.3	-12.1	-
QUPIC-N-COOH	389.1>244.1	15.75	0.05	0.5-10	0.986	69.3	-	8.6	10.0	6.2	-	-	15.6	9.5	-15.1	-
5F-AB-PINACA	349.0>233.0	15.00	0.05	0.1-100	0.985	89.3	2.3	11.5	5.6	15.5	-	-5.1	2.4	-5.3	-20.5	-
AB-PINACA-NOH	347.0>213.1	10.91	0.25	0.5-10	0.974	93.1	-	11.1	13.6	13.4	-	-	5.2	-4.0	-18.9	-
AB-PINACA-NCOOH	361.0>245.0	10.81	0.25	0.5-10	0.977	91.8	-	29.0	27.1	11.5	-	-	17.0	11.1	-16.5	-

Table 3 Validation of results of the LC-MS/MS analyses of targeted compounds in urine samples after the  $\beta$ -glucuronidase treatment

Compounds	MRM	Retention time (min)	Detection limits (ng/mL)	Linear ranges		Recovery (%)	Precision (%; n=3)				Accuracy (%; n=3)			
				ng/mL	r <sup>2</sup>		1ng/mL	10	100	1000	1ng/mL	10	100	1000
5F-QUPIC	377.1>232.1	20.75	0.1	0.1-5	0.977	68.2	11.2	-	-	-	-18.6	-	-	-
5FQUPICcarboxyindole*	250.1>118.0	14.91	0.5	1-1000	0.997	88.1	18.5	10.4	8.9	6.3	-16.0	-9.6	4.8	2.9
QUPIC-OH carboxyindole*	230.0>144.0	10.41	0.5	1-1000	0.998	78.0	5.6	10.2	5.3	4.9	-9.2	16.5	6.1	5.5
QUPIC-COOH carboxyindole*	244.0>54.9	10.23	0.5	1-1000	0.999	100.5	23.0	10.7	6.1	6.1	12.6	6.2	9.0	5.3
QUPIC-N-OH	375.1>230.1	15.98	0.1	0.1-10	0.995	63.7	4.1	6.0	-	-	-16.9	6.1	-	-
QUPIC-N-COOH	389.1>244.1	15.75	0.1	0.5-10	0.99	56.3	5.9	6.4	-	-	-17.3	-0.2	-	-
5F-AB-PINACA	349.0>233.0	15.00	0.1	0.1-5	0.956	104.9	10.4	-	-	-	-21.4	-	-	-
AB-PINACA-NOH	347.0>213.1	10.91	0.1	0.5-10	0.983	92.2	10.9	8.0	-	-	-20.1	5.8	-	-
AB-PINACA-NCOOH	361.0>245.0	10.81	0.1	0.5-10	0.957	98.4	13.8	5.7	-	-	-3.9	1.2	-	-

\* Absolute calibration curve methods

Table 4 Quantitative analyses of the psychoactive substances and their metabolites found in the serum and urine samples (Case 1)

Compounds	Serum (n=4)			Urine (n=3)		
	ng/mL			ng/mL		
MDPPP	587.37	±	30.07	1048.23	±	60.75
AH-7921	235.52	±	9.98	74.31	±	1.68
MPHP	114.17	±	5.85	53.24	±	1.41
$\alpha$ -PHPP	92.88	±	4.71	30.39	±	0.51
4F- $\alpha$ -PVP	30.06	±	0.59	11.13	±	0.12
$\alpha$ -PBP	3.67	±	0.09	1.78	±	0.02
$\alpha$ -EAPP	1.06	±	0.03	0.27	±	0.003
4MeO- $\alpha$ -PVP	0.60	±	0.01	0.25	±	0.01
$\alpha$ -PVT	0.39	±	0.01	0.13	±	0.002
$\alpha$ -PVP	0.33	±	0.01	TR		
$\alpha$ -PHP	0.16	±	0.01	TR		

Table 5 Quantitative analyses of the psychoactive substances and their metabolites found in the serum and urine samples (Case 2)

Compounds	Serum (n=4)			Urine (n=3)			Urine (glucuronidase, n=3)		
	ng/mL			ng/mL			ng/mL		
5F-QUPIC	0.53	±	0.02	ND			ND		
5F-QUPIC 3-carboxyindole	21.95	±	1.07	59.8	±	2.9	422.6	±	10.1
QUPIC-OH 3-carboxyindole	13.55	±	0.52	5.8	±	0.2	21.5	±	0.5
QUPIC-COOH 3-carboxyindole	104.28	±	6.26	109.9	±	9.5	444.2	±	9.7
QUPIC-OH	0.30	±	0.01	ND			0.1		
QUPIC-COOH	0.10			0.1			0.1		

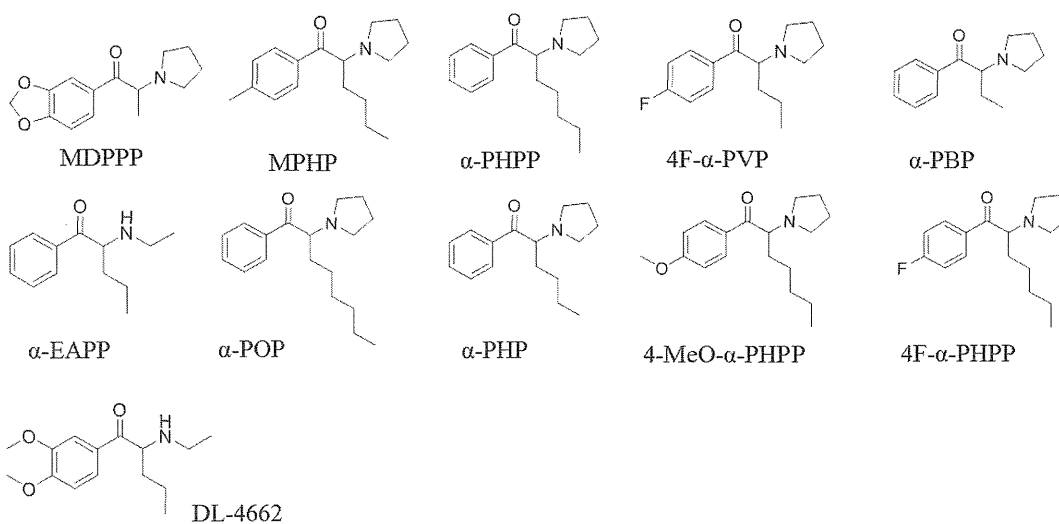
Table 6 Quantitative analyses of the psychoactive substances and their metabolites found in the serum samples (Case 3)

Compounds	Serum (n=4)		
	ng/mL		
α-POP	8.07	±	0.32
4F-α-PVP	0.33	±	0.02
α-PHP	0.10	±	0.005
5F-QUPIC	TR		
5F-QUPIC 3-carboxyindole	0.84	±	0.03
QUPIC-OH 3-carboxyindole	0.25	±	0.02
QUPIC-COOH 3-carboxyindole	2.13	±	0.09

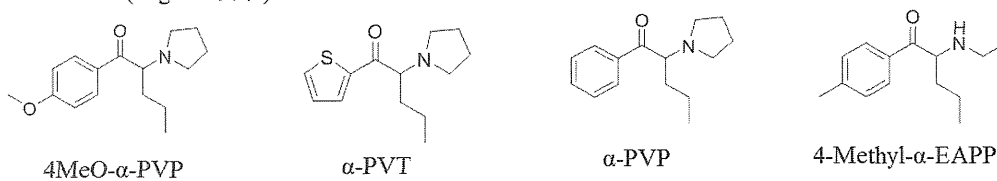
Table 7 Quantitative analyses of the psychoactive substances and their metabolites found in the serum and urine samples (Case 4)

Compounds	Serum (n=4)			Urine (n=3)			Urine (glucuronidase, n=3)		
	ng/mL			ng/mL			ng/mL		
Diphenidine (Others)	217.61	±	5.06	93.19	±	3.48			
$\alpha$ -PHP (CA)	90.15	±	1.34	52.02	±	1.49			
4MeO- $\alpha$ -PHPP (CA)	19.49	±	0.35	7.90	±	0.09			
4F- $\alpha$ -PHPP (CA)	15.65	±	0.27	3.54	±	0.20			
5F-AB-PINACA (SC)	6.85	±	0.11	0.87	±	0.22	0.50	±	0.02
AB-PINACA-OH	67.18	±	1.85	1.03	±	0.14	1.00	±	0.10
AB-PINACA-COOH	48.61	±	2.11	1.89	±	0.07	1.80	±	0.10
5-APDB (PA)	5.80	±	0.17	10.38	±	0.68			
4F- $\alpha$ -PVP (CA)	1.66	±	0.03	1.08	±	0.04			
DL-4662 (CA)	1.05	±	0.03	0.69	±	0.03			
4Me- $\alpha$ -EAPP (CA)	0.89	±	0.01	0.11	±	0.003			
$\alpha$ -POP (CA)	0.18	±	0.004	TR					
$\alpha$ -PHPP (CA)	0.15	±	0.002	TR					

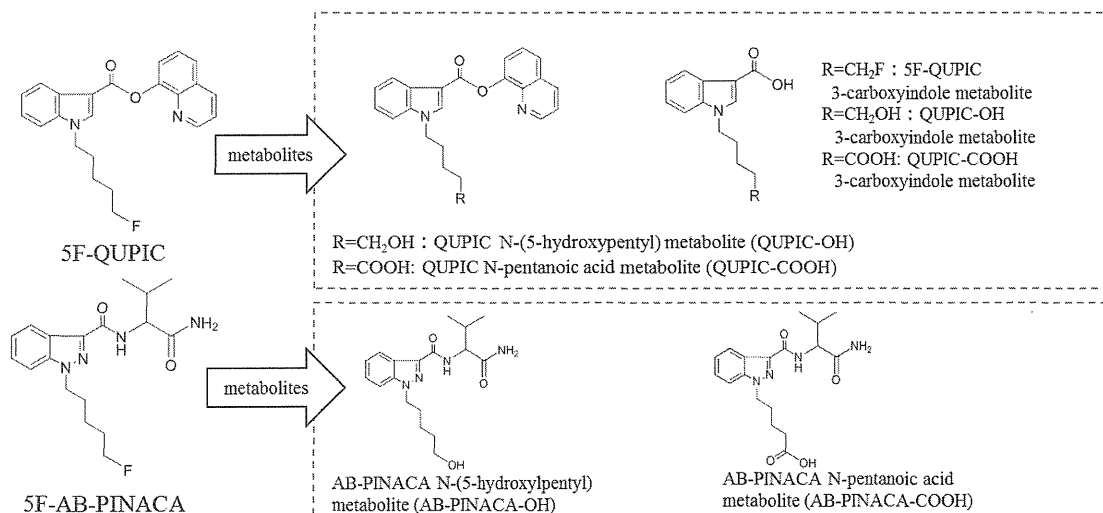
## Cathinones



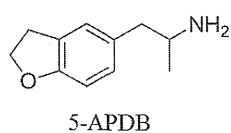
Trace levels (1ng/mL以下)



## Synthetic cannabinoids



## Phenethylamines



## Others

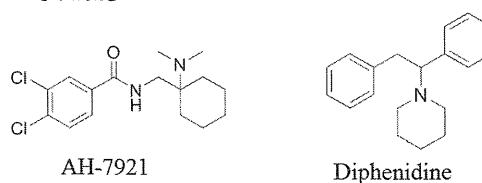


Fig. 1 Chemical structures of 27 psychoactive substances detected in the test biological samples



分担研究課題:乱用薬物の鑑別法に関する研究

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

研究協力者:阿久津 守 関東信越厚生局麻薬取締部鑑定課鑑定課長

一固相分散抽出-GC/MS 法によるヒト血清中合成カンナビノイドの分析法の検討一

研究要旨:合成カンナビノイド類は、尿より未変化体の成分を検出することが困難であり、未変化体を捕らえるためには、血中からの検出が主に行われている。本研究では、固相分散抽出法-GC/MS 法により麻薬に格上げ指定された JWH-018, JWH-122, JWH-073, カンナビシクロヘキサノール(CCH), XLR11, AM2201, MAM-2201 の 7 化合物に着目し、血清合成カンナビノイド類の検出法の検討を行った。同法は、簡便かつ迅速な抽出法であり、ほぼ閉鎖系で抽出を行うため、実験者への感染を回避し易い安全な前処理法であった。また同法による検出限界(S/N>3)は、2.5 ng/mL (JWH-018, JWH-122, CCH, XLR11, AM2201)及び 5.0 ng/mL (JWH-073, MAM-2201)で、定量下限(S/N>10)は、5.0 ng/mL (JWH-018, JWH-122, CCH, XLR11, AM2201)及び10.0 ng/mL (JWH-073, MAM-2201)であった。同法は迅速で安全な分析法であり、合成カンナビノイドの血中未変化体の確認試験法として有用であることが示唆された。

研究協力者

杉江 謙一 関東信越厚生局麻薬取締部

厚生労働技官

A. 研究目的

大麻の精神作用成分であるテトラヒドロカンナビノールと類似の作用を示す合成カンナビノイド類を乾燥植物細片に混合したもの(いわゆる危険ドラッグ)が、2004 年以降世界各国に広がり、我が国においても「お香」などと標榜して販売されており、健康被害が急増している<sup>1,2)</sup>。当該合成カンナビノイドについては、新たに出現するたびに順次「指定薬物」に指定されており、また依存性、精神毒性等が確認された物質については麻薬に指定され、一層厳格に規制されている<sup>3)</sup>。更に、平成26年4月の薬事法改正により、指定薬物に指定されたものは、使用罪の適応を受けることになった。使用罪を立証するためには、尿や血液など

の生体試料から指定薬物成分または代謝物を検出することが肝要となる。この際、生体試料から未変化体成分が検出されることが望ましいが、一般に合成カンナビノイド類は、尿より未変化体の成分を検出することが困難であり<sup>4,5)</sup>、未変化体を捕らえるためには、血中からの検出が主に行われている<sup>6,7)</sup>。また生体試料の鑑定試験は迅速かつ正確さが要求されることから、本研究においては、合成カンナビノイド類の中でも指定薬物より使用罪の罰則規定が厳しい麻薬に格上げ指定された図 1 に示す7品目(JWH-018, JWH-122, JWH-073, カンナビシクロヘキサノール(CCH), XLR11, AM2201, MAM-2201)に着目し、血中未変化体の迅速検出法の検討を行うこととした。

従来、血液等生体試料の前処理には固相抽出法(Solid-phase extraction; SPE)が汎用されており、当該方法は、液-液抽出と比較して、1) 使用する溶媒が少量、2) エマルジョンが生成され

ないこと、3) 多数試料の処理が迅速などのメリットがあるが、他方、SPE は、開放系で処理が行われるため、有害化学物質による実験者への曝露やクロスコンタミネーションなどが危惧される。特に薬物乱用者は注射器の共用などから肝炎や HIV 感染者なども多く、当該感染者の血液については慎重に取扱う必要があり、実験中の血液飛散等がないよう配慮しなければならないが、SPE で主に使用するマニホールドのような開放系の器具などから感染するおそれも無視できない。そこで本研究では、前述の問題改善と試験の迅速化を図ることを目的として固相分散抽出法 (Solid-phase dispersive extraction; SPDE) を採用し、その有用性を検討した。また従来、一般に合成カンナビノイド類の血液等生体試料の検出は、比較的感度の良い LC/MS 等で行われているが<sup>6-11)</sup>、法科学分野では、原理の違う複数の技法による分析を実施することが推奨される<sup>12)</sup>ことから、LC/MS 等とは別に GC/MS による分析法を検討することとした。

なお、SPDE とは、マイクロチューブ内において、試料液中に固相抽出剤を分散させ、これを遠心ろ過フィルターを用いて、1) 遠心分離により固相と溶媒相をろ別、2) 分散洗浄、3) 分散溶出、の3ステップ操作を行うもので、既存の SPE の欠点を克服した抽出およびクリーンアップ方法であり、血清中のベンゾジアゼピン系薬物やバイコマイシンの検出に応用されている<sup>13,14)</sup>。本研究では、血清を試料として前記の合成カンナビノイド類について測定を行い、SPDE の適用性を検討した。

## B. 研究方法

### 1. 試料および試薬

凍結ヒト血清は、提出者から適切な同意が得られ、個人情報情報が確実に連結不可能で匿名化されている旨の証明が得られたものをコスモ・バイオ (株) から購入した。JWH-018, JWH-073, JWH-122, AM2201, MAM-2201 および XLR11 は Cayman chemical 社から麻薬指定前に購入し

た。カンナビシクロヘキサノールは、麻薬指定前に国立医薬品食品衛生研究所より提供を受けたものを使用した。その他の試薬は試薬特級品を関東化学株式会社から購入した。

### 2. 器具および装置

#### 器具

SPDE で使用する遠心濾過フィルター (製品名: @ろ過<sup>TM</sup>) およびスクリーバイアル (製品名: キャップチューブ<sup>TM</sup>) は (株) フロンティア・サイエンスから提供されたものを使用した (図 2)。Oasis<sup>®</sup> HLB (30  $\mu$ m) は Waters 社から購入した。2 mL のマイクロチューブはワトソン株式会社から購入した。

#### 装置

卓上遠心機: H-36 (株) コクサン, 超音波洗浄機: VS-F100 アズワン (株),

高速パラレル濃縮装置: TurboVapLV バイオタージ・ジャパン (株),

パーソナル遠心機: CHIBITAN II (10 krpm) メルク (株)

### 3. 固相懸濁剤の調製

Oasis<sup>®</sup> HLB カートリッジから取り出した固相剤 100 mg をマイクロチューブに入れ、メタノール 1.0 mL を加えた。このマイクロチューブに @ろ過<sup>TM</sup> を装着し、フィルター反対側にも同様にマイクロチューブを装着した。Oasis<sup>®</sup> HLB を添加したマイクロチューブが下側に位置したままボルテックスミキサーを用いて攪拌し、固相剤をメタノール中に分散させた。直ちに上下逆にして遠心分離 (3,000 rpm, 1 分間) し、溶媒をろ別した。溶媒が入ったマイクロチューブを外し、代わって超純水 1.0 mL を入れたマイクロチューブを @ろ過<sup>TM</sup> に装着し、再び上下逆 (Oasis<sup>®</sup> HLB を添加したマイクロチューブを下向き) にして遠心分離 (3,000 rpm, 1 分間) した。Oasis<sup>®</sup> HLB を添加したマイクロチューブを @ろ過<sup>TM</sup> から脱着し、攪拌・分散して、100 mg/mL の固相懸濁液を調製した。

#### 4-1. 血清の除タンパク

血清 0.5 mL をマイクロチューブに入れ、アセト

ニトリル 0.5 mL を加えて攪拌し、遠心分離(10 krpm, 1 min)した。上清を可能な限り採取し、圧縮気流下、40°Cで約 250 µL まで濃縮し、以下のとおり固相分散抽出を行った。

#### 4-2. SPDE による前処理操作

@ろ過™の上部にキャップチューブ™、下部にマイクロチューブを装着し(以下デバイスと呼ぶ)、キャップチューブ™側に各試験対象7物質(250 ng/mL)を添加した血清 0.5 mL および固相懸濁液 0.1 mL(固相剤 10 mg 相当)を添加した。ボルテックスミサーで攪拌し、遠心分離(3,000 rpm, 1min)した後、ろ液が入ったマイクロチューブを外し、代わって新たに空のマイクロチューブを@ろ過™に装着して、キャップチューブ™側に超純水 1.0 mL を加えて攪拌し、遠心分離(3,000 rpm, 1 min×2)して固相を洗浄した。マイクロチューブを再度交換し、溶出溶媒としてアセトン 1.0mL を加えて攪拌し、更に超音波照射(100 kHz, 1 min)した後、同様に遠心分離(3,000 rpm, 1min)した。溶出液は、圧縮気流下で蒸発乾固し、メタノール 0.5 mL で再溶解させ、遠心分離(10 krpm, 1 min)し、上清を GC/MS 用試験溶液とした。(図 3)

#### 5. GC/MS 測定

装置:Agilent 社製 7890A GC / 5975C MSD

分析カラム:Agilent 社製 DB-5MS (30 m×0.25 mm i.d, 膜厚 0.25 µm)

注入口温度:250°C

カラム温度:180°C (1 分間保持)→5°C/min 昇温  
→250°C (5 分間保持)→20°C/min 昇温

310°C(7 分間保持)

トランスファーライン温度:280°C

注入量:2 µL

注入法:スプリットレス

キャリアーガス:ヘリウム(1.2 mL/min)

イオン化法:電子イオン化法(EI)

イオン化電圧:70eV

検出器温度:280°C

四重極温度:150°C

測定方法:SIM

JWH-018:測定用イオン m/z 214,

確認用イオン m/z 341

JWH-122:測定用イオン m/z 214,

確認用イオン m/z 355

JWH-073:測定用イオン m/z 200,

確認用イオン m/z 327

CCH:測定用イオン m/z 233,

確認用イオン m/z 215

XLR-11:測定用イオン m/z 232,

確認用イオン m/z 314

AM-2201:測定用イオン m/z 232,

確認用イオン m/z 359

MAM-2201:測定用イオン m/z 373,

確認用イオン m/z 232

#### C. 研究結果および考察

##### 1. 溶出溶媒の検討

測定対象物質(7 種類)に対する溶出溶媒として、アセトン、2%ギ酸/酢酸エチル混液、酢酸エチル、アセトニトリルおよびメタノールを選択し、比較検討した。その結果、各物質に対する絶対回収率は、アセトン、2%ギ酸/酢酸エチル混液では、各物質とも概ね 80-100%と良好な回収率が得られたが、酢酸エチル、アセトニトリルおよびメタノールによる回収率は、40-70%程度と低い値であった(図 4)。アセトンおよび 2%ギ酸/酢酸エチル混液が効率の良い溶出溶媒であることが示唆されるが、2%ギ酸/酢酸エチル混液を用いた場合には、溶媒の調整や溶出後の作業(溶媒濃縮・乾固)に時間がかかったのに対し、アセトンの方が作業時間を短縮できることから、アセトンを溶出溶媒として選択した。

##### 2. 固相添加量の比較

通常の 1 mL 程度の液体試料を処理する際に使われる SPE において、カートリッジに充てんされている固相剤の量は 30 mg であることから、本実験では、固相剤の至適添加量を確認するため、5, 10, 20, 30 および 40 mg について回収率を比

較検討した。その結果、固相剤の量が5～10 mgと増加すると回収率も増加したが、その後はやや減少傾向が見られた。10 mgの固相剤を添加したときの回収率は80-100%と最も高い回収率を示した。よって固相剤の添加量としては10 mgを選択した。

### 3. GC/MS 測定

GC/MSの測定においては、高感度且つ選択性の高いSIMモードを選択した。GCキャピラリーカラム、オーブンの昇温温度条件については、国連薬物犯罪事務所が推奨する合成カンナビノイドの分析法<sup>15)</sup>に準じて至適条件を検討した。その結果、各測定対象物質のピーク形状は良好であり、いずれも良好に相互分離された(図5)。

### 4. 検出限界および定量下限

クロマトグラム上、ピークがS/N>3及びS/N>10となる最小試料濃度を検出限界および定量下限とした。試料は、無添加の血清を前述の方法により固相分散まで行い、溶出液を蒸発乾固した後、残留物に各合成カンナビノイド標準品を添加して5, 10, 25, 100, 250, 500 ng/mLの6濃度に調製したものについて測定した。検量線は絶対検量線法で作成した。各物質の検出限界および定量下限を算出した結果、検出限界は、2.5及び5.0 ng/mL、定量下限は、5.0及び10 ng/mLであった。検量線は5～500 ng/mLおよび10～500 ng/mLの濃度範囲で良好な直線性(相関係数 $r=0.994\sim 0.997$ )を示した(表1)。

### D. 結論

薬物乱用がHIV感染の主要な経路の1つになっていることは論を待たないところであるが<sup>16)</sup>、薬物乱用者の血液等試料を分析する際には、徹底した感染予防に心掛けなければならない。従来のSPEで主に使用するマニホールドのような開放系の器具では、分析後、拡散した血液等試料の処理に配慮しなければならないがSPDEは血液等試料を閉鎖系で処理することができるため、操作中における血液等試料の飛散などによる実験者への感染の回避をすることができ安全な前処

理法であると言える。また、LC/MS等による合成カンナビノイドの血中未変化体の検出事例はおよそ0.1～230 ng/mLと報告されている<sup>11,12)</sup>が、本研究の結果では、SPDE-GC/MS法での定量下限は、5.0及び10 ng/mLであるため、現時点では、LC/MS等の結果を完全に網羅できるものではない。しかしLC/MS等定量下限まで測定することが必要であれば、試料を濃縮するなどの処理をすることにより、同等レベルの分析も可能と考えられる。特に、法科学分野で原理の違う複数の技法による分析を実施することが要求される場合、同法は、LC/MS等に匹敵する微量かつ精度の良い分析法であり、合成カンナビノイドの血中未変化体の確認試験法として有用であることが示唆された。

### 謝辞

本研究の遂行に当たり、星薬科大学薬品分析化学教室 斉藤貢一教授より貴重な御助言をいただきました。深謝申し上げます。

### 参考文献

- 1) 花尻(木倉)瑠理, 脱法ドラッグ(脱法ハーブ)による健康被害を防ぐために. 日本法科学技術学会誌, 18 別冊, p.1, 2013.
- 2) UNODC, 2. Main new psychoactive substances encountered in illicit ATS markets and their effects, in: *The challenge of new psychoactive substances*. p.3, United Nation Publication, Vienna, 2013.
- 3) 厚生労働省医薬食品局監視指導・麻薬対策課, 第8章 合成ハーブ等と称して販売される薬物(いわゆる脱法ドラッグ)対策, 麻薬・覚醒剤行政の概況, pp.201-202, 2014.
- 4) Hutter M., Broecker S., Kneisel S. and Auwärter V., Identification of the major urinary metabolites in man of seven synthetic cannabinoids of the aminoalkindole type present as adulterants in "herbal mixtures" using LC-MS/MS techniques. *J. Mass. Spectrom.*, 47,

- 54-65, 2012.
- 5) Sobolevsky T., Prasolov I. and Rodchenkov G., Detection of JWH-018 metabolites in smoking mixture post-administration urine. *Forensic Sci Int.*, **200**, 141-147, 2010.
- 6) Teske J., Weller JP., Fieguth A., Rothämel T., Schulzlr Y. and Tröger HD., Sensitive and rapid quantification of the cannabinoid receptor agonist naphthalen-1-yl- (1-pentylindol-3-yl) methanone (JWH-018) in human serum by liquid chromatography -tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B*, **878**, 2659-63, 2010.
- 7) Kneisel S. and Auwärter., Analysis of 30 synthetic cannabiniods in serum by liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry after liquid-liquid extraction. *J. Mass. Spectrom.*, **47**, 825-835, 2012.
- 8) Zhang L., Wang Z-H., Li H., Liu Y., Zhao M., Jiang Y. and Zhao W-S., Simultaneous determination of 12 illicit drugs in whole blood and urine by soild phase extraction and UPLC-MS/MS. *J Chromatogr B*, **955-956**, 10-19, 2014.
- 9) Ammann J., McLaren J., Gerostamoulos D. and Beyer J., Detection and Quantification of New Designer Drugs in Human Blood: Part1 – Synthetic Cannabioids. *J Anal Toxicol* **36(6)**, 372-80, 2012.
- 10) Shanks K., Dahn T. and Terrell A., Detection of JWH-018 and JWH-073 by UPLC-MS/MS in Postmortem Whole Blood Casework. *J Anal Toxicol* **36**, 145-152, 2012.
- 11) Hermanns-Clausen M., Kneisel S., Hutter M., Szabo B. and Auwärter V., Acute intoxication by synthetic cannabinoids – Four case reports. *Drug Test Analysis*, 2013.
- 12) SWGDRUG, RECOMMENDATIONS METHOD OF ANALYSIS / DRUG IDENTIFICATION. p.14, July-7, 2011.
- 13) Saito K., Kikuchi Y. and Saito R., Solid-phase dispersive extraction method for analysis of benzodiazepine drugs in serum and urine samples. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **100**, 28-32, 2014.
- 14) Sakamoto Y., Jinno Y. Shinoduka I., Iwasaki Y., Ito R. and Saito K., Sample Cleanup Using Solid-Phase Dispersive Extraction for Determination of Vancomycin in Serum. *Anal. Sci*, **30**, 271-275, 2014.
- 15) UNODC, Recommended method for the Identification and Analysis of Synthetic Cannabinoid Receptor Agonists in Seized Materials. p.34, United Nation, New York, 2013.
- 16) 和田清, 小堀栄子, 薬物依存とHIV/HCV感染-現状と対策-, *J. AIDS Research*, **1**, 1-7, 2011.
- E. 研究発表  
特になし
- F. 知的所有権の取得状況  
特になし

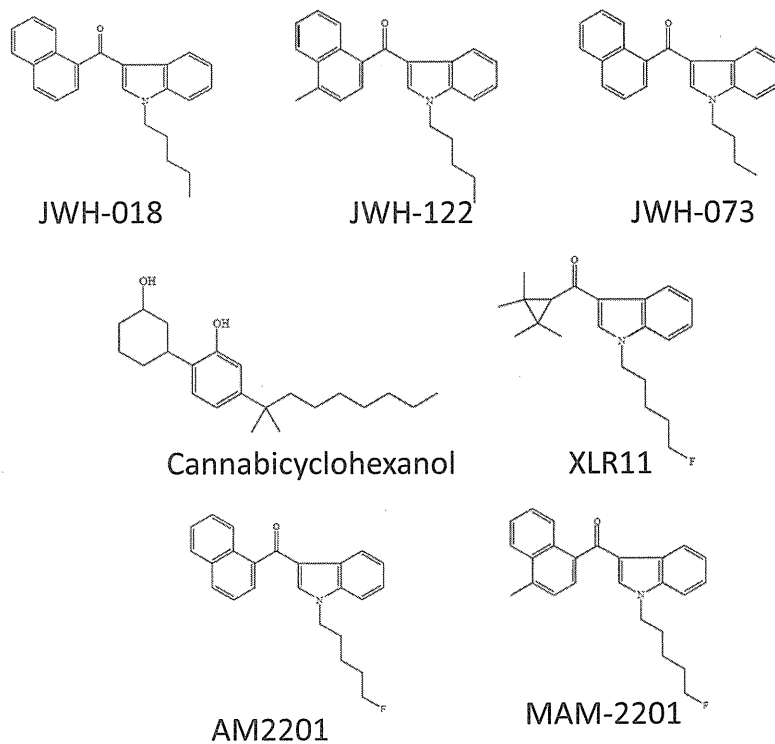


図1 麻薬に指定された合成カンナビノイド7化合物

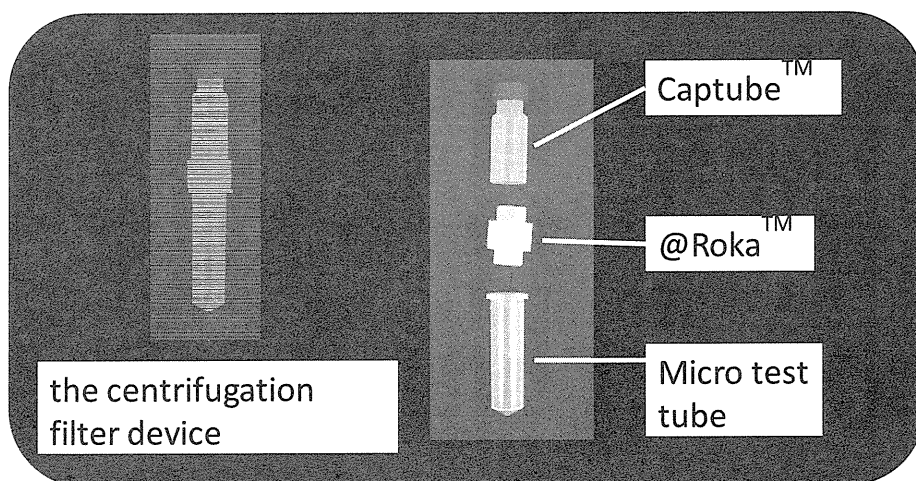


図2 SPDE で使用する器具(超純水 1 mL を加えて攪拌)

上:スクリーバイアル(製品名:キャップチューブ™)

中:遠心ろ過フィルター(製品名@ろ過™)

下:マイクロチューブ

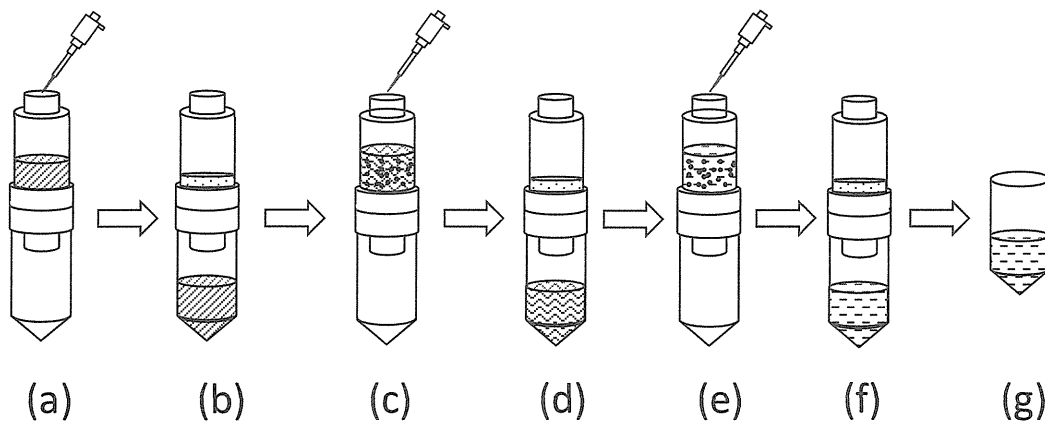


図3 SPDEによる前処理操作

@ろ過<sup>TM</sup>の上部にキャップチューブ<sup>TM</sup>、下部にマイクロチューブを装着し以下の操作を行う

- a) 血清(試験対象物質添加液)および固相懸濁液をキャップチューブ<sup>TM</sup>に添加
- b) 攪拌後、遠心分離(3,000 rpm, 1min)
- c) キャップチューブ<sup>TM</sup>に超純水を加えて攪拌
- d) 固相洗浄のため遠心分離(3,000 rpm, 1min×2)
- e) 溶出溶媒(アセトン)をキャップチューブ<sup>TM</sup>に添加
- f) 溶出のため再度遠心分離(3,000 rpm, 1min)
- g) 試料

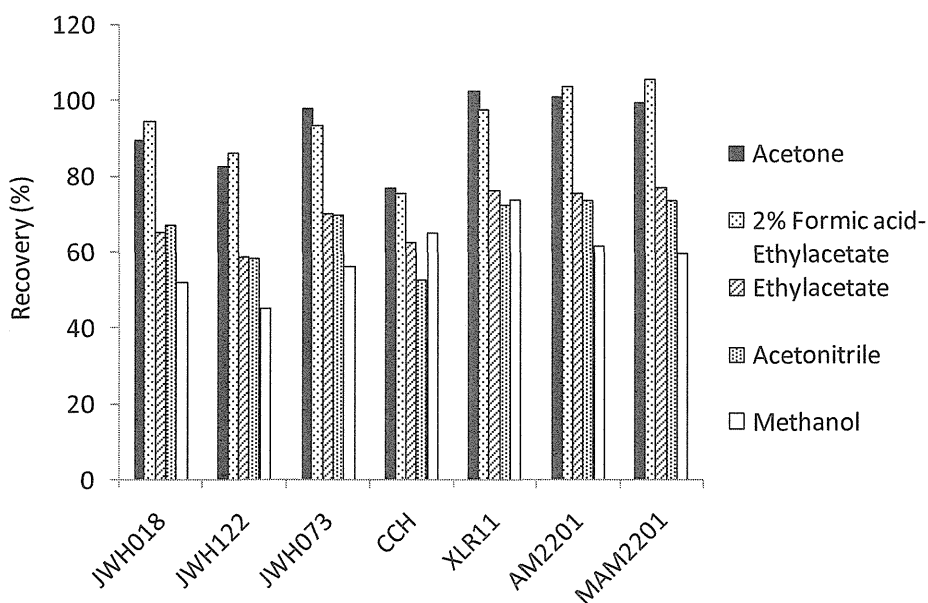


図4 各溶出液による回収率比較

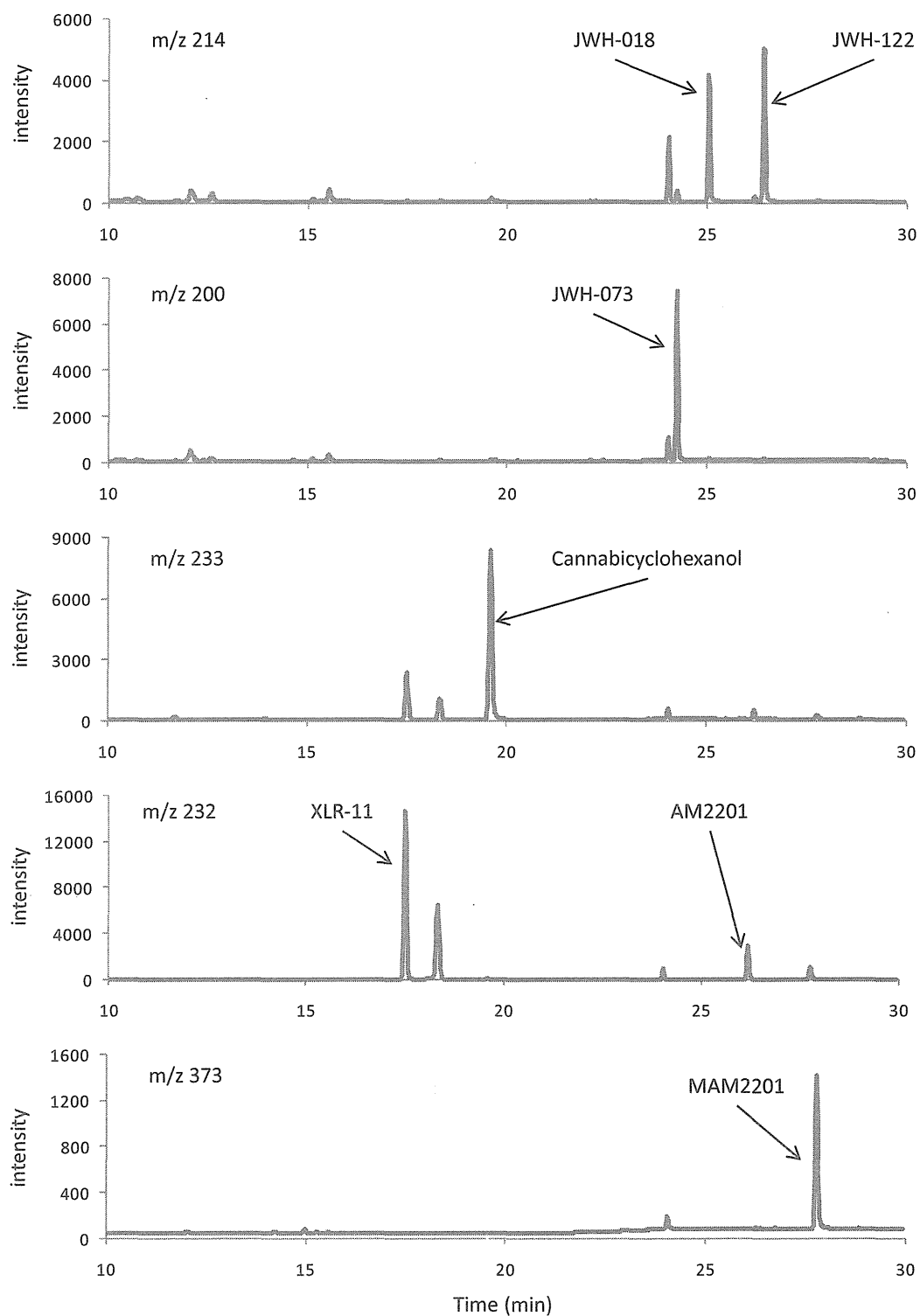


図5 合成カンナビノイド7化合物 SIM 測定用イオンのクロマトグラム  
 (各合成カンナビノイド 250 ng/mL 添加した血清抽出液試料)



表 1

limits of detection (LOD), limits of quantitation (LOQ) and calibration ranges of all analytes.

Analyte	LOD (ng/mL)	LOQ (ng/mL)	Calibration range (ng/mL)	Correlation coefficient
JWH-018	2.5	5.0	5-500	0.997
JWH-122	2.5	5.0	5-500	0.994
JWH-073	5.0	10.0	10-500	0.997
CCH	2.5	5.0	5-500	0.999
XLR-11	2.5	5.0	5-500	0.998
AM2201	2.5	5.0	5-500	0.996
MAM-2201	5.0	10.0	10-500	0.996

分担研究報告書

分担研究課題:法規制薬物の代謝と分析及び鑑別に関する研究

分担研究者:花尻(木倉)瑠理 国立医薬品食品衛生研究所生薬部 室長

研究協力者:津村 ゆかり 近畿厚生局麻薬取締部 鑑定官

－尿中指定薬物の鑑定試験法に関する検討－

研究要旨:2014年4月より指定薬物の使用罪が新設され,尿中の指定薬物を幅広くスクリーニングできる鑑定法が求められている.本研究においては,液体クロマトグラフー飛行時間型質量分析計(LC-TOF-MS)を用いて精密質量から薬物をスクリーニングし,その結果をガスクロマトグラフ質量分析計により確認する一連の方法の構築を試みた.種々の系統から選んだ指定薬物10物質について検討した結果,LC-TOF-MSにおいてピーク高さ6000 count以上,質量誤差10ppm以下,安定同位体比 score 40以上の条件を設定することで,尿中薬物濃度として2.5~50 ng/mLの検出下限値を得ることができた.ボランティア尿3検体を測定した結果,この条件において得られる尿成分由来の擬陽性ピーク(一般的な尿成分と考えられるものを除く)の数は3~10本であり,LCにおける保持時間及びGC-MSによる確認試験で陽性の疑いを排除できる数に留まった.本法は尿中指定薬物のスクリーニング分析に適用可能であると考えられた.

研究協力者

城 克己 近畿厚生局麻薬取締部

厚生労働技官

A. 研究目的

危険ドラッグ問題の深刻化に対応するため,2014年4月より「医薬品,医療機器等の品質,有効性及び安全性の確保等に関する法律(略称:医薬品医療機器法,旧薬事法)」の指定薬物について使用罪が新設された.使用罪の立証のためには,通常,被疑者の尿から当該薬物が検出されるか否かを問う鑑定が囑託される.被疑者が使用したと疑われる薬物が判明している場合は,対象薬物を特定しての鑑定囑託となる.しかし,被疑者が使用した危険ドラッグが全て消費されている場合や,押収品以外の危険ドラッグを使用した疑いがある場合等,ターゲットとすべき指定薬物を限定できない事例がある.このため,尿中の

指定薬物を幅広くスクリーニングできる試験法が求められている.

2015年1月5日現在,医薬品医療機器法の指定薬物成分は1437物質にのぼり,この中には分析用標準品が入手困難なものが多数含まれている.ガスクロマトグラフィー質量分析(GC-MS)や高速液体クロマトグラフィー質量分析(LC-MS)を利用する鑑定では保持時間及びマススペクトルを手がかりに物質の同定を行うため,標準品が不可欠である.

一方,飛行時間型質量分析計(TOF-MS)は精密質量の測定によって高い精度で組成式の予測が可能であり,分子式が明らかな物質であれば,標準品が無くてもスクリーニング分析が可能である.Guale<sup>1)</sup>らはLC-TOF-MSを用いて血液及び尿中の幅広い危険ドラッグ成分(各20 ng/mL)をスクリーニングする分析法を報告している.また,Sundström<sup>2)</sup>らはLC-TOF-MSを用いて標準品の

ないものも含む 277 物質を尿からスクリーニングする分析法を報告し、0.2~60 ng/mL のカットオフレベルを達成したとしている。ただしこれらの報告は保持時間が既知の物質を主な対象としており、保持時間による絞り込みがスクリーニング手順の重要な要素となっている。保持時間未知の物質について LC-TOF-MS がどの程度有効であるかは示されていない。

そこで、本研究においては、保持時間情報を用いずに精密質量のみで尿中の指定薬物をスクリーニングする方法を検討した。対象とした指定薬物は、尿から未変化体の検出例が報告されていないナフトイルインドール類<sup>3,4)</sup>である包括指定の合成カンナビノイド 770 物質及び同様に尿からの検出例がほとんどない亜硝酸エステル類<sup>5,6)</sup> 物質を除く指定薬物(2015年1月5日時点)661 物質である。分析手順は、まず、尿の除タンパクのみを行う簡単な前処理の後に LC-TOF-MS を行い、検出された物質の精密質量から指定薬物に該当するものを検索することとした。その後に尿をアルカリ性の条件で抽出して GC-MS を行い、LC-TOF-MS で検出された指定薬物の有無を確認することとした。

検討の結果、実用可能なスクリーニング手順を構築できたので報告する。

## B. 研究方法

### 1. 指定薬物標準品

Cayman Chemical 社(米国ミシガン州 Ann Arbor 市)製。5-MeO-MIPT は遊離塩基、その他は塩酸塩。本文中には各標準品としての濃度及び添加量を記載した。

### 2. 試薬

メタノール、アセトニトリル(抽出用)、蒸留水(抽出用):HPLC 用

酢酸エチル、*n*-ヘキサン、クロロホルム、イソプロパノール、無機試薬:試薬特級

アンモニア水:25%、試薬一級

アセトニトリル(移動相用)、蒸留水(移動相

用):LC-MS 用

### 3. 試料

ボランティア 3 名から提供された尿

### 4. 試料液の調製方法

LC-TOF-MS 用:尿 200  $\mu$ L にアセトニトリル 800  $\mu$ L を加え、ボルテックスミキサーで攪拌した後、遠心分離(2500 rpm, 5 min)して上澄を採取した。

GC 及び GC-MS 用:尿 5~50 mL にアンモニア水を加えて pH を 9~10 に調整し、尿 5 mL につき塩化ナトリウム 0.6 g 及び酢酸エチル-ヘキサン混液(1:1)10 mL を加えて振とう抽出し、有機層を採取して炭酸カリウムで脱水した。これを窒素気流で濃縮して 1 mL 以下にした後、メスフラスコを使用して酢酸エチル-ヘキサン混液(1:1)を加えて 1 mL に定容した。より高い濃縮率を得る場合には、濃縮乾固後に 200  $\mu$ L の酢酸エチル-ヘキサン混液(1:1)を加えた。

### 5. 高速液体クロマトグラフィー質量分析条件

装置:Agilent 社 Infinity 1290(LC)及び 6530 (TOF-MS)

カラム:ZORBAX Eclipse Plus C18(2.1 mm ID $\times$ 100 mm, 1.8 $\mu$ m)

移動相:A 0.1%ギ酸+10 mM ギ酸アンモニウム, B アセトニトリル

プログラム:A:B =90:10(0 min)-0:100(30 min), ポストラン 90:10(6 min)

流速:0.2 mL/min

カラム温度:40 $^{\circ}$ C

注入量:1 $\mu$ L

イオン化モード:デュアル AJS ESI

スキャン:ポジティブイオンスキャン, m/z 50-1000

乾燥ガス:350 $^{\circ}$ C, 10 L/min

ネブライザ:50 psi

シーガス:400 $^{\circ}$ C, 12 L/min

Vcap:3500 V

ノズル:0 V

フラグメンタ:120 V

スキマ:65 V

オクタポール RF ピーク:750 V

データ解析ソフト:MassHunter Ver. B.06.00

#### Service Pack 1

ピーク検出下限:6000 count に設定

質量誤差の計算:各物質の質量誤差を次の計算式で算出した.

質量誤差 = (複数のイオンの質量実測値から自動計算された質量 - 理論的質量) / 理論的質量

ただし「理論的質量」とは、分子式から計算したモノアイソトピック質量

安定同位体比一致度 score の計算:次の重み付けにより自動計算した.

Mass score 100

Isotope abundance score 60

Isotope spacing score 50

#### 6. ガスクロマトグラフィー条件

装置:Agilent 社 7890A

カラム:DB-5MS (30 m x 0.25 mm i.d., 膜厚 0.25 μm, Agilent 社製)

キャリアガス:ヘリウム

流速:1.9 mL/min

カラム温度:100°C(1 min hold) - 10°C/min - 325°C(0 min hold)

検出器:水素炎イオン化検出器

検出器温度:300°C

空気流量:450 mL/min

水素流量:40 mL/min

メイクアップガス:窒素 50 mL/min

注入口温度:280°C

注入方法:スプリット (20:1)

注入量:1 μL

#### 7. ガスクロマトグラフィー質量分析条件

装置:Agilent 社 7890A 及び 5975C

カラム:Agilent 社 DB-5MS (30 m x 0.25 mm i.d., 膜厚 0.25 μm)

キャリアガス:ヘリウム

流速:1.9122 mL/ml(初期実測), コンスタントプ

レッシュャーモード, 圧力 20.177 psi (初期実測)

カラム温度:100°C(1 min hold) - 10°C/min - 325°C(10 min hold)

コカインの保持時間 16.169 分にリテンションタイムロッキング

イオン源温度:230°C

四重極温度:150°C

注入口温度:250°C

注入方法:スプリット (40:1)

注入量:1 μL

スキャン範囲:m/z 40-620

スキャン速度:1.3 scan/sec

#### 8. 質量誤差・回収率等の検討

LC-TOF-MS:標準溶液及び尿中の各物質の質量誤差等の測定のために、薬物のアセトニトリル溶液及び尿・蒸留水・アセトニトリルを混合して、尿または水とアセトニトリルとを 2:8 の比率で含む溶液を調製した.

GC 及び GC-MS:至適条件の検討のために、リン酸二水素ナトリウム, リン酸, 炭酸ナトリウム, 炭酸水素ナトリウム, 水酸化ナトリウムを使用して pH8~11 の水溶液を調製した. これらの水溶液 1 mL に対し指定薬物の混合メタノール溶液 (200 μg/mL) 50 μL を加え, 種々の溶媒 1.5 mL で抽出した.

尿からの抽出効率の検討のため, 尿 25 mL または 5 mL に指定薬物の混合メタノール溶液 (200 μg/mL) 50 μL を加え, 4に示した方法で試料溶液を調製した. (尿中濃度として 0.4 及び 2.0 μg/mL)

(倫理面の配慮)

本研究は, 国立医薬品食品衛生研究所研究倫理審査委員会の承認を経て, 各委員会の定める規定に則り遵守すべき規準に従って実施した.

#### C. 研究結果

##### 1. 研究に用いた物質の概要及び保持時間

本研究で用いた 10 物質の分類・名称等を表 1 に示した. また, 各物質の LC 及び GC における