

10. 乱用薬物の多種多様化に対応した 違法ドラッグの高感度分析法の開発

○熊坂謙一（神奈川県衛生研究所）

【緒言】

違法ドラッグによる事件及び健康被害の多発が大きな社会問題となっている。警察庁の発表によれば、平成 25 年度上半期の脱法ドラッグに係る検挙件数が前年同期比で大きく増加しており¹⁾、また、平成 24 年度厚生労働科学研究の報告書²⁾によると、精神科医療施設への通院もしくは入院した主たる原因薬物として脱法ドラッグが 2 番目に大きな割合を占めていることが示されている。このような違法ドラッグの蔓延実態への対策として、流通する違法ドラッグ製品の含有薬物を分析してその実態を明らかにするとともに、違法薬物を含有する製品の流通を阻止する必要がある。しかし、検出される乱用薬物は多種多様化しており、また、微量の法規制薬物が検出された事例も報告されている。そのため、汎用的な ODS カラムを用いる HPLC 法及びスキャン測定による LC-MS 法のみでは、分析の迅速性、類似した薬物成分の分離及び検出感度が不十分となる懸念がある。そのため、HPLC カラムとしてペンタフルオロフェニル（以下「PFP」という）カラムを用いて、PDA 検出器を接続した超高速液体クロマトグラフィー法（以下「UPLC-PDA 法」という）及び SRM (Selected Reaction Monitoring) 手法を用いた液体クロマトグラフィー—タンデム質量分析法（以下「LC-MSMS 法」という）による分析法を検討した。

【研究方法】

1 対象薬物

近年の薬事法指定薬物、花尻らの報告³⁾及び各都道府県の検査結果等を踏まえ、合成カンナビノイド系薬物およびカチノン系薬物を中心に選定し、分析法検討の対象薬物とした。

2 試薬及び試液

乱用薬物の標準品として、主に米国 Cayman Chemical Company 製等の試薬を使用した。アセトニトリルは和光純薬製 HPLC 用または LC/MS 用を使用し、りん酸およびメタノールは和光純薬製特級、ギ酸アンモニウムはシグマアルドリッチ製を使用した。

3 標準溶液等の調製

標準品を適宜メタノールに溶解・希釈して調製した。各薬物の濃度を UPLC-PDA 法の検討では 10 $\mu\text{g/mL}$ とし、LC-MSMS 法では 100 ng/mL とした。SRM 条件検討では、各薬物メタノール溶液を 10 mM ギ酸アンモニウム/アセトニトリル混液(1:1)を用いて希釈し、最終濃度を 250 ng/mL とした溶液を使用した。なお、必要に応じて適宜濃度を調整した。

4 使用した分析機器および機器条件等

(1)UPLC-PDA 法

機器：ACQUITY UPLC

検出器：ACQUITY UPLC PDA e λ 検出器（測定範囲：200～400 nm、モニター波長：210 nm）
カラム：ACQUITY UPLC HSS PFP（粒径 1.8 μ m、2.1 mm \times 100 mm、日本ウォーターズ）
移動相：A 液：0.05%りん酸水溶液、B 液：アセトニトリル
グラジエント条件：A 液/B 液(95:5)で1分間保持し、その後25分間で(45:55)に直線的に変化させた後、9分間保持する。
流量：0.45 mL/min、カラム温度：40 $^{\circ}$ C、注入量：1 μ L

(2)LC-MSMS 法

機器：Qtrap LC/MS/MS system および HP1100 HPLC
カラム：SunShell PFP（粒径 2.6 μ m、2.1 mm \times 100 mm、クロマニックテクノロジーズ）
移動相：A 液：10mM ぎ酸アンモニウム、B 液：アセトニトリル
送液条件① (HILIC elution)：A 液/B 液 (5 : 95) にて2分間保持し、その後10分間で(15:85)、さらに12分間で(39 : 61) に直線的に変化させた後、2分間保持する。(流量：0.30 mL/min)
送液条件② (Isocratic elution)：A 液/B 液(55:45) (流量：0.25 mL/min)
イオン化：エレクトロスプレーイオン化法
イオン化条件：脱溶媒温度 500 $^{\circ}$ C、印加電圧 5000 V、極性：ポジティブ
SRM パラメーターの設定及び解析には、Analyst ソフトウェア (Ver. 1.4.1) を使用した。

5 模擬試料溶液の調製

市販のハーブティ5種類の各1gに、それぞれメタノール10mLを加えて5分間超音波により抽出し、遠心分離後の上澄み液を20倍希釈し、さらにフィルターろ過した液を模擬試料溶液とした。その模擬試料溶液について、合成カンナビノイド系薬物7種類(JWH-019、XLR-11、MAM2201、EAM2201、AKB48 N-(5-fluoropentyl) analog、JWH-007 及び AB-FUBINACA) 及びカチノン系薬物等8種類(pentedrone、MDPV、3,4-dimethylmethcathinone、4-fluoroamphetamine、 α -PVP、 α -PBP、3',4'-MDPBP 及び N-ethylbuphedrone)を最終濃度がUPLC-PDA法分析用として2.5 μ g/mL、LC-MSMS法分析用として100 ng/mLになるようにそれぞれ添加し、薬物添加模擬試料溶液とした。

【結果及び考察】

1 UPLC-PDA 法による PFP カラムを用いた乱用薬物の高速一斉分析条件の検討

違法ドラッグ製品中の薬物を特定する際、構造異性体の存在は留意すべき懸念事項の一つである。構造異性体は化学的性質が類似しているものの、その法規制が異なる場合も多い。そのため、ODS カラム以外の異性体分離手段として、構造異性体の分離に優れる PFP カラムを用いた逆相分離における一斉分析条件の確立を目標に検討を行った。

検出器として PDA 検出器を使用したことから、移動相のグラジエント送液条件の検討では、アセトニトリル及びりん酸水溶液の使用により、ベースラインのドリフトを抑え、十分な検出感度を確保した。その送液パターンを種々検討した結果、良好な分離が得られた送液パターンにおける分析対象薬物成分の保持時間を表に示した。

表 UPLC-PDA法及びLC-MSMS法における各薬物のピーク保持時間並びにSRMパラメーター

Compound	UPLC			LC-MSMS							
	Rt.	Rt.①*	Rt.②**	Q1	Q3	Dwell	DP	EP	CEP	CE	CXP
indan-2-amine	2.49	15.37	—	134	91	20	41	9.0	8	39	4
4-fluoroamphetamine (4FMP)	4.45	14.81	—	154	109	20	31	7.0	10	23	4
4-fluoromethamphetamine	5.51	18.69	—	168	109	20	26	9.0	8	27	4
N,N-dimethylcathinone	3.86	7.71	—	178	105	20	41	7.0	8	29	4
ethcathinone	4.05	10.07	—	178	132	20	36	6.5	8	23	4
buphedrone	4.68	10.17	—	178	131	20	26	12.0	12	29	4
3-fluoromethcathinone	3.92	9.44	—	182	149	20	31	7.5	10	25	4
4-methylethcathinone	6.61	11.29	—	192	144	20	31	8.5	10	35	4
3-methylethcathinone	6.70	10.79	—	192	144	20	31	8.5	10	35	4
2-methylethcathinone	6.39	10.43	—	192	144	20	31	8.5	10	35	4
4-ethylmethcathinone	7.97	11.33	—	192	144	20	31	8.5	10	35	4
4-methylbuphedrone	7.32	10.08	—	192	144	20	31	8.5	10	35	4
3-methylbuphedrone	7.40	9.95	—	192	144	20	31	8.5	10	35	4
N-ethylbuphedrone	5.61	9.00	—	192	130	20	31	8.5	16	31	4
N-ethyl-N-methylcathinone	4.80	7.08	—	192	105	20	41	7.5	10	25	4
3,4-dimethylmethcathinone	8.05	12.86	—	192	159	20	26	10.5	8	27	4
2,3-dimethylmethcathinone	7.53	10.44	—	192	159	20	26	10.5	8	27	4
pentedrone	6.86	8.37	—	192	132	20	31	12.0	8	25	4
methedrone	4.98	13.06	—	194	161	20	36	9.0	8	29	4
α-PPP	5.11	12.97	—	204	105	20	41	10.0	10	29	4
4-ethylethcathinone	9.18	11.35	—	206	144	20	31	8.0	10	41	4
4-methyl-N-methylbuphedrone	7.89	5.96	—	206	105	20	41	9.0	16	31	4
2C-E	10.45	17.94	—	210	178	20	26	12.0	10	19	4
4'-methyl-PPP	7.78	15.45	—	218	119	20	46	8.5	8	31	4
α-PBP	6.46	11.27	—	218	91	20	51	7.5	10	35	4
butylone	5.89	10.43	—	222	174	20	31	8.5	10	23	4
bk-MDEA	5.27	10.64	—	222	174	20	31	8.5	10	23	4
α-PVP	8.83	10.72	—	232	91	20	46	7.0	10	31	4
pentylone	8.10	9.08	—	236	188	20	31	12.0	10	27	4
eutylone	6.87	9.31	—	236	188	20	31	12.0	10	27	4
methoxetamine	7.89	8.36	—	248	121	20	21	11.0	12	37	4
5-IAI	7.48	13.89	—	260	116	20	36	11.5	10	31	4
3,'4'-MD-PBP	7.71	12.99	—	262	112	20	41	12.0	14	33	4
MDPV	10.03	11.84	—	276	135	20	51	8.0	14	37	4
2,3-MDPV	10.10	12.57	—	276	135	20	51	8.0	14	37	4
naphyrone	16.53	12.24	—	282	141	20	46	11.5	14	39	4
AH7921	14.32	16.16	—	329	173	20	56	8.0	14	43	4
25I-NBOMe	20.07	19.98	—	428	91	20	46	10.5	18	69	4
UR-144	26.95	—	18.06	312	125	20	56	10.5	14	29	4
RCS-4 2-methoxy isomer	23.41	—	7.09	322	135	20	51	12.0	14	27	4
RCS-4 3-methoxy isomer	25.10	—	10.37	322	135	20	51	12.0	14	27	4
RCS-4	24.94	—	10.23	322	135	20	51	12.0	14	27	4
JWH-015	23.81	—	8.32	328	155	20	56	8.0	12	31	4
JWH-073	25.22	—	11.48	328	155	20	56	8.0	12	31	4
XLR-11	25.61	—	12.41	330	125	20	66	10.5	24	33	4
JWH-203	25.68	—	12.98	340	125	20	61	8.5	12	45	4
JWH-022	25.48	—	12.04	340	155	20	51	12.0	12	35	4
JWH-016	25.09	—	11.41	342	155	20	76	4.5	16	35	4
JWH-018	26.33	—	15.23	342	155	20	76	4.5	16	35	4
JWH-122 N-(4-pentenyl) analog	26.45	—	14.71	354	169	20	66	6.5	14	37	4
JWH-122	27.30	—	19.60	356	169	20	66	10.0	14	29	4
JWH-007	26.25	—	14.14	356	155	20	61	9.0	16	39	4
JWH-019	27.42	—	20.39	356	155	20	61	9.0	16	39	4
AM-2201	25.03	—	10.50	360	155	20	51	11.0	14	37	4
APICA	25.89	—	14.05	365	135	20	86	11.5	14	39	4
APINACA (AKB48)	26.47	—	16.86	366	135	20	46	9.0	14	33	4
AB-FUBINACA	17.70	—	2.46	369	109	20	26	6.5	14	75	4
JWH-020	28.66	—	27.69	370	155	20	81	10.0	16	31	4
JWH-081	27.22	—	19.02	372	185	20	81	8.0	16	33	4
MAM-2201	25.99	—	13.22	374	169	20	71	9.0	14	37	4
STS-135	24.58	—	9.28	383	135	20	81	10.5	14	39	4
AKB48 N-(5-fluoropentyl) analog	25.09	—	10.87	384	135	20	41	12.0	14	31	4
EAM-2201	26.72	—	15.63	388	183	20	61	12.0	16	39	4

*Rt.①; HILIC elution, **Rt.②; Isocratic elution

2 LC-MSMS 法による PFP カラムを用いた乱用薬物の分析条件の検討

LC-MSMS 法では、分析対象が予め標準溶液によりチャンネルを作成した薬物に限定されるが、第一段階目の迅速スクリーニングを目的として SRM 法による高感度分析法を検討した。また、カラムとして高速高分離を念頭にコアシェルタイプの充填剤カラムを使用した。

移動相のグラジエント送液条件の検討では、UPLC 法と同様に一斉分析条件を検討したが、薬物骨格構造によってピーク保持時間の傾向が大きく異なったことから、合成カンナビノイド系はアイソクラティック送液とし、カチノン及びフェネチルアミン系等の薬物は HILIC 送液とした。その結果、両分析条件における各薬物成分の代表的なピーク保持時間及び SRM パラメーターは表に示した通りとなった。なお、両送液条件ともピーク保持時間が若干変動しやすいため、今後、移動相条件を改善する必要があると考えられた。また、検出感度は検討対象とした全薬物標準溶液 100 ng/mL 濃度にて検出可能であり、従来のスキャン測定の実感度と比較してより高感度に分析することが可能となった。

3 模擬試料溶液の検討

市販ハーブティ 5 種類のメタノール抽出液では、UPLC-PDA 法ではいずれも複数の妨害ピークが認められており、これらは薬物ピークの PDA スペクトル検索に支障をきたすものであった。しかし、SRM 手法による LC-MSMS 法では、UPLC-PDA 法にて検出された試料由来の妨害ピークは見られず、添加した薬物成分を特定することが可能であった。図に LC-MSMS 法により分析を行った 1 例を示す。

【結語】

違法ドラッグ製品に含有される薬物は法規制とのいわゆる“イタチゴッコ”が続いており、指定される指定薬物の数について、今後も増加の一途をたどることが想定される。今後の違法ドラッグの分析法を考えるに当たり、多くの場合、異性体の構造によって法規制が異なる現状を考慮し、その分離確認を強固にすること及び微量含有薬物にも対応する高感度分析手法を確立しておくことが、指定薬物等の規制薬物検査の更なる信頼性向上につながると考えられる。本研究によって検討した分析条件を基に、今後も薬物の分析データを追加・拡充することによって、より迅速かつ信頼性が高い違法ドラッグの分析を行い、更なる薬物乱用の防止に寄与できるものと考えている。

【参考文献】

- 1) 警察庁刑事局組織犯罪対策部薬物銃器対策課，平成 25 年度上半期の薬物・銃器情勢（暫定値），平成 25 年 9 月
- 2) 全国の精神科医療施設における薬物関連精神疾患の実態調査，平成 24 年度厚生労働科学研究費補助金（医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業）分担研究報告書（研究分担者 松本俊彦）
- 3) 花尻（木倉）瑠理ら，違法ドラッグを取り巻く国内外における現状と規制について，薬学雑誌，133，31-40（2013）

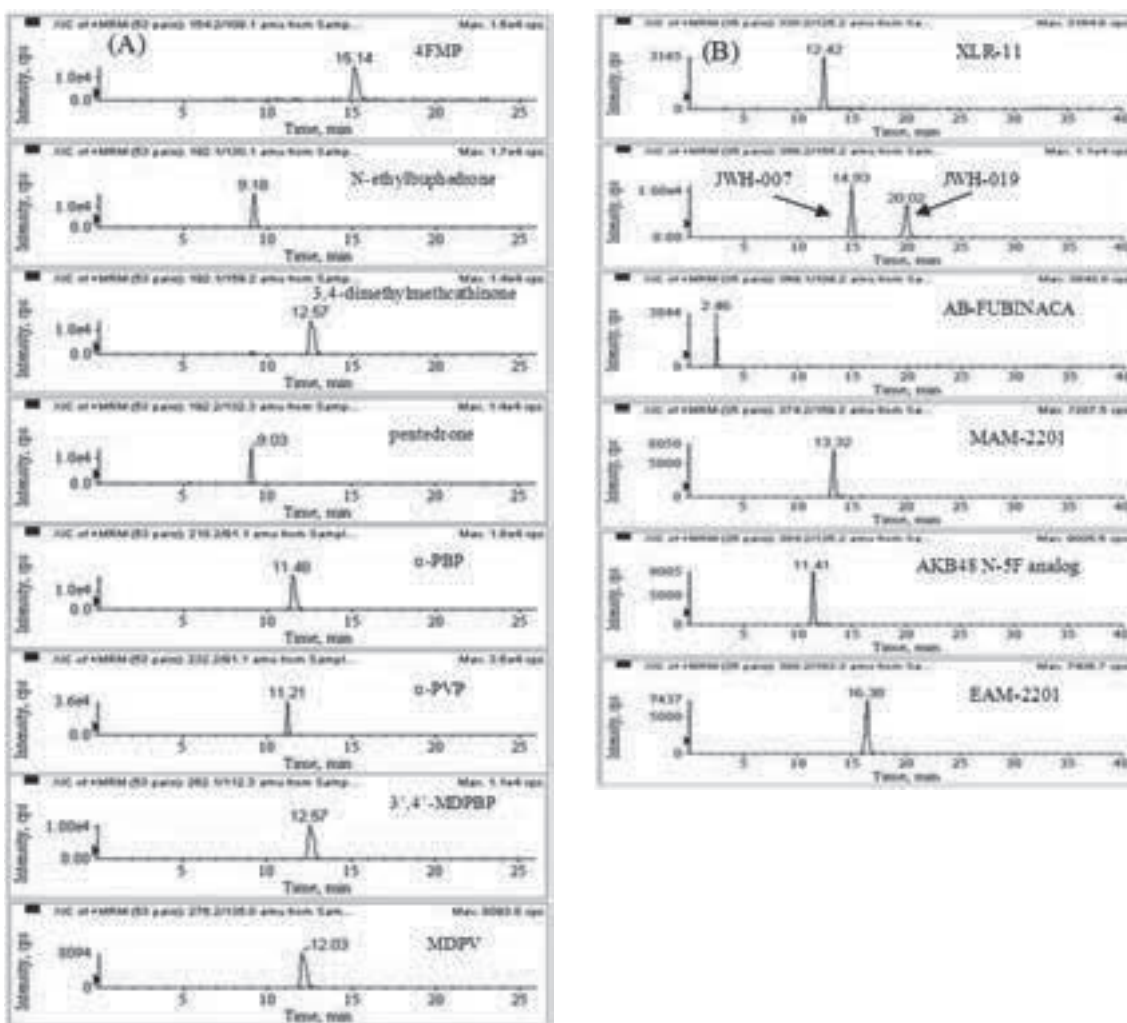


図 薬物添加ハーブティ抽出液のSRMクロマトグラム
(A) HILIC elution、(B) Isocratic elution

【経費使用明細】

使用明細	金額(円)
乱用化学物質標準品購入費(合成カンナビノイド、カチノン系薬物等 33 物質)	248, 398
分析用カラム等購入費 (Acquity UPLC HSS PFP カラム、ガードカラム等)	189, 105
有機溶媒等試薬購入費 (アセトニトリル、ギ酸アンモニウム)	35, 243
ガラス器具類購入費 (ガラスバイアル瓶、ガラスインサート)	23, 935
事務費 (振込み手数料 5 回分)	3, 675
合計 (預金利息 51 円含む)	500, 356