

指定薬物の分析法検討

北村雅美, 浅田幸男, 難波順子, 赤木正章, 肥塚加奈江, 吉岡敏行, 花尻 (木倉) 瑠理, 合田幸広

【調査研究】

指定薬物の分析法検討

Studies on Component Analysis for Designated Drugs

北村雅美, 浅田幸男, 難波順子, 赤木正章, 肥塚加奈江*, 吉岡敏行(衛生化学科),
花尻(木倉)瑠理**, 合田幸広**

*真庭保健所, **国立医薬品食品衛生研究所

Masami Kitamura, Yukio Asada, Junko Nanba, Masaaki Akaki,

Kanae Koeduka*, Toshiyuki Yoshioka,

Ruri Kikura-Hanajiri**, Yukihiro Goda**

(Food and Drug Chemical Research Section)

*Maniwa Health Care Center, **National Institute of Health Sciences

要 旨

近年, 指定薬物の化学構造は複雑化しており, 分析においても様々な困難事例が発生している状況である。当センターが標準品を保有しているもののうち, 熱による分解を受けやすいもの等, 分析を行う上で改善が必要なものについて検討を行った結果, 分析が可能となった。分析可能となった A-834735, QUCHIC, 5F-QUPIC, 5F-NNE1, NNE1, α -PHPP 及び MPHP は, 同じ置換基や基本骨格を持つ化合物がすでにいくつも指定薬物となっているため, 今後分析を行っていく上でも有用な知見を得ることができた。

[キーワード: 脱法ドラッグ, 危険ドラッグ, 液体クロマトグラフ質量分析計, ガスクロマトグラフ質量分析計]

[Key words: Designated Drugs, Illegal Drug, Risk Drug, LC/MS, GC/MS]

1 はじめに

近年, 脱法ハーブ等と称して流通している危険ドラッグによる薬物乱用が全国的に拡大し, 大きな社会問題となっている。平成 18 年の薬事法改正により, 幻覚等の作用を有し, 使用した場合に健康被害が発生するおそれのあるものが指定薬物として指定され, 販売等が禁止された。この指定薬物には当初 31 物質 1 植物が指定されたが, 平成 27 年 5 月現在では 2,297 物質が指定薬物として指定されている。危険ドラッグには, 未規制の薬物に加え, この指定薬物が含有されている可能性がある。また, 平成 26 年 4 月 1 日からは医療や研究目的以外での指定薬物の所持, 購入, 譲り受け及び使用の禁止に関する規定が加わり, その後も更なる法改正で危険ドラッグ製品の製造, 販売, 広告等の禁止等が規定され, 規制の強化が進んでいる状況である。

岡山県内においても危険ドラッグが原因と疑われる健康被害が発生しており¹⁾, その対策が急務になっていることから, 指定薬物の中でも, 特に分析において工夫が必要となるものについての分析法を検討したところ, A-834735, QUCHIC, 5F-QUPIC, 5F-NNE1, NNE1, α -PHPP, MPHP の分析法について若干の知見を得たので報告する。

2 実験方法

2.1 分析対象とした指定薬物

標準品として使用した AM2232, AM1220, JWH-200, QUCHIC, 5F-QUPIC, NNE1, 5F-NNE1 及び MPHP は Cayman Chemical 製を用いた。A-834735 及び α -PHPP は国立医薬品食品衛生研究所からの分与品を用いた。

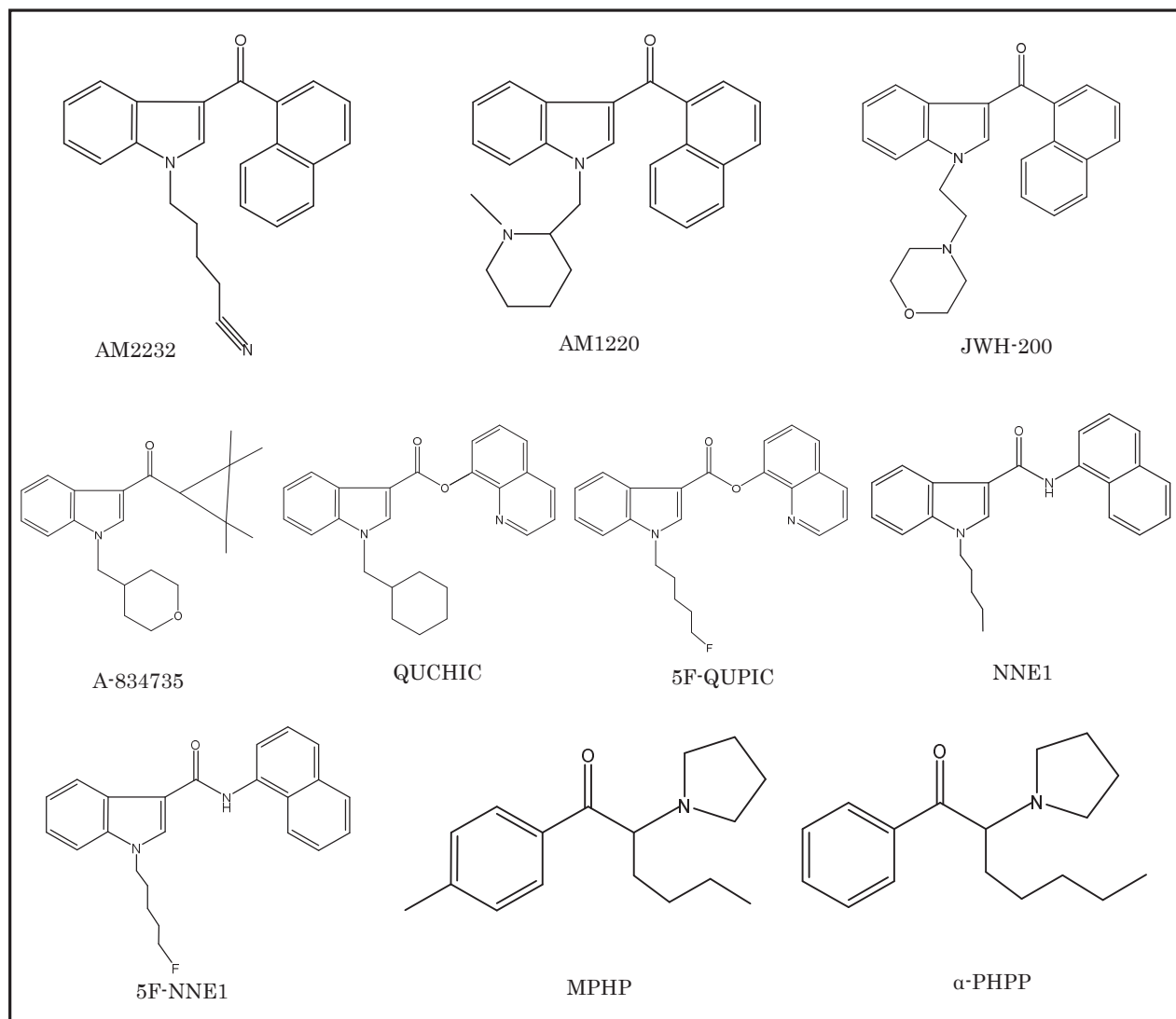


図1 標準品の構造式

図1にこれらの構造を示す。

メタノール、アセトニトリル及びギ酸はLC/MS用を、ギ酸アンモニウムは特級を、ジメチルスルホキシドはダイオキシン類分析用を用いた(全て和光純薬工業製)。メンブランフィルターはMILLIPORE製のMILLEX-LCR(孔径0.45 μ m)を用いた。

2.2 標準溶液の調製

各標準品はメタノール又はジメチルスルホキシドに溶解させ、メタノール又はアセトニトリルで適宜希釈し調製した。ただしLC/MS分析の検量線作成用に供する溶液は、メタノール：水＝1：1の溶液で適宜希釈した。

2.3 測定条件

2.3.1 スクリーニング(GC/MS)の昇温条件の検討

基本的には通知法²⁾を参考にしているが、当センター

で保有している指定薬物標準品のうち、合成カンナビノイド類であるAM2232、AM1220、JWH-200は高極性の置換基を持ち、他の指定薬物と比較してカラムに強く保持され保持時間が30分付近である(図2)ため、通知法の条件2の昇温条件のうち、310℃へ昇温後、15分間保持するよう変更した。

測定条件を以下に示す。なお、キャリアーガスの流量とモニターイオンの質量範囲は適宜変更した。

2.3.2 GC/MS 定性分析

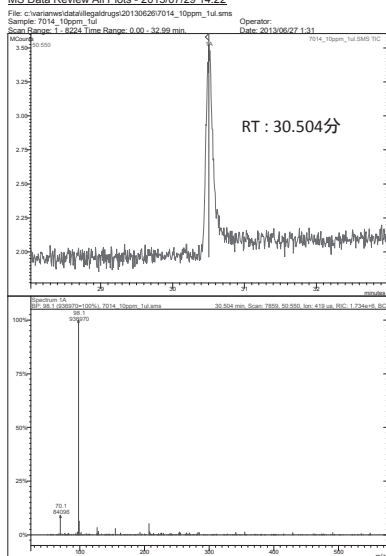
使用機種 GC：Varian 製 450GC，

MSD：Varian 製 240MS(イオントラップ型)

<測定条件1>(MPHP及び α -PHPP)

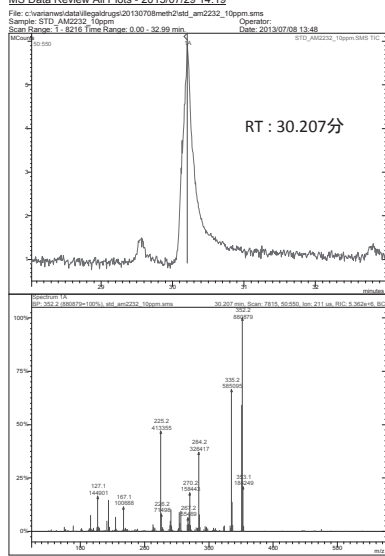
カラム：Agilent 製 DB-5MS+DS(0.25mmi.d.×30m，

MS Data Review All Plots - 2015/07/29 14:22



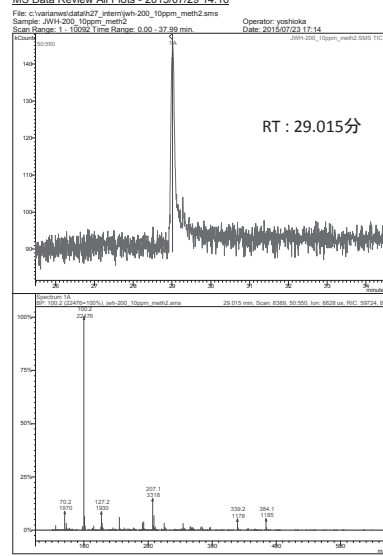
AM1220のクロマトグラムとマススペクトル

MS Data Review All Plots - 2015/07/29 14:19



AM2232のクロマトグラムとマススペクトル

MS Data Review All Plots - 2015/07/29 14:16



JWH-200のクロマトグラムとマススペクトル

図2 AM1220, AM2232 及び JWH-200 のクロマトグラムとマススペクトル

膜厚 0.25 μ m)³⁾

キャリアーガス：ヘリウム 0.7mL/min

注入口温度：200 $^{\circ}$ C，スプリットレス，

イオン化法：EI法 70eV

昇温条件：80 $^{\circ}$ C (1min)-5 $^{\circ}$ C /min-190 $^{\circ}$ C (15min)-10 $^{\circ}$ C /min-310 $^{\circ}$ C (20min)

<測定条件2>(QUCHIC, 5F-QUPIC, NNE1, 5F-NNE1, A-834735)

カラム：Agilent製 DB-5MS+DS (0.25mm.i.d. \times 30m, 膜厚 0.25 μ m)

キャリアーガス：ヘリウム 1.1mL/min

注入口温度：250 $^{\circ}$ C，スプリットレス，

イオン化法：EI法 70eV

昇温条件：200 $^{\circ}$ C (1min)-5 $^{\circ}$ C /min-310 $^{\circ}$ C (15min hold)⁴⁾

<MSD条件(測定条件1及び2共通)>

Trap Temperature：150 $^{\circ}$ C，

Manifold Temperature：45 $^{\circ}$ C，

TransferLine Temperature：250 $^{\circ}$ C，

Source Temperature：150 $^{\circ}$ C

2.3.3 LC/MS 定量分析

使用機種 HPLC：島津製 LC-20A 高圧グラジエントシステム

MSD：Applied Biosystems 製 API3200

QTrap

<測定条件1>(MPHP及び α -PHPP)

カラム：Waters製 Atlantis T3(2.1 \times 150mm, 5 μ m)

移動相A：10mM ギ酸アンモニウム緩衝液(pH3.0)，

移動相B：アセトニトリル

A:B 90:10(0min) - 80:20(50min) - 30:70(60-75min)

流速 0.2ml/min, カラム温度：40 $^{\circ}$ C, 注入量：5 μ l

<測定条件2>(QUCHIC, 5F-QUPIC, NNE1, 5F-NNE1, A-834735)

カラム：Waters製 XBridge C18(2.1 \times 150mm, 3.5 μ m)

移動相A：0.1% ギ酸, 移動相B: 0.1% ギ酸アセトニトリル/メタノール(60:40)

A:B 50:50(0min) - 10:90(30-35min)

流速 0.3ml/min, カラム温度：40 $^{\circ}$ C, 注入量：5 μ l

<MSD条件(測定条件1及び2共通)>

インターフェース：Turbo V source

測定法：MS/MSモード

イオン化モード：ESI positive mode

イオン源温度：400 $^{\circ}$ C

イオン化電圧：5500V

モニターイオン(表1)

2.4 データベース

分析法を検討するに当たり、GC/MS及びLC/MSのMS/MSスペクトルライブラリデータの拡充を行った。

まず当センターで入手した指定薬物、麻薬及び向精神薬の標準品について、GC/MSでは104成分、LC/MS

表1 モニターイオン

	定量イオン		参照イオン	
A-834735	340.284	>125.100	340.284	>242.200
QUCHIC	385.252	>240.200	385.252	>144.100
5F-QUPIC	377.233	>232.200	377.233	>144.100
5F-NNE1	375.252	>232.100	375.252	>144.100
NNE1	357.206	>214.300	357.206	>144.100
α -PHPP	260.203	>154.400	260.203	>105.000
MPHP	260.220	>140.200	260.220	>189.200
			260.220	>119.100

では34成分の標準溶液を分析し、各成分の保持時間、マススペクトルに関するデータを収集し、ライブラリーデータベースを作成した。加えて、GC/MSではAgilent Technologiesが配布しているMass Spectral Library、試薬メーカーであるCayman Chemicalがホームページ上で提供しているCayman Spectral Library及びScientific Working Group for the Analysis of Seized Drugs (SWGDRUG)がホームページ上で提供しているSWGDRUG MS Libraryを入手し、約2,400物質のデータベースの拡充が完了した。また、LC/MSではAB SCIEXが無料で提供しているMS/MSスペクトルライブラリーを入手し、約600物質のデータベースの拡充が完了した。

2.5 検量線

検量線は、2.2で調製した標準原液を等濃度になるよう混合した後、メタノール又はアセトニトリルを用いて順次希釈し、2, 5, 10, 20, 50, 100, 200, 500, 1,000ng/mLの混合標準液を調製し、ピーク面積法により検量線を作成した。

2.6 分析の手順

最初にGC/MSで測定を行い、得られたマススペクトルから2.4で作成したデータベースで検索を行い、化合物を推定した。次に、LC/MS/MSで測定を行い、ライブラリーデータベースや質量数、フラグメントから化合物の構造に関する情報を得る。検体の場合、その後標準品を入手し、LC/MSにて定量を行った。

3 結果および考察

3.1 A-834735

A-834735をGC/MS及びLC/MSで測定した際のクロマトグラムとマススペクトルを図3に示す。対象物質のピークの後にA-834735 degradantと考えられるピー

クが検出され、GC注入口の熱(250℃)で3員環が開裂したものと推察された。LC/MS/MS測定では、A-834735とJWH-203のプリカーサーイオンとプロダクトイオンが一致していたが、リテンションタイムの違いにより分離することが可能であった。

3.2 5F-QUPIC, QUCHIC, 5F-NNE1 及び NNE1

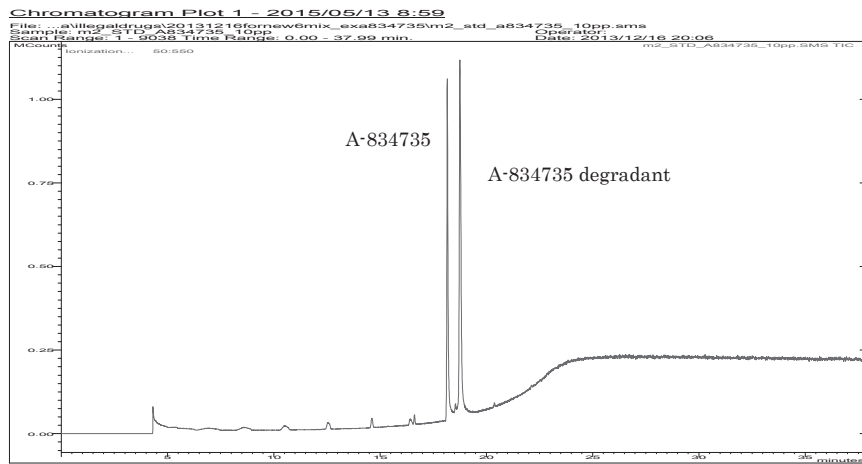
5F-QUPICはGC/MS測定では一部が熱分解することやメタノール溶液では縮合する可能性が指摘されており⁵⁾、ジメチルスルホキシドとアセトニトリルを用いて試料調製を行った。また、同じ基本骨格を持つQUCHICについては、ジメチルスルホキシドで溶解し、アセトニトリルで標準品の調製を行った。その結果、分解を防ぐことができ、同定が可能となった(図4)。

数多く存在する構造異性体のうち5F-QUPIC(5-フルオロペンチル基)の構造異性体である5F-QUPIC N-(2-fluoropentyl) isomer(2-フルオロペンチル基)、5F-NNE1(1-ナフチル基)の構造異性体である5F-NNE1 2'-naphthyl isomer(2-ナフチル基)、NNE1(1-ナフチル基)の構造異性体であるNNE1 2'-naphthyl isomer(2-ナフチル基)、の3つの構造異性体(図5)については標準品が入手できたので、GC/MS及びLC/MS(どちらも測定条件2)でそれぞれ5F-QUPIC、5F-NNE1、NNE1と保持時間を比較した(図6)ところ、GC/MSで2~5分程度、LC/MSで1~2分程度の明確な差異が見られた。その結果、5F-QUPIC(図7)、5F-NNE1(図8)、NNE1(図9)について、同定が可能となった。

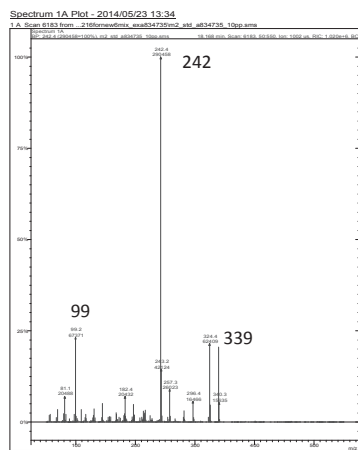
3.3 MPHP 及び α -PHPP

MPHP及び α -PHPPは、GC/MSでは図10に示すとおり、測定条件1で保持時間に1分近くの差異があることから完全に分離できていたが、LC/MSでは測定条件1での保持時間が非常に近接しており、完全に分離する

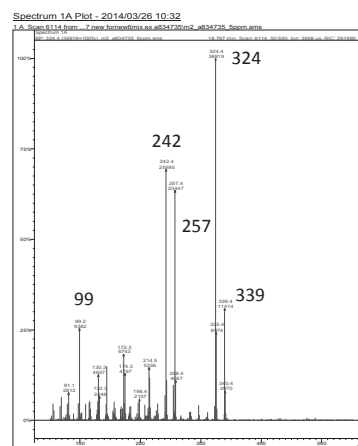
GC/MS Analysis



A-834735のクロマトグラム (TIC)

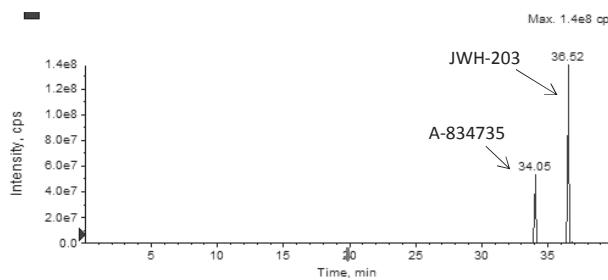


A-834735のマスペクトル

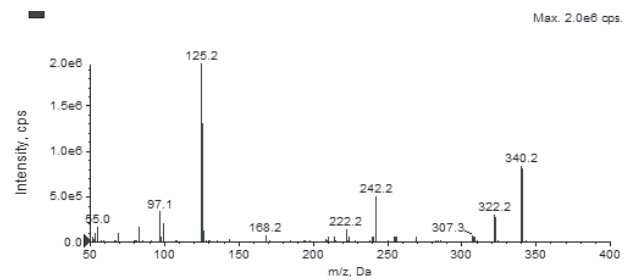


A-834735 degradant のマスペクトル

LC/MS Analysis



混合標準品のMRMで得られたクロマトグラム

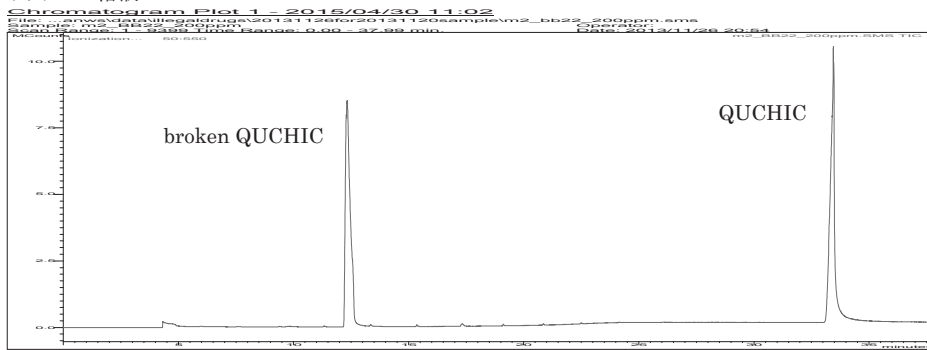


A-834735のマスペクトル

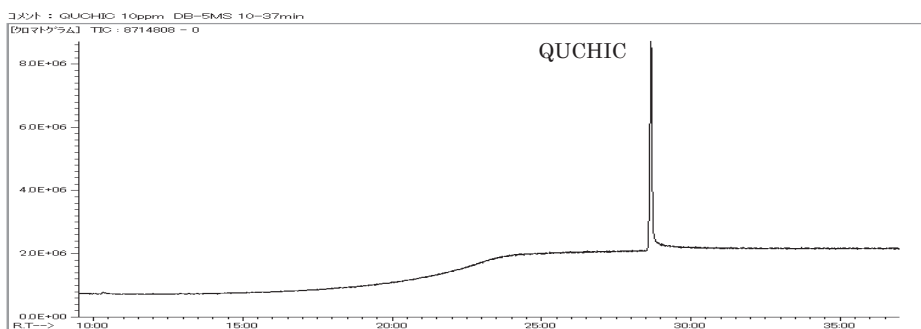
図 3 A-834735

GC/MS Analysis

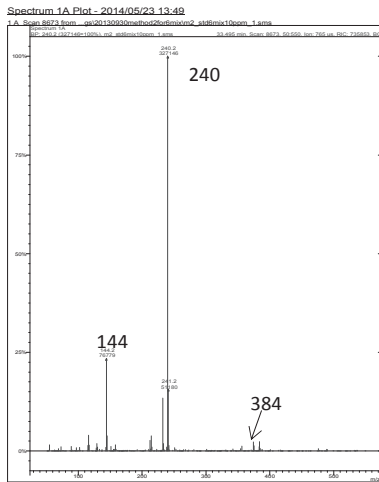
メタノール溶液



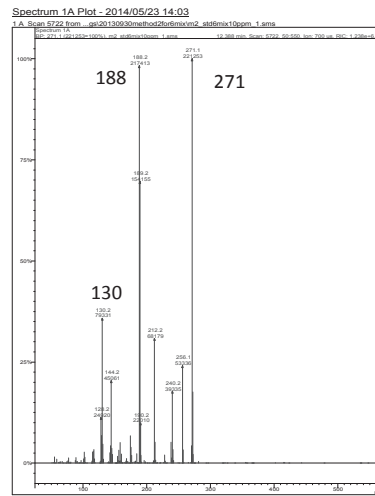
アセトニトリル溶液



QUCHICのクロマトグラム (TIC)

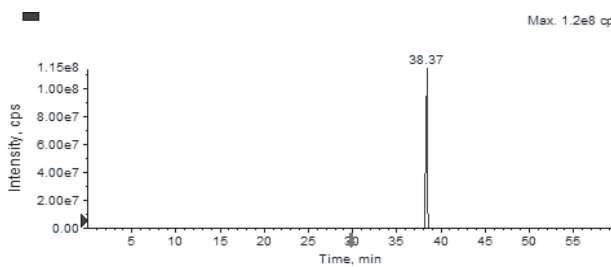


QUCHICのマススペクトル

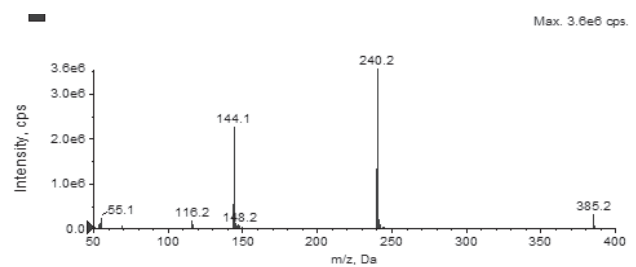


QUCHICの分解物のマススペクトル

LC/MS Analysis



QUCHICのクロマトグラム (TIC)



QUCHICのマススペクトル

図 4 QUCHIC

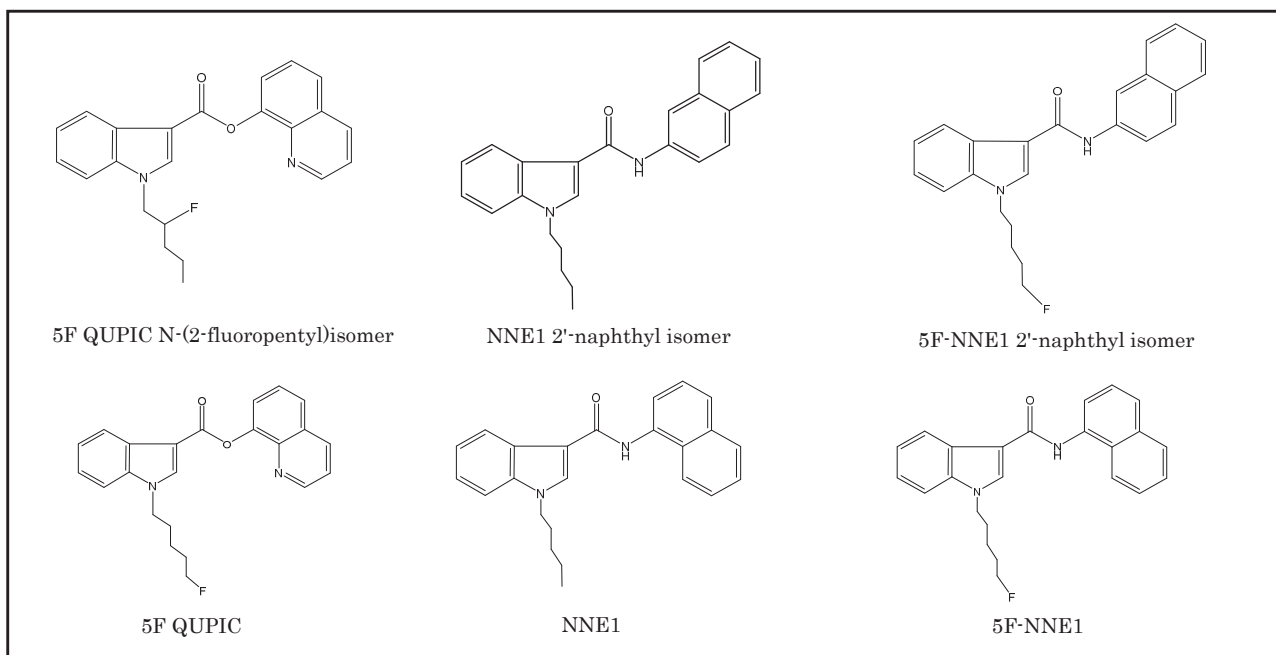


図5 構造異性体の構造式

ことはできなかったので、 m/z 260 をプリカーサーイオンとした MS/MS 測定で個々に特有の m/z 140 及び m/z 154 をプロダクトイオンとして同定を行った。

3.4 検量線

図 11 に示したとおり、全ての検量線について直線性が得られたので、定量が可能となった。

4 まとめ

GC の熱により分解したり、溶媒選択によっては縮合してしまうもの、LC/MS では分離不可能なほど構造的に類似しているものなど、様々な特徴を持った指定薬物について分析法の検討を行った。

新たな指定薬物が指定された直後は、既存の指定薬物の基本骨格や置換基を一部変えた新しい化合物が検出されることが多く、「いたちごっこ」と称される状態が続いていることから、類似した構造を持つ成分を一括して指定薬物とする包括指定制度が導入されたため、指定薬物は 2,000 物質以上となり、構造の解析が複雑化していく傾向にある。特に平成 26 年 1 月 12 日から包括指定されたカチノン系化合物については、GC/MS によるスクリーニングや LC/MS から得られるマススペクトル情報が少ないため、誤認を防ぎ、かつ迅速に化合物の同定を行うためには、今後は TOF/MS 及び NMR による解析が必要になってくると考えられる。

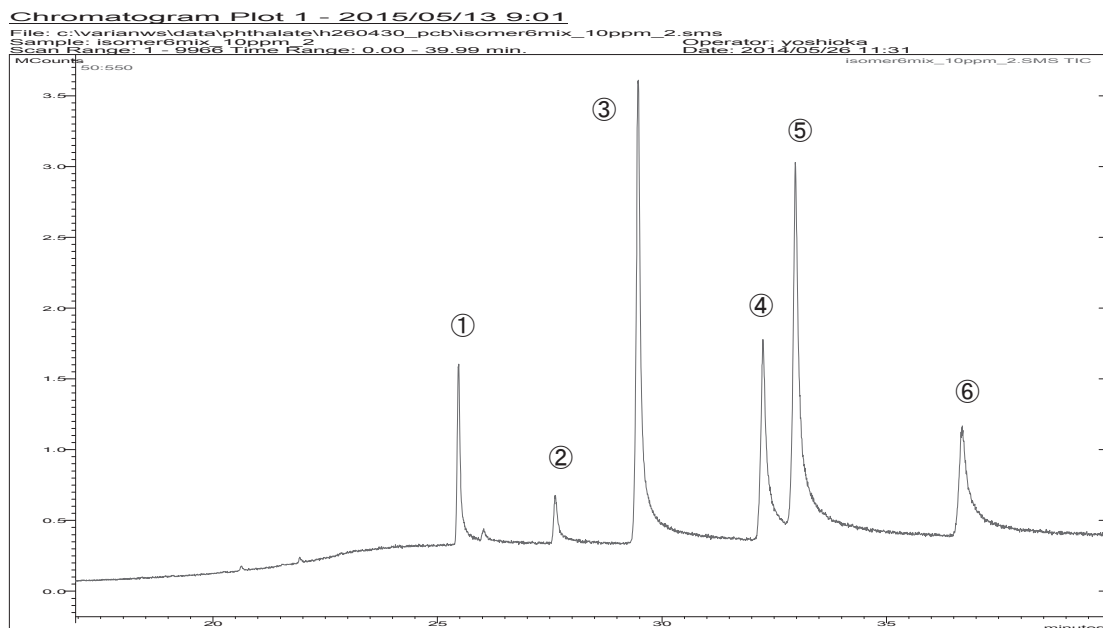
謝 辞

本調査にあたり、当県の視察研修を受け入れていただいた、福岡県保健環境研究所保健科学部生活化学課の関係者の皆様、及びスペクトルデータ等をご提供いただいた、大阪府立公衆衛生研究所衛生化学部薬事指導課の関係者の皆様に深謝いたします。

文 献

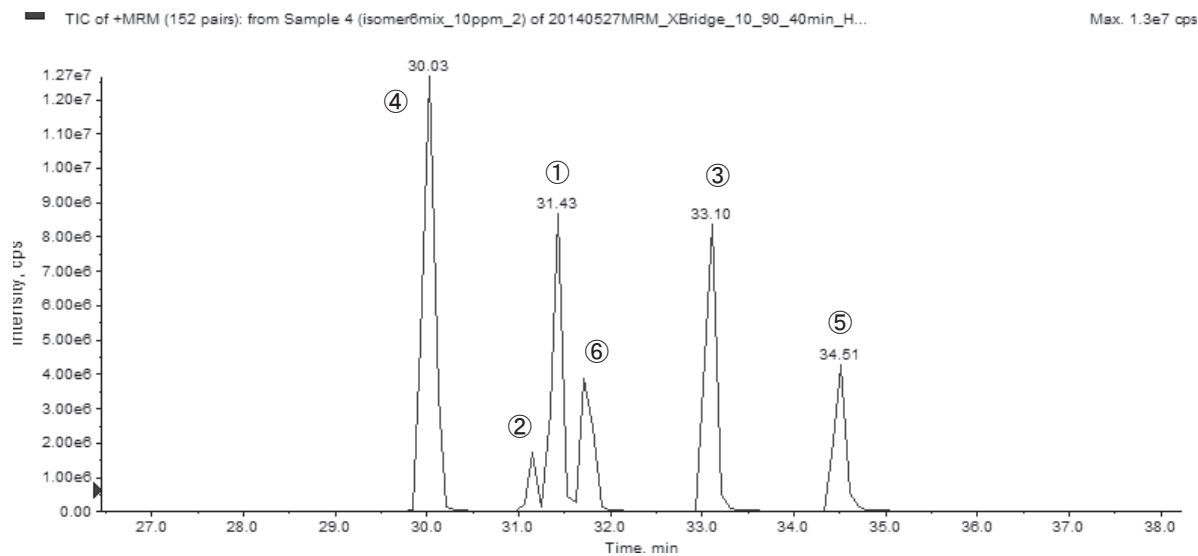
- 1) 朝日新聞：脱法ドラッグ、平成 25 年 3 月 7 日岡山県版記事
- 2) 厚生労働省医薬食品局監視指導・麻薬対策課長通知：指定薬物の測定結果等について、薬食監麻発 0914 第 5 号、平成 22 年 9 月 14 日、2010
- 3) 財津桂、片木宗弘、中西啓子、志摩典明、鎌田寛恵ら：違法ドラッグとして流通している合成カンナビノイド類の分析、法科学技術、16(2)、73-90、2011
- 4) 高橋市長、長谷川貴志、西條雅明、永田知子、花尻(木倉)瑠理、合田幸広：千葉県における違法ドラッグ試験検査について(平成 21 年度)、千葉県衛生研究所年報、58：51-54、2009
- 5) 田上貴臣：違法ドラッグ分析について、平成 25 年度関西広域連合脱法ドラッグ勉強会資料、大阪府立公衆衛生研究所、2013

GC/MS Analysis



指定薬物(5F-QUPIC, 5F-NNE1及びNNE1)とその異性体の混合標準液のクロマトグラム(TIC)

LC/MS Analysis



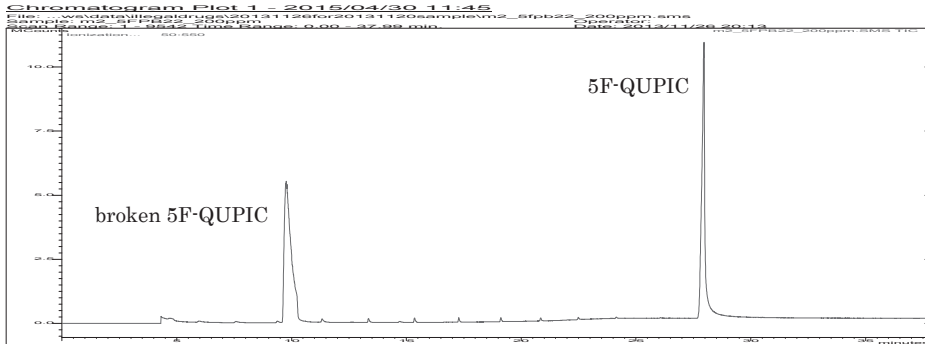
指定薬物(5F-QUPIC, 5F-NNE1及びNNE1)とその異性体の混合標準液のクロマトグラム(TIC)

- ①: 5F-QUPIC N-(2-fluoropentyl)isomer
- ②: 5F-QUPIC
- ③: NNE1
- ④: 5F-NNE1
- ⑤: NNE1 2'-naphthyl isomer
- ⑥: 5F-NNE1 2'-naphthyl isomer

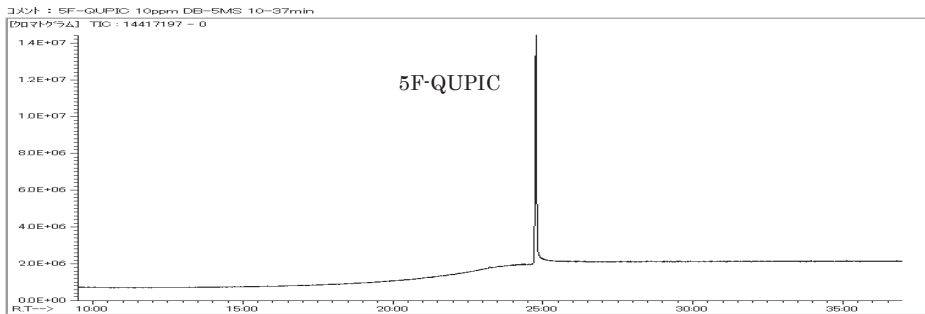
図6 異性体

GC/MS Analysis

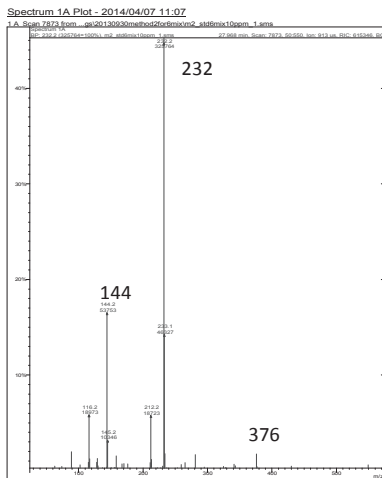
メタノール溶液



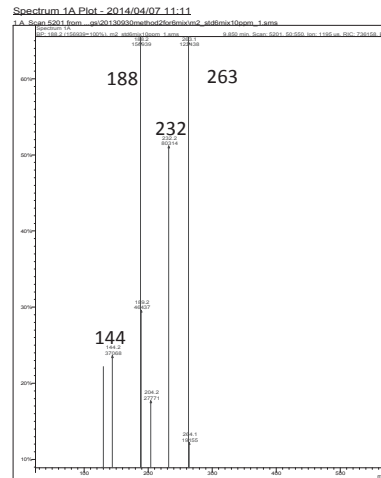
アセトニトリル溶液



5F-QUPICのクロマトグラム(TIC)

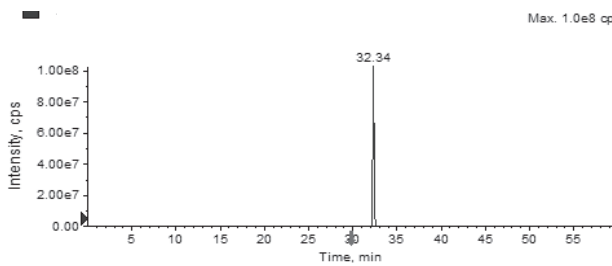


5F-QUPICのマススペクトル

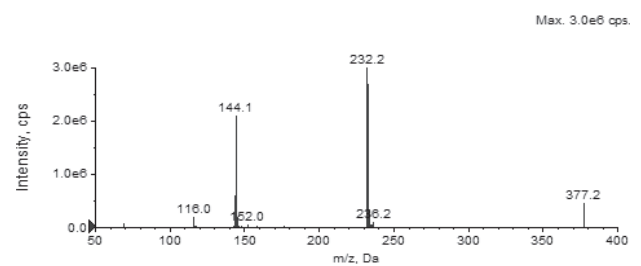


5F-QUPICの分解物のマススペクトル

LC/MS Analysis



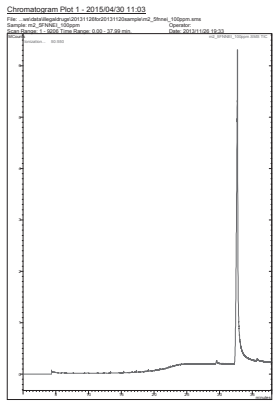
5F-QUPICのクロマトグラム(TIC)



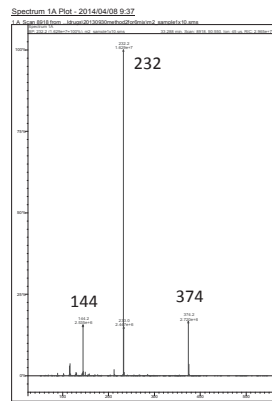
5F-QUPICのマススペクトル

図7 5F-QUPIC

GC/MS Analysis

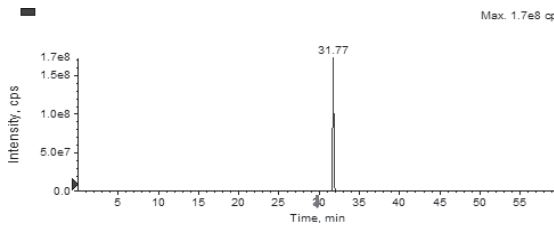


5F-NNE1のクロマトグラム (TIC)

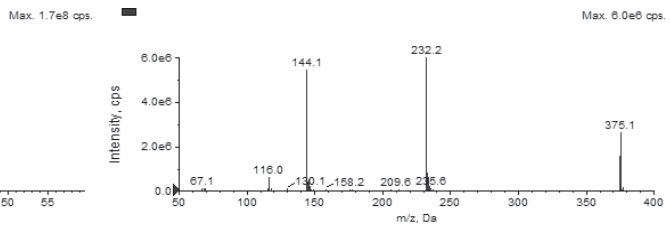


5F-NNE1のマスペクトル

LC/MS Analysis



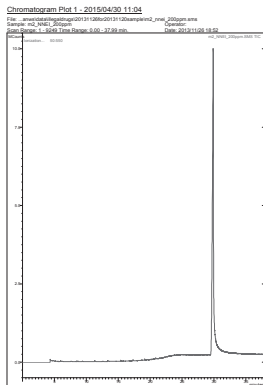
5F-NNE1のクロマトグラム (TIC)



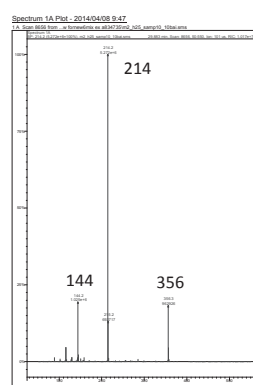
5F-NNE1のマスペクトル

図 8 5F-NNE1

GC/MS Analysis

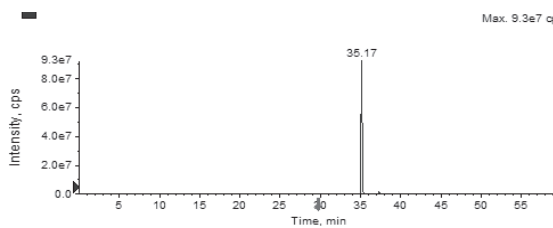


NNE1のクロマトグラム (TIC)

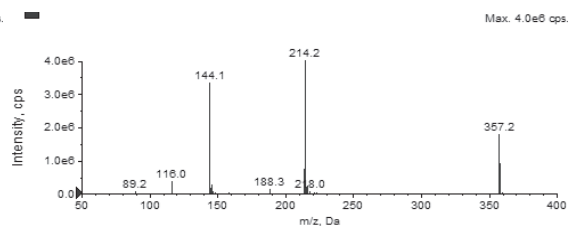


NNE1のマスペクトル

LC/MS Analysis



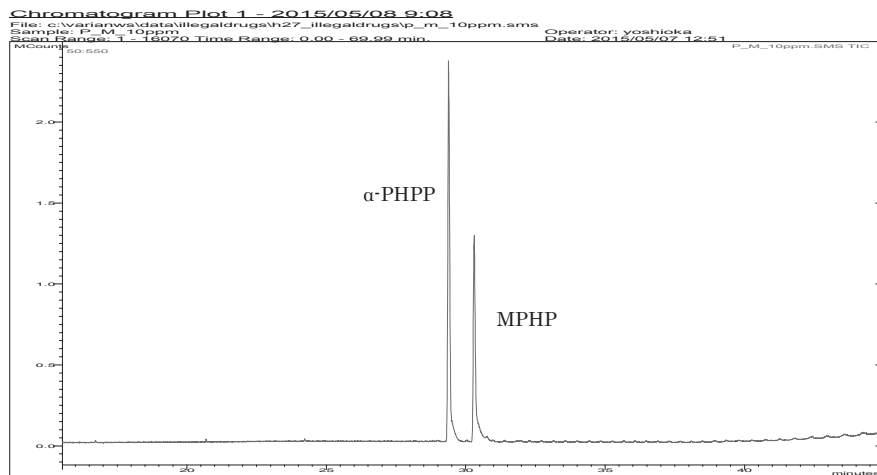
NNE1のクロマトグラム (TIC)



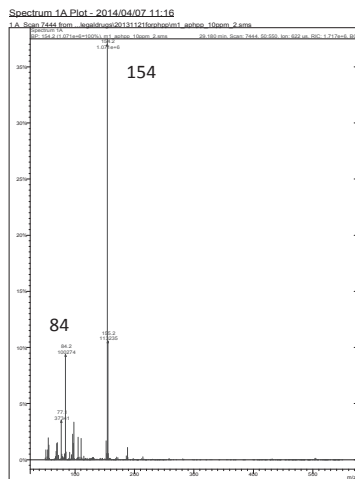
NNE1のマスペクトル

図 9 NNE1

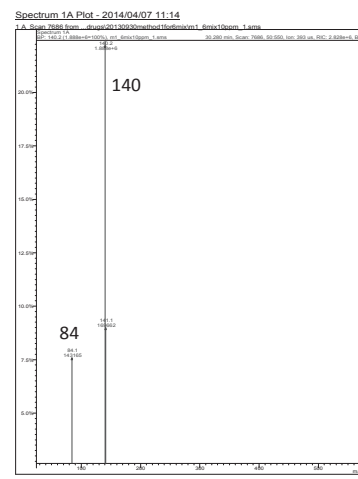
GC/MS Analysis



MPHP及び α -PHPPのクロマトグラム(TIC)

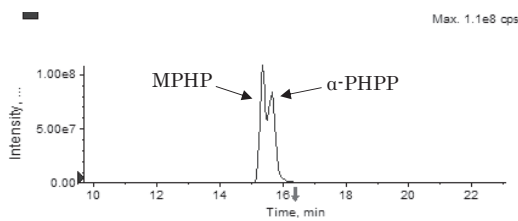


α -PHPPのマススペクトル

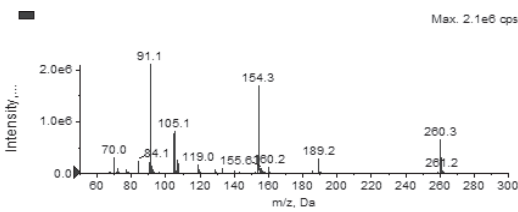
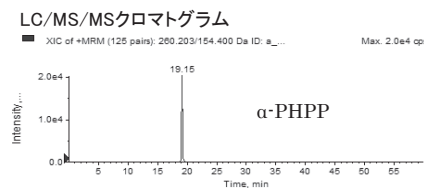
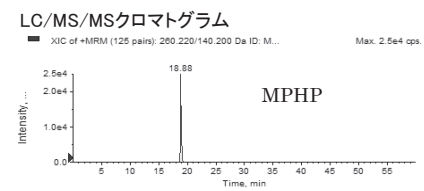


MPHPのマススペクトル

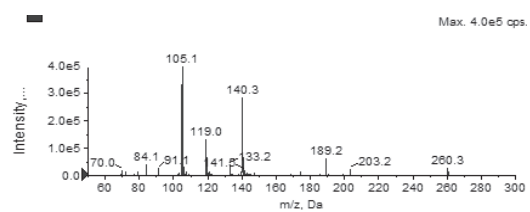
LC/MS Analysis



MPHP及び α -PHPPのクロマトグラム (TIC)



α -PHPPのマススペクトル



MPHPのマススペクトル

図 10 MPHP 及び α -PHPP

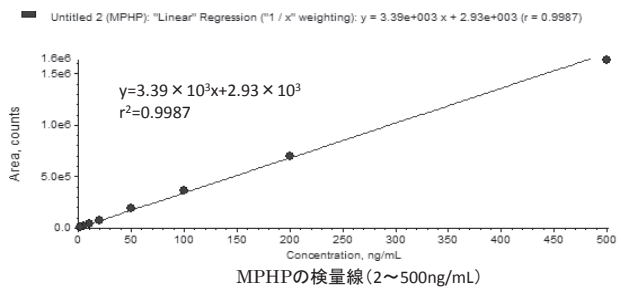
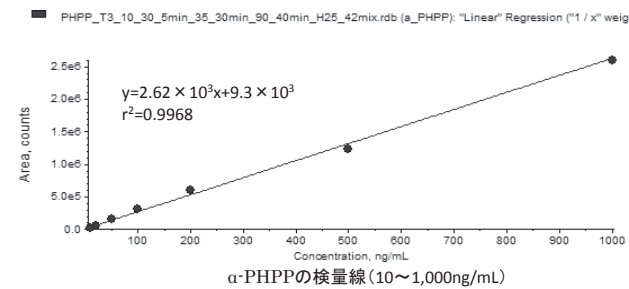
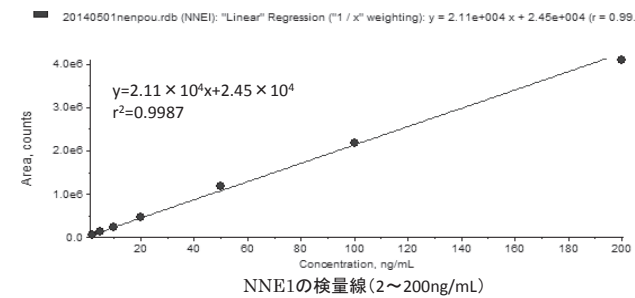
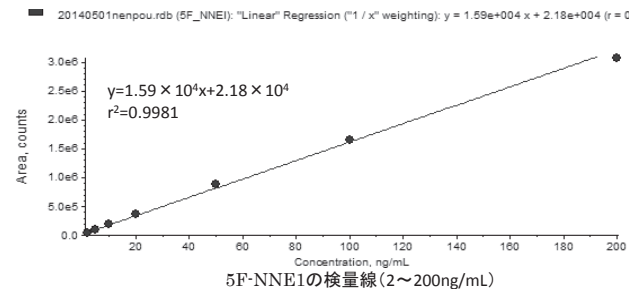
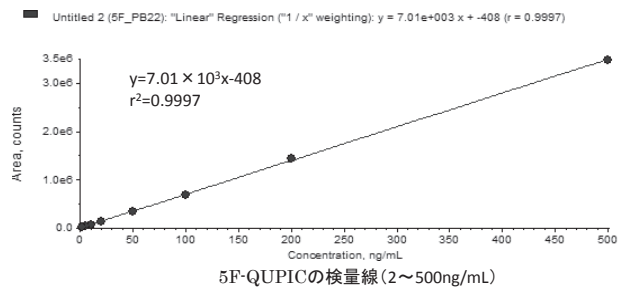
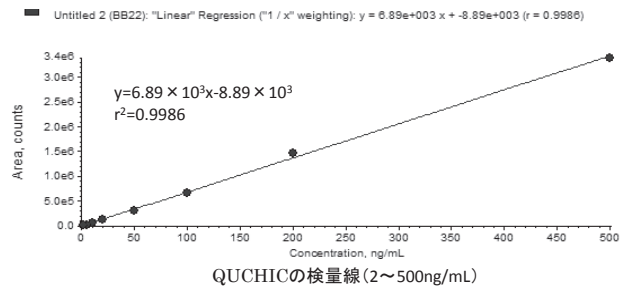
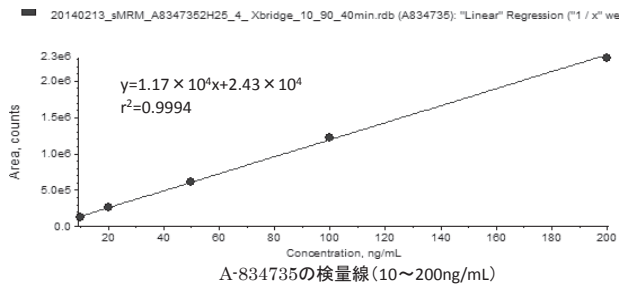


図 11 検量線