

クロロギ酸プロピル誘導体化GC-MS法による 錠剤に微量に含まれる覚醒剤の定量

樋野 千寿*, 新井 健司*, 渡瀬 順司*

Quantitative analysis of a trace amount of amphetamine and methamphetamine contained in a tablet by GC-MS using propylchloroformate derivatization method

Chitoshi HINO *, Kenji ARAI *and Junji WATASE*

*Narita Airport Customs Laboratory

2159 Aza Tennamino, Komaino, Narita, Chiba 282-8603 Japan

We conducted a derivatization of amphetamine and methamphetamine by propylchloroformate, and quantitatively analyzed them with gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) using a selected ion monitoring mode (SIM). Since this method makes it easy to conduct the derivatization process with high sensitivity, it is expected to be effective for quantitative analysis for trace amounts of amphetamine and methamphetamine contained in tablets.

1. 緒 言

麻薬、指定薬物又は違法ドラッグを主成分とする錠剤中に微量の覚醒剤が含まれていることがある。税関における過去の事例では、麻薬である MDMA を主成分とし微量のメタンフェタミンを含む錠剤及び指定薬物である 4-FMP (p-フルオロアンフェタミン) を主成分とし微量のアンフェタミンを含む錠剤がある。

微量に含まれる覚醒剤を定量するためには、高感度かつ高選択性を有する分析方法が有効であり、ガスクロマトグラフィー質量分析法 (GC-MS 法) は適している。また、覚醒剤を GC-MS 法により定量するためには、無水トリフルオロ酢酸などのアシル化剤を用いる方法が一般的であるが、試料の脱水や誘導体化剤を添加した後の加熱が必要であり、この処理が定量操作を煩雑なものにしている。本法では、無水トリフルオロ酢酸よりも簡便な誘導体化処理が可能なクロロギ酸プロピルを用いて、錠剤中に含まれる微量の覚醒剤を高感度かつ簡便に定量できる分析法を検討した。

2. 実 験

2.1 試 薬

アンフェタミン硫酸塩
メタンフェタミン塩酸塩
MDMA 塩酸塩
4-FMP 塩酸塩
酢酸エチル (純正化学)

炭酸ナトリウム (関東化学)
無水硫酸ナトリウム (和光純薬工業)
乳糖 1 水和物 (和光純薬工業)
クロロギ酸プロピル (和光純薬工業)
塩酸 2-エチルアミノ-1-(p-メトキシフェニル) プロパン (東京化成工業)

2.2 分析装置及び条件

2.2.1 ガスクロマトグラフ質量分析計 (GC-MS)

装置 : 7890A/5975C (Agilent)
カラム : DB-5MS 30 m × 0.25 mm 膜厚 0.25 µm (Agilent)
キャリア : He (線速度 38 cm/s)
インターフェース温度 : 320 °C
イオン化法 : 電子イオン化法 (EI)
ライナー : 型番 Agilent Part# 5181-3316/スプリットレス専用
ライナー (ガラスウールなし)
注入口温度 : 280 °C
昇温条件 1: 90°C(2 min)→(20°C/min)→260°C(1 min)
昇温条件 2: 90°C(2 min)→(2°C/min)→160°C(1 min)→(30°C/min)→280°C (1 min)
注入モード : スプリットレス
ページ開始時間 : 2 min
ページ流量 : 60 ml
注入量 : 1 µl
検出 : SCAN または SIM

* 東京税関成田航空貨物出張所 〒282-8603 千葉県成田市駒井野字天並野 2159

2.2.2 選択イオン検出モード (SIM) パラメータ

昇温条件1のパラメータ設定

4.0~8.0 min	m/z 44,58
8.0~9.0 min	m/z 130,144
9.0~11.5 min	m/z 158

昇温条件2のパラメータ設定

4.0~15.0 min	m/z 44,58
15.0~35.0 min	m/z 91
35.0~43.0 min	m/z 158

ドゥエルの設定は各イオンについて 80 ms とした

2.3 実験

2.3.1 試薬の調製

アンフェタミン硫酸塩及びメタンフェタミン塩酸塩の各 0.010 mg/ml 水溶液を調製し、標準アンフェタミン水溶液及び標準メタンフェタミン水溶液とした。

塩酸 2-エチルアミノ-1-(p-メトキシフェニル)プロパンの 0.10 mg/ml 水溶液を内部標準溶液とした。

クロロギ酸プロピルは、あらかじめ酢酸エチルで希釈し、10 % 濃度 (v/v) としたものを誘導体化用の 10 %クロロギ酸プロピル溶液とした。

MDMA 塩酸塩及び4-FMP 塩酸塩は、各 1.0 mg/ml 及び 10 mg/ml の濃度の水溶液に調製した。

炭酸ナトリウムは、20 %炭酸ナトリウム水溶液として調製した。

2.3.2 検量線作成用標準溶液の調製

テフロンパッキンを備えたねじロキャップ付きの 10 ml 容のガラス製遠心分離管を4本用意し、標準アンフェタミン水溶液及び標準メタンフェタミン水溶液の 20、50、100 及び 200 μ l を各遠心分離管に採取し、蒸留水を加えて体積を各 1.5 ml に合わせた。各遠心分離管に内部標準溶液 100 μ l、20 %炭酸ナトリウム水溶液 200 μ l、酢酸エチル 2 ml、10 %クロロギ酸プロピル溶液 100 μ l を加えた後、ねじロキャップを閉め、混合液を2分間振とう混合し、1500 rpm で1分間遠心分離した。キャップを外し、上層の酢酸エチル層をパスツールピペットを用いて分取し、無水硫酸ナトリウムで脱水後、GC-MS に導入した。

2.3.3 乳糖に対する添加回収実験と繰り返し精度

錠剤に使用される賦型剤として最も一般的なものは乳糖であることから、多量の乳糖が共存する状況下でアンフェタミン及びメタンフェタミンの定量が可能か検討するために、乳糖に対する添加回収実験を行った。

3本の遠心分離管に10 %乳糖水溶液の各 10、100 及び 1000 μ l を採取し、標準アンフェタミン水溶液及び標準メタンフェタミン水溶液 100 μ l を添加し、蒸留水を加えて、各水溶液の体積を 1.5 ml に合わせた。以降は、2.3.2 の手順と同様に GC-MS 測定用溶液を調製した。測定用溶液は、乳糖の添加量が異なる3種類のものを合計5セット作成し、各測定用溶液の GC-MS による繰り返し測定は3回とした。この調製方法で、アンフェタミン硫酸塩またはメタンフェタミン塩酸塩と乳糖の混合比は、各 1:1000、1:10,000、及び 1:100,000 となる。

2.3.4 MDMA に対するメタンフェタミン添加回収実験

MDMA 含有錠剤中に微量のメタンフェタミンが含まれているケースを想定し、多量の MDMA が共存する状況下でメタンフェタミンの定量が可能か検討するために、MDMA に対するメタンフェタミンの添加回収実験を行った。

4本の遠心分離管に各 1.0 mg/ml MDMA 塩酸塩水溶液 10 μ l、10 mg/ml MDMA 塩酸塩水溶液 10、100 及び 1000 μ l を採取し、メタンフェタミン標準水溶液 100 μ l を添加した。蒸留水を加えて、各遠心分離管の水溶液の体積を 1.5 ml に合わせた後、2.3.2 の手順と同様に GC-MS 測定用溶液を調製した。なお、MDMA 塩酸塩水溶液 1000 μ l 添加したものについては、MDMA が誘導体化剤を多量に消費するため、10 %クロロギ酸プロピル溶液に代えてクロロギ酸プロピル原液を 100 μ l 添加した。測定用溶液は、MDMA の添加量が異なる4種類のものを合計3セット作成し、各測定用溶液の GC-MS による繰り返し測定は3回とした。この調製方法で、メタンフェタミン塩酸塩と MDMA の混合比は、各 1:10、1:100、1:1000、及び 1:10,000 となる。

2.3.5 4-FMP に対するアンフェタミン添加回収実験

4-FMP 含有錠剤中に微量のアンフェタミンが含まれているケースを想定し、多量の 4-FMP が共存する状況下でアンフェタミンの定量が可能か検討するために、4-FMP に対するアンフェタミンの添加回収実験を行った。

4本の遠心分離管に 1.0 mg/ml 4-FMP 塩酸塩水溶液 10 μ l、10 mg/ml 4-FMP 塩酸塩水溶液の各 10、100 及び 1000 μ l を採取し、アンフェタミン標準水溶液 100 μ l を添加した。蒸留水を加えて、各遠心分離管の水溶液の体積を 1.5 ml に合わせた後、2.3.2 の手順と同様に GC-MS 測定用溶液を調製した。なお、4-FMP 塩酸塩水溶液 1000 μ l 添加したものについては、4-FMP が誘導体化剤を多量に消費するため、10 %クロロギ酸プロピル溶液に代えてクロロギ酸プロピル原液を 100 μ l 添加した。測定用溶液は、4-FMP の添加量が異なる4種類のものを合計3セット作成し、各測定用溶液の GC-MS による繰り返し測定は3回とした。この調製方法で、アンフェタミン硫酸塩と 4-FMP の混合比は、各 1:10、1:100、1:1000、及び 1:10,000 となる。

3. 結果及び考察

3.1 誘導体化条件と抽出溶媒の検討

本法では、操作の簡便さを優先して誘導体化剤であるクロロギ酸プロピルを除去せずに GC-MS へ導入する。菊地¹⁾らは、0.5 % 程度の溶液では、過剰なクロロギ酸プロピルによる分析装置の劣化の虞はほとんどないとしていることから、最終的な測定用溶液中のクロロギ酸プロピルの濃度が 0.5 % 程度になるように調製した。しかし、クロロギ酸プロピルは、1級アミン及び2級アミンを誘導体化するため、MDMA 等の誘導体化される物質が多量に共存する場合は、定量目的成分であるアンフェタミン及びメタンフェタミンを完全に誘導体化するために必要な量が不足する。このため、必要に応じてクロロギ酸プロピルの添加量を増やすこととした。

クロロギ酸プロピルによるアミンの誘導体化反応は、弱塩基性下で進行すること、及び Fig.1 のアンフェタミンの例で示すように誘導体化反応の際に塩酸が生じることから過剰の弱塩基を添加する必要がある。20%炭酸ナトリウムの添加量を 200 μ l とすることで安定した結果が得られた。

抽出溶媒は、酢酸エチルの他、クロロホルム、クロロホルム/

イソプロパノール混合液 (3:1)、及びジエチルエーテルを試したが、いずれの溶媒でも結果にほとんど差がなかった。このため廃液の扱いに注意が必要なクロロホルムや極めて引火性及び揮発性の強いジエチルエーテルを避け、酢酸エチルを使用することとした。

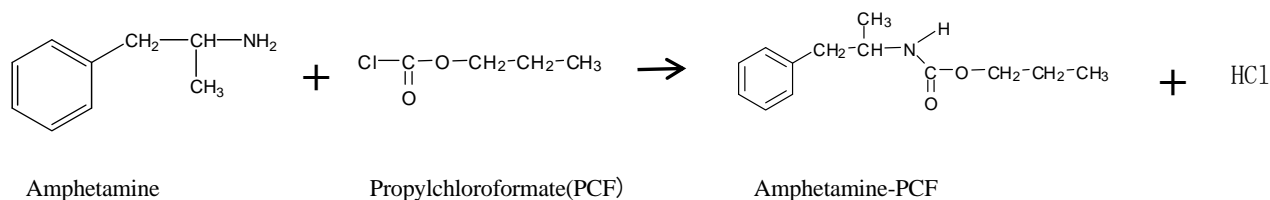


Fig.1 Propylchloroformate derivatization of amphetamine

3.2 注入口部のライナーの検討

注入口部のライナーにガラスウール付きのものを使用した際にアンフェタミン誘導体化物の検量線が原点の下を通過する現象が認められた。これは、アンフェタミン誘導体化物の注入口部における吸着によるものと疑われたため、ガラスウールなしのライナーに交換したところ、より原点付近を通過する検量線に改善された。ライナー中のガラスウールは、吸着の原因となると考えられたので、すべての測定は、ガラスウールなしのライナーを使用することとした。また、メタンフェタミン誘導体化物については、ライナーの違いによる影響は、ほとんど認められなかった。

3.3 各誘導体化物の主要なフラグメントイオン

Table1 にアンフェタミン、メタンフェタミン、2-エチルアミノ-1-(p-メトキシフェニル)プロパン (内部標準剤)、MDMA、4-FMP の各クロロギ酸プロピル誘導体化物の主要なフラグメントイオンを示す。定量分析に適するフラグメントイオンは、強度が大きく、かつ質量電荷比が大きいことが好ましいことから、アンフェタミン誘導体化物については、 $m/z=130$ または 91、メタンフェタミン誘導体化物については、 $m/z=144$ または 91 が適していると考えられた。

Table 1 EI-MS data of Propylchloroformate(PCF) derivatives

Substances	Fragment ions of EI-MS mass spectra[m/z (%)]
Amphetamine PCF	91(100),130(95),44(90),65(24),117(10)
Methamphetamine PCF	58(100),144(98),91(64),102(41),65(17)
2-ethylamino-1-(p-methoxyphenyl)propane PCF [I.S.]	158(100),72(62),121(45),116(35),56(15),91(11)
MDMA PCF	144(100),58(76),102(48),77(21)
4-FMP PCF	44(100),109(75),130(66),83(20)

3.4 検量線

昇温条件 1 により測定した 0.1~1.0 ppm の範囲のアンフェタミン及びメタンフェタミンのクロロギ酸プロピル誘導体化物の検量線を Fig.2 に示す。検量線は、原点付近を通過し、良好な直線性を示した。アンフェタミン誘導体化物については、 $m/z=130$ のフラグメントイオン、メタンフェタミン誘導体化物については、 $m/z=144$ のフラグメントイオンを使用した。内部標準剤である 2-エチルアミノ-1-(p-メトキシフェニル)プロパンの誘導体化物については、 $m/z=158$ のフラグメントイオンを使用した。昇温条件 1 の場合の各保持時間は、アンフェタミン誘導体化物 8.1 min、メタンフェタミン誘導体化物 8.2 min、及び内部標準剤の誘導体化物 9.9 min であった。

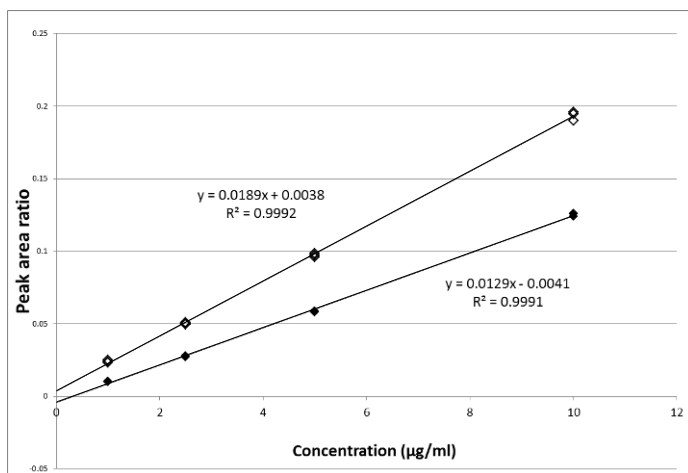


Fig.2 Calibration curve for amphetamine derivative(◆) and methamphetamine derivative(◇)

3.5 乳糖に対する添加回収実験

乳糖に対するアンフェタミン及びメタンフェタミンの添加回収率を Table2 に示す。昇温条件 1 により測定し、算出した回収率は、いずれも 100 % 付近の値を示し、乳糖の影響をほとんど受けていないものと認められた。

Table2 Recovery of amphetamine(AP) and methamphetamine(MA) in lactose

AP:Lactose	Mean Recoveries(%)	S.D.(n=5)
1:1,000	96.2	2.1
1:10,000	97.6	1.4
1:100,000	99.6	0.8

MA:Lactose	Mean Recoveries(%)	S.D.(n=5)
1:1,000	97.0	2.5
1:10,000	98.5	3.7
1:100,000	97.2	2.8

3.6 MDMA に対するメタンフェタミン添加回収実験

MDMA に対するメタンフェタミンの添加回収率を Table3 に示す。昇温条件 1 により測定し算出した回収率は、100 % 付近の値を示し、MDMA の影響をほとんど受けていないものと認められた。昇温条件 1 による測定で MDMA のクロロギ酸プロピル誘導体化物の保持時間は 10.2 min であり、メタンフェタミン及び内部標準剤の誘導体化物のピークと完全に分離した。

Table3 Recovery of methamphetamine(MA) in MDMA

MA:MDMA	Mean Recoveries(%)	S.D.(n=3)
1:10	98.6	3.6
1:100	95.7	2.6
1:1,000	100.8	7.2
1:10,000	102.2	7.1

3.7 4-FMP に対するアンフェタミン添加回収実験

GC-MS において、4-FMP 誘導体化物とアンフェタミン誘導体化物は、昇温条件 1 では、ピークが重なるため、昇温条件 2 による分離を試みたが、この条件でも完全な分離は得られなかった。昇温条件 2 における各保持時間は、アンフェタミン誘導体化物 30.5 min、4-FMP 誘導体化物 30.8 min、及び内部標準剤の誘導体化物 40.5 min であった。

Table4 は、昇温条件 2 で測定し、算出した 4-FMP に対するアンフェタミンの添加回収率である。質量検出器を用いて定量する際には、トータルクロマトグラム上でピークが分離していなくとも定量に用いるフラグメントイオンが近接しているピークの影響を

受けていなければ正確な定量が可能である。しかし、4-FMP 誘導体化物とアンフェタミン誘導体化物は構造が類似していることから、同じ質量電荷比のフラグメントイオンが多い。最もアンフェタミン誘導体化物に特徴的と考えられる $m/z=91$ のフラグメントイオンで定量を試みたが、4-FMP 誘導体化物からも微量の同質量電荷比のフラグメントイオンが生成しており、4-FMP が 100 倍量に達すると Fig.3 に示すように、アンフェタミン誘導体化物のピーク面積の算出に影響を及ぼす。4-FMP がアンフェタミンに対して 1000 倍量に達すると、アンフェタミン誘導体化物のピーク面積の算出が不可能となり定量不能であった。

Table4 Recovery of amphetamine(AP) in 4-FMA

AP:4-FMP	Mean Recoveries(%)	S.D.(n=3)
1:10	90.3	1.1
1:100	105.0	5.2
1:1,000	-	-
1:10,000	-	-

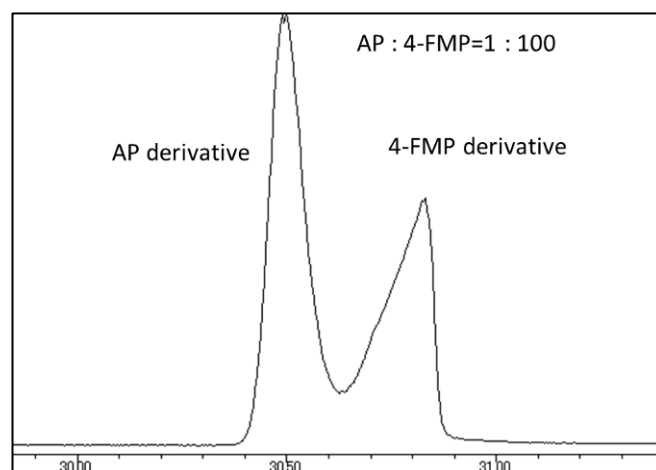


Fig.3 Expanded selected ion chromatogram($m/z=91$) of mixed sample[amphetamine(AP)+4-FMP]

4. 要 約

本法によるアンフェタミン及びメタンフェタミンの定量分析は、簡便かつ高感度である。乳糖が多量に共存する場合において、アンフェタミン及びメタンフェタミンの回収率にほとんど影響はなかった。MDMA が多量に共存する場合のメタンフェタミンの回収率は良好であったが、4-FMP が多量に共存する場合のアンフェタミンの回収率については、4-FMP がアンフェタミンの 1000 倍量以上存在すると算出不能であった。

文 献

- 1) 菊地真美, 奈女良昭, 小嶋亨, 及川肇: 鑑識科学, 4(2), 91(2000).