

保持時間固定機能を用いたガスクロマトグラフィー質量分析計による 不正薬物等の分析法の検討

上野 勝*, 森尾 広志*, 湊 嘉寿*, 杉山 真士**, 松本 啓嗣**, 渡瀬 順司**

A Study of Methods for Forensic Drug Analysis by GC-MS Using Retention Time Fixing Functions

Masaru UENO*, Hiroshi MORIO*, Katoshi FUCHI*,
Masashi SUGIYAMA**, Yoshitsugu MATSUMOTO** and Junji WATASE**

*Moji Customs Laboratory

1-3-10, Nishikaigan, Moji-ku, Kitakyushu, Fukuoka 801-8511 Japan

**Central Customs Laboratory, Ministry of Finance

6-3-5, Kashiwanoha, Kashiwa, Chiba 277-0882 Japan

With the recent increase in the number of forensic drugs (controlled substances), some cases may be difficult to judge because of difficulties in obtaining standard samples. Therefore we investigated a new analytical method using GC-MS. We developed a method to determine the retention times of samples and to compile information on the retention times and mass spectra of standard samples into a database. We thus attempted to develop an analytical method to search and identify samples by reviewing both information on the retention time and mass spectra when measuring illicit drugs. We also examined whether this method and the database can be shared between different analytical laboratories and with other instruments. Measurements of samples using this method showed close agreement of retention times between different laboratories and instruments, confirming that the database can be shared. This method could be a reliable analytical method for identifying illicit drugs without measuring standard samples, and so could be useful for judicial analysis.

1. 緒 言

2. 実 験

不正薬物の鑑定は、通常、二以上の異なる分析法により行われる。その手法としては、鑑定試料を分析機器により測定し、その結果を標準試料（不正薬物）の測定結果あるいはライブラリーに収録された標準データとを比較し、同定するという方法が一般的である。

ガスクロマトグラフィー質量分析計（以下、GC-MS）は全ての税関に配備されている分析機器であり、鑑定試料のマススペクトルとライブラリーに収録されたマススペクトル等を比較し、同定することができるため、税関での不正薬物の分析では最も多く使用されている機器の一つである。今回、マススペクトルの比較に加えて、相当するピークの保持時間を比較することで、より確実な同定が可能となることから、異なる実験室及び装置での再現性の向上について検討するとともに、標準試料の保持時間データの収集を図ることとした。

その結果、いくつかの知見が得られたので報告する。

2.1 試料及び試薬

標準試料（不正薬物）

覚せい剤（アンフェタミン及びメタンフェタミン）

麻薬 28 種

向精神薬 8 種

薬事法第2条第14項に規定する指定薬物（以下、「指定薬物」という。）19 種

標準試料（法規制されていない薬物等）34 種

2.2 分析装置及び測定条件

ガスクロマトグラフ質量分析計

装置 : 6890N/5975 (Agilent)

: 7890A/5975C (Agilent)

カラム : DB-5ms 30m×0.25mmI.D. 0.25 µm (Agilent)

注入口温度 : 320℃

イオン化法 : 電子イオン化法 (EI)

* 門司税関業務部 〒801-8511 福岡県北九州市門司区西海岸 1-3-10

** 財務省関税中央分析所 〒277-0882 千葉県柏市柏の葉 6-3-5

オープン温度：60℃（3 min）→（20℃/min）→320℃（8 min）
定流量モード（n-ドコサンで保持時間を固定）

2.3 実験方法

本研究では Agilent 社製のアプリケーションソフトウェアである MSD ケミステーションに標準装備されている、保持時間を固定する機能（以下、リテンションタイムロッキング）を使用し、保持時間の固定、データベースの作成及び解析を行った。

2.3.1 リテンションタイムロッキングメソッドの作成

税関において不正薬物の鑑定分析で使用されている GC-MS の測定条件を参考に、上記測定条件を設定した。n-ドコサンは分析時間の中央部分に溶出することから、保持時間を固定するための対象物質として選択した。関税中央分析所の GC-MS（Agilent 6890N/5975）で5段階の注入口圧でデータを取込み、保持時間 vs. 圧力のキャリブレーションカーブを作成し、リテンションタイムロッキングメソッドを作成した。

2.3.2 データベースの作成

クロロホルムに溶解した各標準試料溶液（約 0.1 mg/ml）を調製し、当該メソッドを用いて測定後、それぞれのマススペクトル及び保持時間のデータ収集を行った。なお、標準試料のうち、塩酸塩などの塩となっているものは 0.1 N 水酸化ナトリウムでアルカリ性溶液にした後、クロロホルムで液液抽出することにより遊離塩基としたものを使用した。

これらのマススペクトルをライブラリーに登録し、同時にリテンションインデックスとして保持時間を 0.01 秒単位で登録することで、マススペクトル及び保持時間情報を併せ持つデータベースを作成した。

2.3.3 同定精度の確認

当該データベースの同定精度を検証するため、登録した試料のなかから指定薬物である 1-（4-フルオロフェニル）ピペラジン（4FPP）、麻薬である 1-（3-クロロフェニル）ピペラジン（3CPP）、また、これらに構造が類似しているにもかかわらず法規制されていない 1-（2-フルオロフェニル）ピペラジン（2FPP）、1-（3-フルオロフェニル）ピペラジン（3FPP）、1-（2-クロロフェニル）ピペラジン（2CPP）及び 1-（4-クロロフェニル）ピペラジン（4CPP）の 6 種混合標準試料溶液を作成し、当該メソッドで測定後、当該データベースで検索し、同定を試みた。

また、門司税関において、標準試料を保有することなく不正薬物の同定が可能か否かの検証を行った。まず、門司税関分析室の GC-MS（Agilent 7890A/5975C）に当該データベースを移行し、同様に測定条件を設定後、n-ドコサンが同じ保持時間に溶出するように再度保持時間を固定した。次に、門司税関保有の標準試料 13 種を測定し、異なる分析室及び装置間での保持時間の差を比較した。測定結果を未知試料のものと想定しデータベースにより検索し、同定を行った。

3. 結果及び考察

3.1 データベースによる同定

GC-MS による 6 種混合標準試料溶液のトータルイオンクロマトグラム（TIC）を Fig.1、それぞれのピークのマススペクトルを Fig.2 に示す。

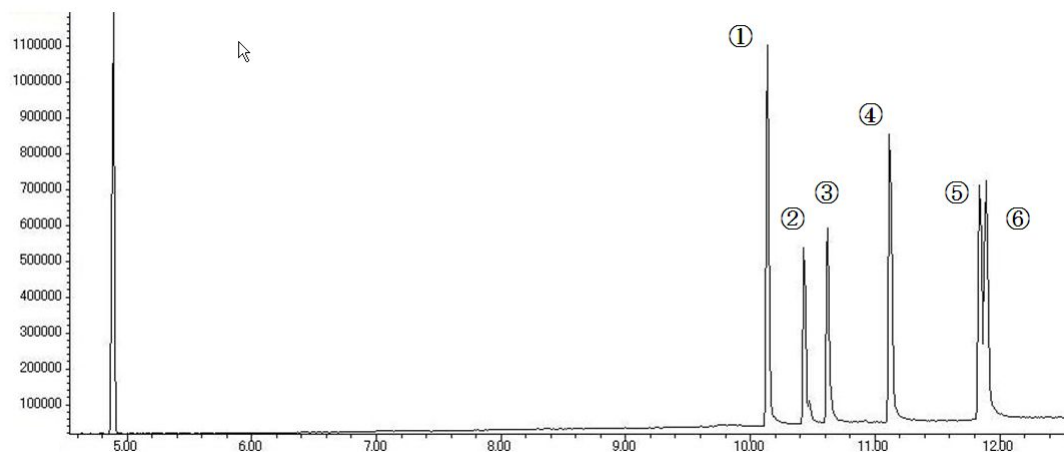


Fig.1 Total ion chromatogram of mixed samples

①1-(2-Fluorophenyl)piperazine(2FPP), ②1-(4-Fluorophenyl)piperazine(4FPP), ③1-(3-Fluorophenyl)piperazine(3FPP),
④1-(2-Chlorophenyl)piperazine(2CPP), ⑤1-(3-Chlorophenyl)piperazine(3CPP), ⑥1-(4-Chlorophenyl)piperazine(4CPP)

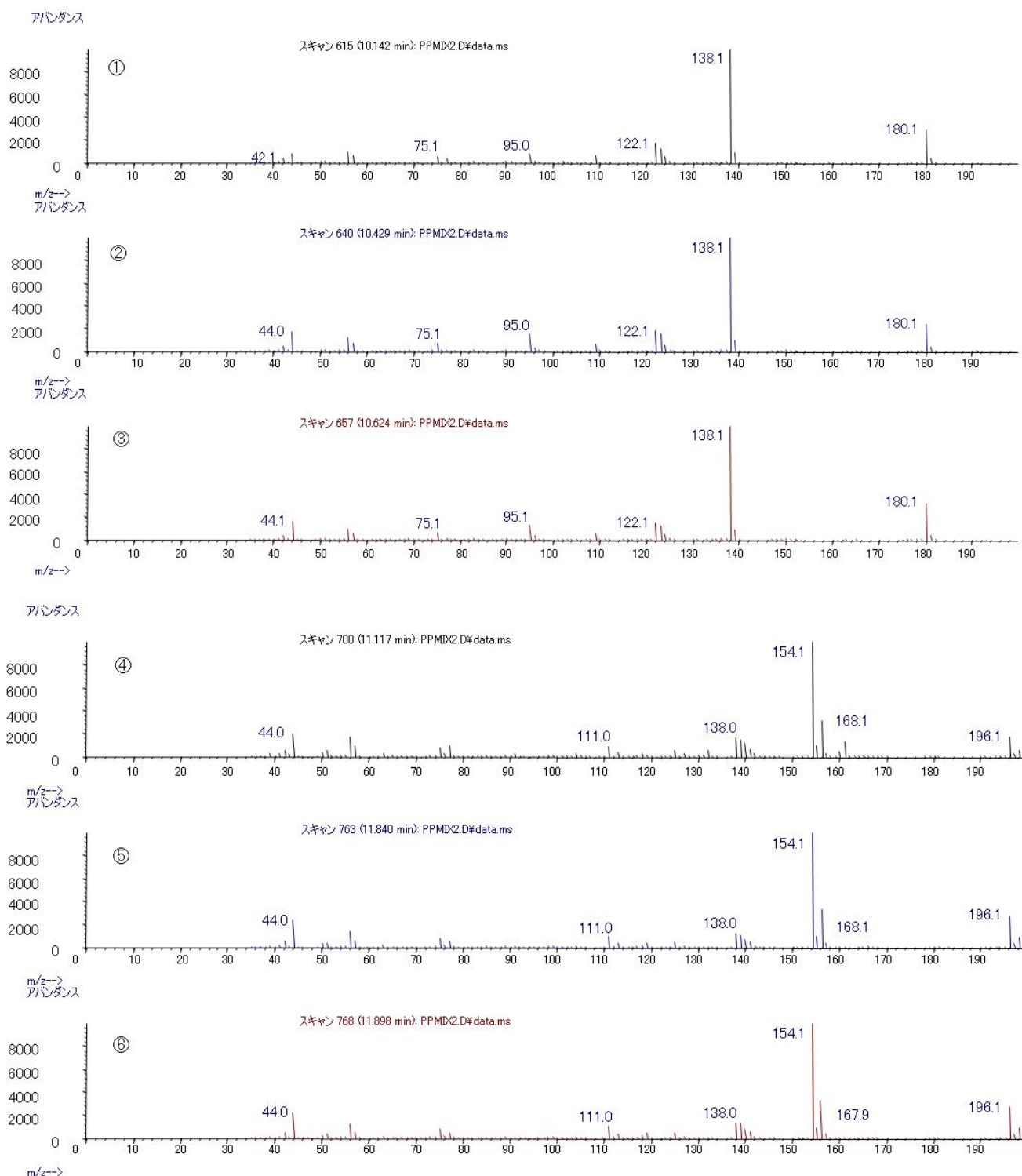


Fig.2 Mass spectra of peaks ①－⑥

ピーク①、②及び③はフェニル基に置換されたふっ素の位置が異なる位置異性体のものであり、ピーク④、⑤及び⑥は同様に塩素の位置が異なる位置異性体のものである。位置異性体同士は同じフラグメントイオンを同じ程度の強度比で生成するため、マススペクトルは極めて類似していることが分かる。そのため、マススペクトル情報のみでは識別困難なものである。しかし、これら

は保持時間に差があるため、標準試料の保持時間と比較することにより識別が可能である。本研究で作成したデータベースを利用すると、標準試料の保持時間が固定された状態でデータが登録されているため、標準試料を同時に測定することなく、分析試料の実測マススペクトル及び保持時間からデータベースを検索し、同定することが可能である。

スクリーンファイル: DB5MSRTL.RES		抽出ウィンドウ: +/- 0.100 min					
スクリーンデータベース: DB5MSRTL.SCD		クオリファイアモード: 相対					
		クオリファイア % : 30					
		ゼロクオリファイア : 含める					
		減算モード: 最初または最後の小さい方					
		ターゲット					
化合物	ステータス	ExpRT	ずれ	m/z	レスポンス	クオリファイア	XCR
20 PMMA; 1-(4-Methoxyphenyl) ?		9.913	-0.069	58	72	121,56,78	84
21 N-(2-Fluorophenyl)piperaz x		10.131	+0.011	138	613624		98
22 MDA; 3,4-Methylenedioxy-a ?		10.177	-0.035	44	8953	136,135,77	1
23 Benzylpiperazine ?		10.292	-0.012	91	293	134,176,56	28
24 4FPP; 1-(4-Fluorophenyl)p x		10.464	-0.023	138	290432		97
25 Piperazine, 1-phenyl- ?		10.475	-0.000	120	889	77,104	71
26 TFMPP; Piperazine, 1-[3-(10.487		188	-見つかりません-		
27 MDMA; N-Methyl-3,4-methyl ?		10.521	+0.092	58	1430	135,77,56	1
28 Benzaldehyde, 4-(dimethyl ?		10.601	+0.023	148	1702	77	39
29 3FPP; 1-(3-Fluorophenyl)p x		10.613	+0.011	138	344320		98
30 1-(3-methylbenzyl)piperaz ?		10.877	+0.057	105	414	148,190,56	34
31 BDB; 1-(3,4-methylenedio ?		10.888	+0.011	58	172	136,135	70
32 1-(4-methylbenzyl)piperaz ?		10.957	-0.023	105	414	148,56,85	51
33 HMMA; 4-(3,4-methylenedio ?		10.991	+0.000	44	4571	176,135,131	30
34 MBDB ?		11.083	+0.046	72	600	135,88,57	1
35 1-(2-chlorophenyl)piperaz x		11.118	-0.001	154	379822		98
36 1-(2-Methoxyphenyl)pipera		11.140		150	-見つかりません-		
37 HMMA; N-methyl-4-(3,4-me ?		11.301	+0.023	58	64	135,207,77	55
38 MDMA-2; 1-(2-methoxy-4,5- ?		11.370	+0.034	44	5369	166,151,165	19
39 Butalbital; 5-allyl-5-(2-		11.370		168	-見つかりません-		
40 Mescaline; 3,4,5-Trimetho		11.450		182	-見つかりません-		
41 Dopamine; 1,2-Benzenediol ?		11.462	-0.115	124	63	123,77,51	48
42 Etilefrine; Benzenemethan ?		11.508	+0.045	58	67	77,59,95	1
43 TMA; 3,4,5-trimethoxyamph ?		11.531	+0.011	44	17429	182,167,181	44
44 2C-C; 2-(4-Chloro-2,5-dim		11.645		186	-見つかりません-		
45 2,4,6-Trimethoxyamphetami ?		11.817	+0.012	182	63	44,181,121	1
46 3CPP; Piperazine, 1-(3-ch x		11.829	+0.011	154	362539		98
47 Pethidine; 4-Piperidineca ?		11.863	+0.023	71	717	172,247	50
48 AMT; 3-(2-Aminopropyl)ind ?		11.875	+0.023	131	3003	130,77	1
49 4MPP; 1-(4-Methoxyphenyl) ?		11.886	-0.046	150	213	192,120,135	1
50 1-(4-chlorophenyl)piperaz x		11.898	-0.000	154	435283		99
51 1-(3-Methoxyphenyl)pipera		12.001		150	-見つかりません-		

Fig.3 Output of screen report (extract)

Fig.3 はデータベース検索による、6 種混合標準試料溶液についての同定結果のレポート出力である。化合物欄には、データベースに登録されている化合物名が、保持時間の順に並べられている。ステータス欄の「x」は、その化合物の保持時間及びマススペクトル情報が、検索条件の設定において一致していることを表わし、測定試料に含まれている可能性が高いことを示す。また、同欄の「？」は、保持時間付近における登録マススペクトルのイオンピークの一部に一致しないものがあることを示し、ステータス欄が空白でレスポンス欄に「-見つかりません-」とあるものは、データベースには登録されているが、保持時間付近に登録マススペクトルのイオンピークが全く検出されていないことを示す。

このレポートにより、ステータス欄に「x」と表示されている

化合物が 6 種類存在し、いずれも 6 種混合標準試料溶液に添加したものであった。特に、指定薬物である 4FPP と法規制されていない 2 つの位置異性体及び、麻薬である 3CPP と同じく法規制されていない 2 つの位置異性体のように、マススペクトルが類似していても保持時間に差がある化合物であれば、今回作成したデータベースにより正しく同定されることが確認できた。

ただし、ピーク⑤と⑥のようにピークが近接し、ピークトップには差があるものの完全には分離していない化合物の場合、これらはマススペクトルが類似するだけでなく保持時間も近いことから、検索により誤認識されるおそれもあり、慎重な判断が必要である。このような場合には、当該ピークのマススペクトル及び保持時間を個別に再確認をすることも重要である。(Fig.4)

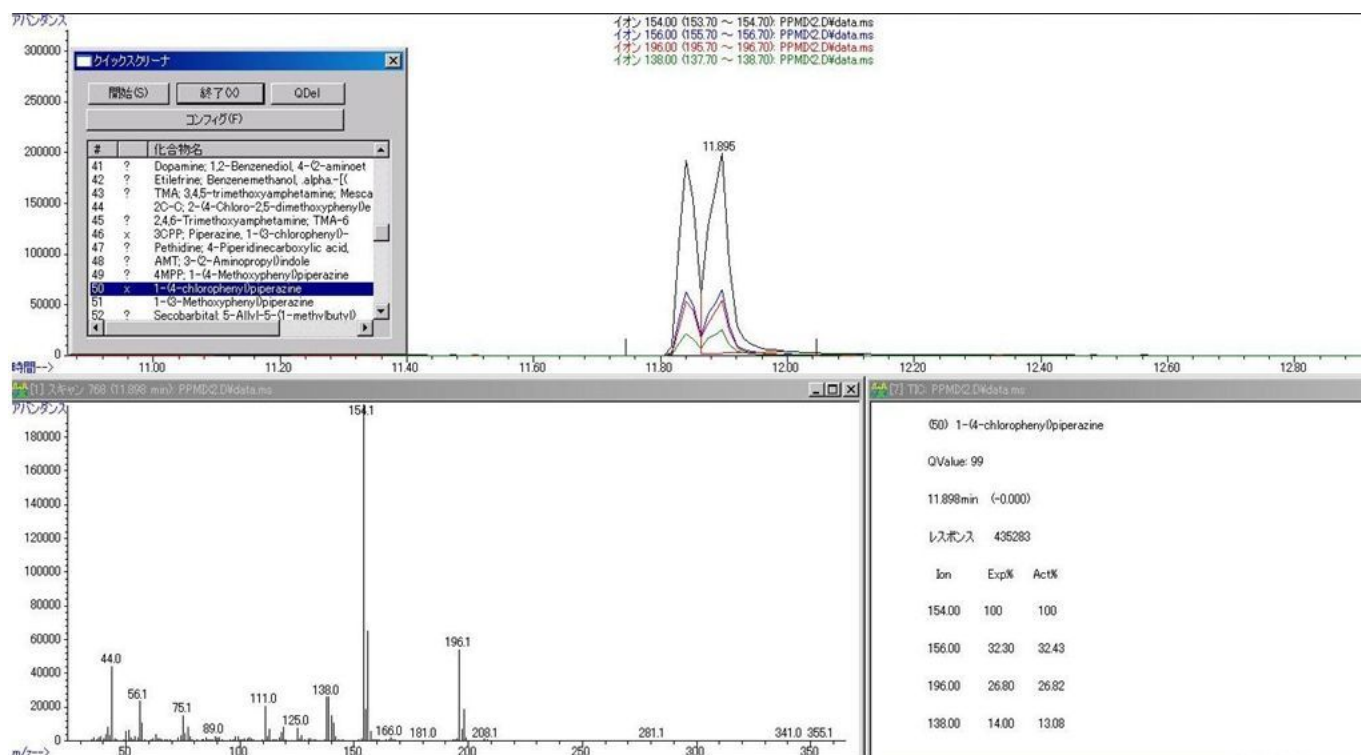


Fig.4 Visual judgment of identification of peaks (5) and (6) by "Result Screener".

The upper window shows extracted ions; the lower-left window shows the mass spectrum of a selected peak; and the lower-right window shows information about the peak. The pop-up window shows an operating window of Result Screener.

3.2 異なる分析室及び装置での検証

関税中央分析所において、保持時間を固定したメソッドを使用し GC-MS で試料を測定した TIC(1)、カラム、昇温条件及び流量等のパラメータを同一に設定後、門司税関分析室において GC-MS

で同試料を測定した TIC(2)及び門司税関分析室の同 GC-MS を使用し保持時間を再固定後に同試料を測定したものの TIC(3)を Fig.5 に示す。

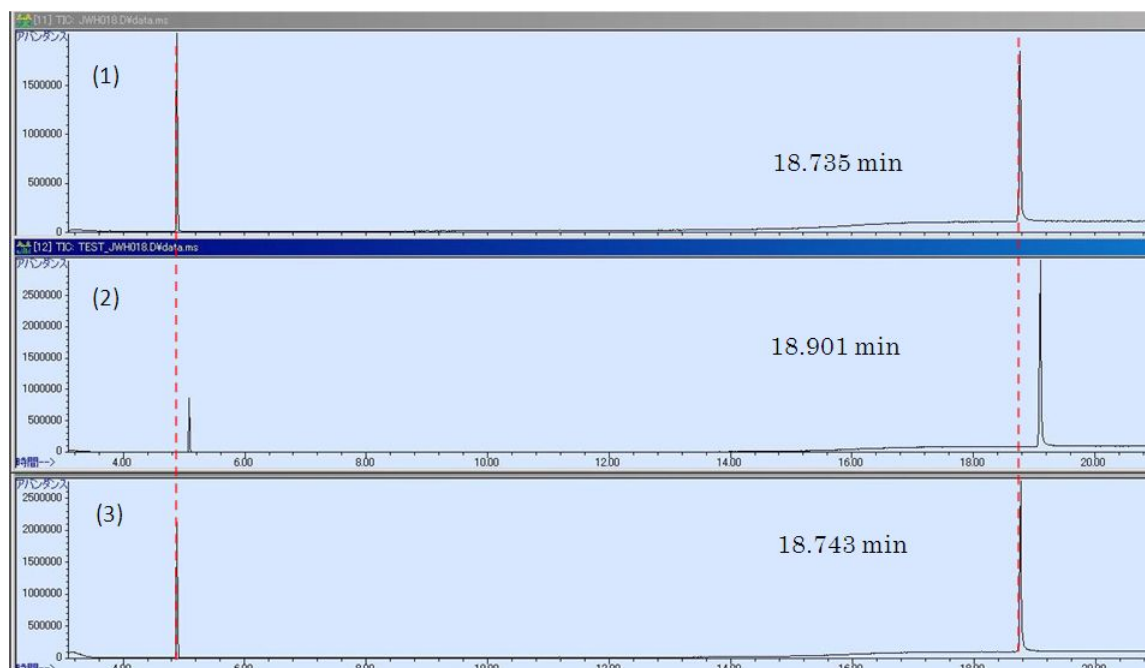


Fig.5 Total ion chromatograms of (1) a sample using a retention time locked method in the Central Customs Laboratory, (2) the sample using a method without retention time locked in the Moji Customs Laboratory and (3) the sample using a retention time re-locked method in the Moji Customs Laboratory

TIC(1)で保持時間 18.735 分の試料は TIC(2)では 18.901 分に溶出し、カラム、昇温条件及び流量等を同一に設定し測定しても、分析室や使用装置等の違いから保持時間には相当の差が生じることがわかる。しかし、保持時間を固定化したメソッドを、異なる分析室及び装置で設定し、同様に固定後、測定することで、同試料の保持時間は 18.743 分となり、ほぼ一致させることができた。ここで、門司税関保有の 13 種の標準試料について、再固定後のメソッドを用いて測定された保持時間と、関税中央分析所での測定で得られたこれらの保持時間との比較を行った結果、最大で 0.031 分（約 1.9 秒）の差であり、良好な結果が得られた（Table 1）。また、これらの試料の測定結果を未知試料のものとし、移行したデータベースで検索したところ、13 種の試料についてすべて正しく同定することができた。

4. 要 約

昨今の規制薬物の増加に伴い、標準試料入手困難等の理由から、適正な鑑定が困難になる場合が想定されたため、GC-MS による新たな分析法を検討した。試料の保持時間を固定するメソッドを作成し、標準試料の保持時間及びマススペクトル情報をデータベース化することで、不正薬物を測定した際に保持時間及びマススペクトル情報の双方からデータベースを検索、同定する分析法を検討した。また、当該メソッド及びデータベースが異なる分析室及び装置でも共有できるかについての検証を行った。その結果、当該メソッドで測定を行えば、異なる分析室及び装置でも保持時間をほぼ一致させることができるため、データベースの共有も可能であることが分かった。したがって、当該分析法は標準試料を測定することなく、不正薬物を同定する分析法として発展性があり、鑑定分析に有効であると考えられる。

Table 1 Comparison of GC-MS retention time (min) in constant flow mode with retention time locking function at the Central Customs Laboratory (CCL) and Moji Customs Laboratory (MCL)

Sample	C.C.L.	M.C.L.	Difference
Amphetamine	7.470	7.488	0.018
Methamphetamine	7.963	7.978	0.015
TMS GHB	8.272	8.279	0.007
2-Aminoindan	8.330	8.351	0.021
1-Piperonylpiperazine	12.494	12.512	0.018
Ketamine	12.506	12.526	0.020
Psilocin	13.263	13.294	0.031
Cocaine	14.203	14.215	0.012
Codeine	15.132	15.139	0.007
Morphine	15.362	15.370	0.008
JWH073	18.196	18.202	0.006
JWH018	18.735	18.743	0.008
LSD	18.747	18.772	0.024