

フェニデート系物質の GC/MS による同定

小林 正和*, 岡本 健*, 大嶽 秀之*, 安藤 利典**

Identification of structural analogs of methylphenidate by GC/MS

Masakazu KOBAYASHI*, Ken OKAMOTO*, Hideyuki OTAKE*, Toshinori ANDO**

*Nagoya Customs Laboratory 2-3-12, Irifune, Minato-ku, Nagoya, Aichi 455-8535 Japan

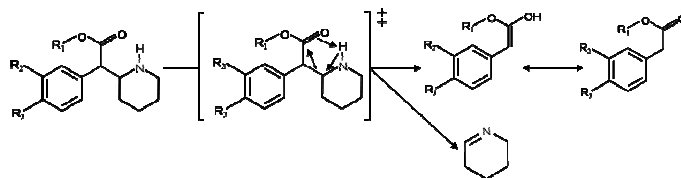
**Central Customs Laboratory, Ministry of Finance 6-3-5, Kashiwanoha, Kashiwa, Chiba 277-0882 Japan

Due to thermal decompositions, it is difficult to determine methylnaphthidate, ethylnaphthidate and 3, 4-dichloromethylphenidate, which are structural analogues of methylphenidates, by gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS). In this study, we analyzed the three substances using GC/MS by modifying the measurement conditions to suppress their thermal decompositions and by TFA derivatization. As a result, the thermal decompositions of the three substances were successfully suppressed by adjusting the column temperature programs and the injection port temperature to proper conditions, and thereby mass spectra, providing detailed information about their chemical structures, were obtained. The TFA derivatization method enabled us to analyze them with highly sensitive detection within the same time as a conventional drug analysis method.

1. 緒 言

税関における危険ドラッグの押収は依然として続いており、既存の麻薬及び向精神薬と化学構造が類似し、これらと同等以上の精神毒性を有する蓋然性が高いものが、次々と「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」にいう指定薬物に指定されている。その中でも、メチルフェニデートの構造類似物質（以下、「フェニデート系物質」という。）は、現在 6 物質が指定薬物に指定されており、このうち 4 物質は近年指定されたものである*。フェニデート系物質は、不正入手等による乱用が報告されているメチルフェニデート（第一種向精神薬として規制）^{1)~3)}と共通の基本骨格を有する危険ドラッグの一種であり、近年乱用を目的とした流通が英国などで確認されている⁴⁾。日本でも税関によるフェニデート系物質の押収は、増加傾向にあり、4 - フルオロメチルフェニデート等未規制のフェニデート系物質の存在も確認されている。

メチルフェニデートは、熱に不安定な物質であり、ガスクロマトグラフ質量分析計（以下、「GC/MS」という。）による分析で熱分解を起こすことが知られている⁵⁾。共通の基本骨格を有するフェニデート系物質も同様に、GC/MS 分析において、Scheme 1 のとおり六員環遷移状態を経た β 開裂による熱分解を起こすことが報告されているが^{6)~8)}、その熱分解の程度は物質によって異なる。



導体化することなくカラムの温度、注入口温度等の分析条件を調整し、熱分解を抑制する手法については、報告されていない。

そこで、本研究では税関に標準配備されているGC/MSでフェニデート系物質3種（メチルナフチデート、エチルナフチデート及び3,4-ジクロロメチルフェニデート）を迅速かつ正確に同定するための分析法の確立を目的に、熱分解を抑制する分析条件を検討した他、TFA誘導体化による分析と比較したので報告する。

※フェニデート系物質の規制状況（指定薬物）

エチルフェニデート 平成25年1月16日施行
 3,4-ジクロロメチルフェニデート 平成26年4月5日施行
 メチルナフチデート 平成27年12月5日施行
 イソプロピルフェニデート 平成27年12月5日施行
 エチルナフチデート 平成28年7月2日施行
 4-メチルメチルフェニデート 平成28年7月2日施行

2. 実験

2.1 試料及び試薬

2.1.1 試料

メチルナフチデート塩酸塩 (Methylnaphthidate HCl)
 エチルナフチデート塩酸塩 (Ethylnaphthidate HCl)
 3,4-ジクロロメチルフェニデート塩酸塩
 (3, 4-dichloromethylphenidate HCl)

いずれも財務省関税中央分析所より譲渡されたものを使用した。これらの化学構造をFig. 1に示す。

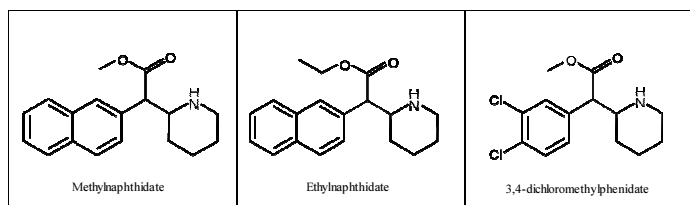


Fig. 1 Chemical structures of three methylphenidate analogs analyzed in this study.

2.1.2 試薬

クロロホルム（和光純薬工業，試薬特級）
 アセトニトリル（和光純薬工業，HPLC用）
 無水トリフルオロ酢酸（シグマアルドリッチ社）

2.2 装置及び測定条件

2.2.1 ガスクロマトグラフィー/質量分析法（薬物用の汎用分析条件）

装置：ガスクロマトグラフ 6890N/質量分析計 5973
 （Agilent Technologies 社製）
 分離カラム：DB-5MS（30 m×0.25 mm i.d., 膜厚 0.25 μm）
 （Agilent Technologies 社製）

カラム温度：50 °C（1 min hold）→（15 °C/min）→320 °C
 （10 min hold）

注入口温度：280 °C

スプリット比：50：1

注入量：1 μL

インターフェース温度：250 °C

イオン源温度：230 °C

四重極温度：150 °C

キャリアガス：ヘリウム（1.0 mL/min）

イオン化法：EI 法

※TFA誘導体化法の条件も同様

2.2.2 ガスクロマトグラフィー/質量分析法（CI 法）

装置：ガスクロマトグラフ 7890B/質量分析計 5977B
 （Agilent Technologies 社製）

反応ガス：イソブタンガス

イオン化法：CI 法

※注入口温度、カラム温度及びインターフェース温度は、EI 法による温度条件の検討結果（Table 1）を使用

その他の条件は、2.2.1 と同様

2.3 実験方法

2.3.1 分析試料の調製

試料をクロロホルムに溶解し、約 1.0 mg/mL の測定溶液を作成した。この測定溶液をGC/MS（EI 法）及びGC/MS（CI 法）による検討に使用した。

2.3.2 TFA 誘導体化

試料約 0.1 mg に 100 μL のアセトニトリル及び 100 μL の無水トリフルオロ酢酸を加え、60 °C の乾燥機中で 20 分間加温した後、85 °C のホットプレート上で蒸発乾固させた。得られた残渣をアセトニトリルに溶解させ、約 1.0 mg/mL の測定溶液を作成した。

2.3.3 EI 法を用いた熱分解を抑制するGC/MSの条件検討

2.3.1 で調製した各試料について、2.2.1 の条件から注入口温度、カラム温度及びインターフェース温度について変更することで、熱分解が抑制できるか否かを検討した。

3. 結果及び考察

3.1 GC/MS（汎用条件）の分析

メチルナフチデート、エチルナフチデート及び3,4-ジクロロメチルフェニデートについて、2.2.1 の条件により得られたトータルイオンクロマトグラムをFig. 2に、それぞれのピークのマスペクトルをFig. 3～5に示す。

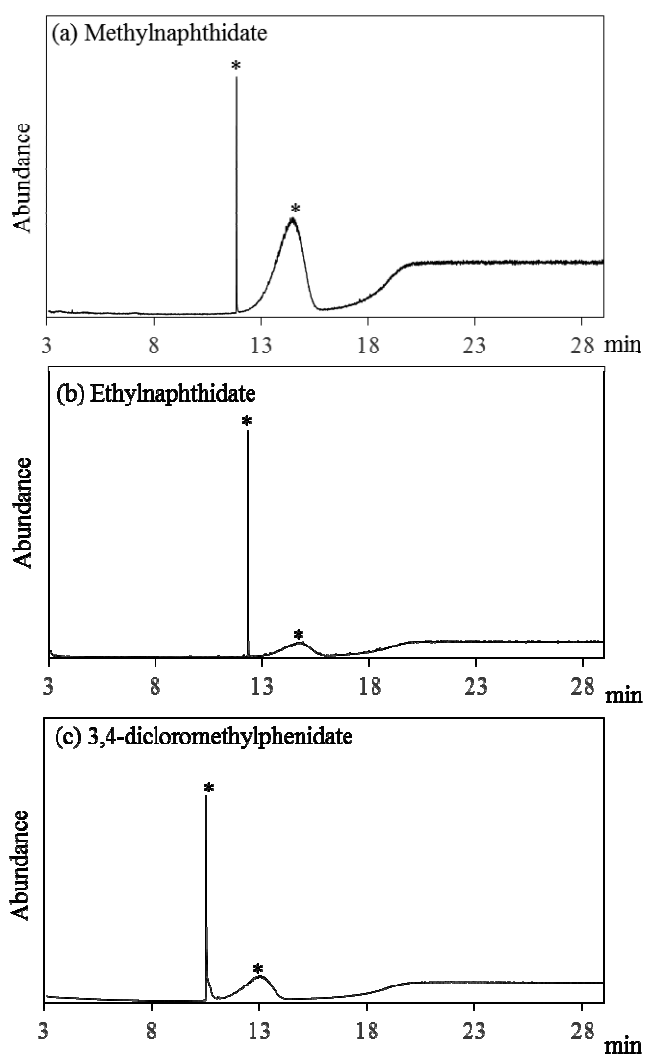


Fig. 2 Total ion chromatograms of (a) Methylnaphthidate, (b) Ethylnaphthidate, and (c) 3,4-dichloromethylphenidate under the GC-MS condition described in 2.2.1.

*decomposition product

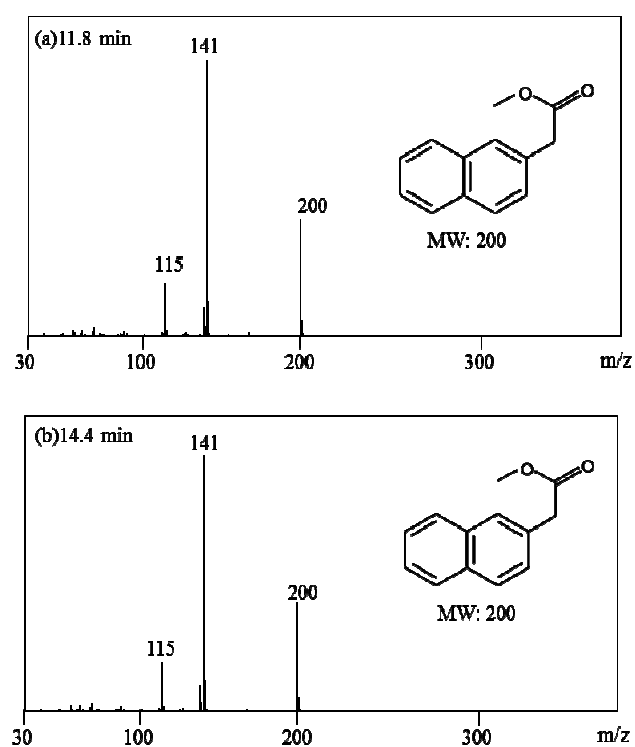


Fig. 3 EI mass spectra of the detected peaks at (a) 11.8 min and (b) 14.4 min in Fig. 2(a)

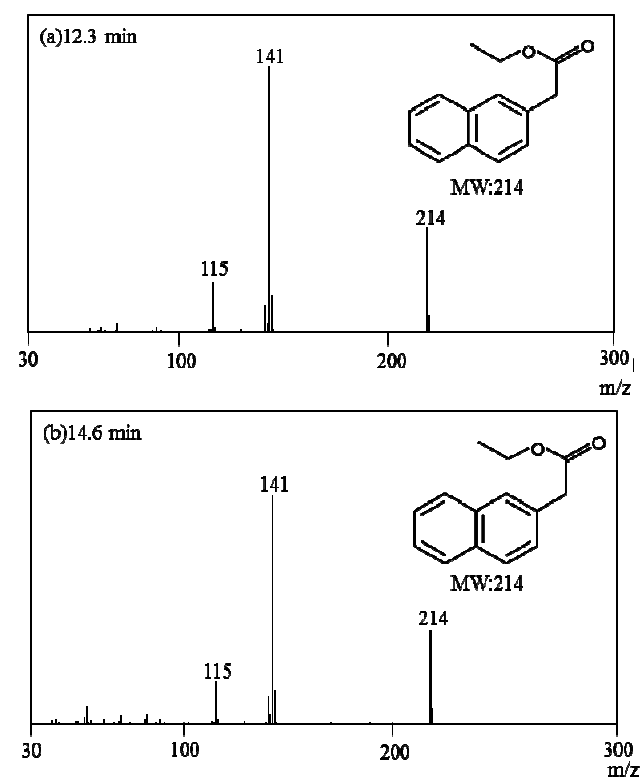


Fig. 4 EI mass spectra of the detected peaks at (a) 12.3 min and (b) 14.6 min in Fig. 2(b)

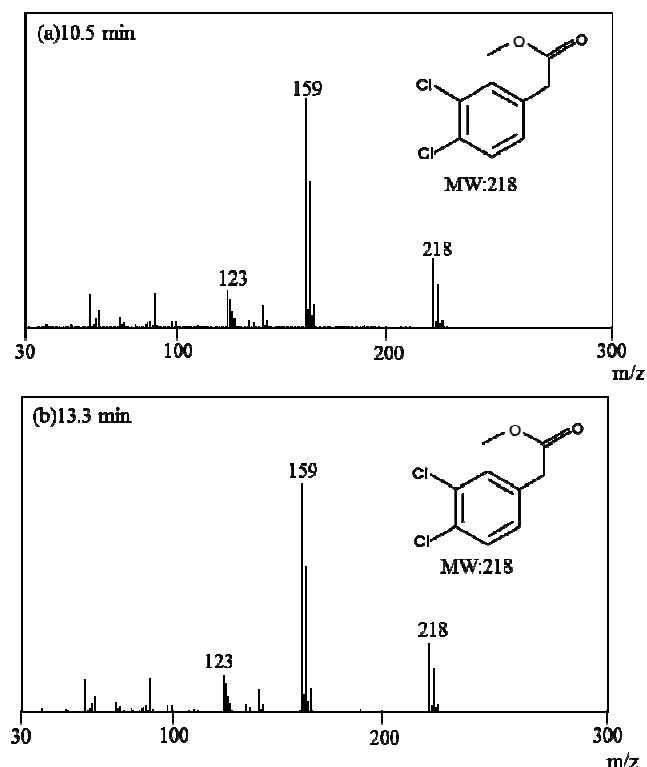


Fig. 5 EI mass spectra of the detected peak at (a) 10.5 min and (b) 13.3 min in Fig. 2(c)

Fig. 2 に示すとおり、いずれも保持時間 10～12 分にシャープなピークと保持時間 14 分付近にブロードな形状のピークが検出され、両ピークから熱分解物と考えられるマススペクトルが得られた。未分解物のピークが検出されなかったことから、メチルナフチデート、エチルナフチデート及び 3,4-ジクロロメチルフェニデートは、いずれも 2.2.1 の条件では完全に熱分解されたと考えられる。

一般的に、GC/MS における熱分解は、物質を気化させるために加熱する注入口で起きやすいと考えられるが、これらの化合物の場合、同一の分解物のピークが異なる保持時間に検出されたことから、注入口における熱分解だけではなく、カラム内においても熱分解が起きていると考えられる。

3.2 熱分解を抑制する GC/MS の条件検討

3.2.1 EI 法による分析条件の検討

3.2.1(a) メチルナフチデートにおけるカラム昇温条件の検討

前記 3.1 の結果から、カラム内において熱分解が起きていると考えられることから、注入口温度を一定にしてカラム昇温条件を変更することで熱分解を抑制することができるかを検討した。

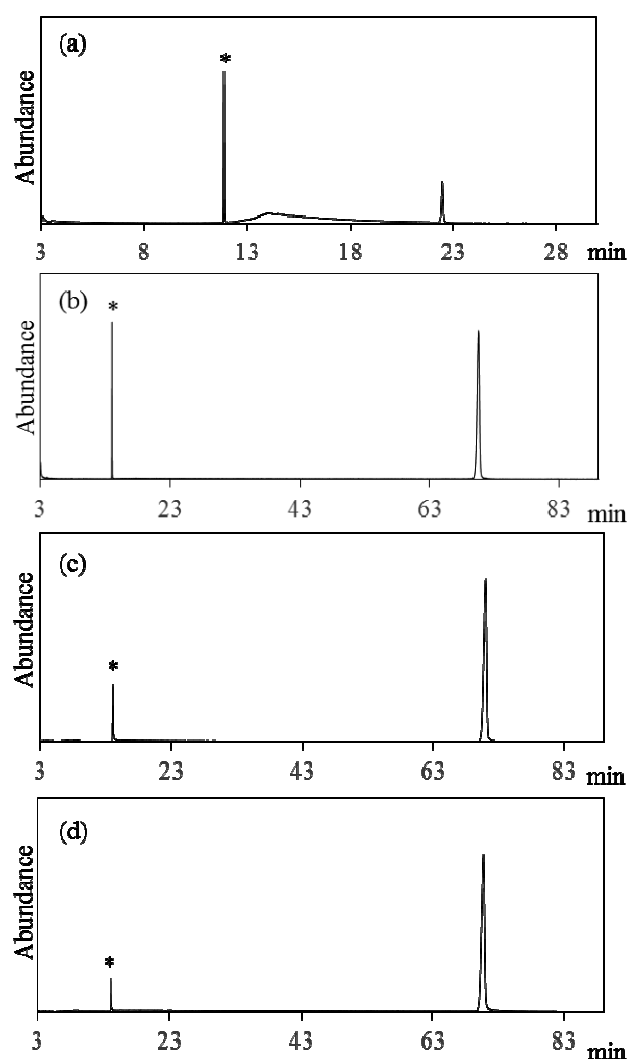


Fig. 6 Total ion chromatograms of Methylphenylacetate under the following GC-MS conditions:

- (a) Injection port: 280 °C, Column: 50 °C (1 min hold)-(15 °C/min)-210 °C (20 min hold);
 (b) Injection port: 280 °C, Column: 50 °C (1 min hold)-(15 °C/min)-170 °C (80 min hold);
 (c) Injection port: 170 °C, Column: 50 °C (1 min hold)-(15 °C/min)-170 °C (80 min hold); and
 (d) Injection port: 160 °C, Column: 50 °C (1 min hold)-(15 °C/min)-170 °C (80 min hold).

カラムの最高温度を 320 °C から 210 °C に下げ、カラム昇温条件を 50 °C (1 min hold) → (15 °C/min) → 210 °C (20 min hold) にして測定した結果を Fig. 6 (a) に示す。トータルイオンクロマトグラムにおいて、3.1 の結果と同様の分解物が、保持時間 11.8 分のシャープなピーク及び保持時間 14 分付近のブロードなピークとして検出されたが、これらの分解物のピークに加え、新たに保持時間 22.4 分にピークが検出された。このピークは、そのマススペクトルからメチルナフチデートのピークと考えられる (Fig. 9(a))。この結果から、カラムの最高温度を下げることは、メチルナフチデートの熱分解を抑制する手法として有効であると考えられる。

更にカラム最高温度を 210 °C から 170 °C に下げ、昇温条件を 50 °C (1 min hold) → (15 °C/min) → 170 °C (80 min hold) に変

更して測定した結果を Fig. 6 (b) に示す。トータルイオンクロマトグラムにおいて、保持時間 14.1 分に分解物のシャープなピークが検出されたが、ブロードな形状の分解物のピークは消失し、メチルナフチデートのピークを保持時間 70.7 分に分解物のピークと同程度の強度で検出することができた。

3.2.1(b) メチルナフチデートにおける注入口温度の検討

前記 3.2.1(a) の検討の結果、カラム最高温度を 170 °C にすることでブロードな分解物のピークは消失したものの、Fig. 6 (b) における 14.1 分の分解物のピークは、依然として検出された。このピークは、注入口での熱分解によるものと考えられることから、注入口温度を変更することで、さらに熱分解を抑制することができるかを検討した。

カラム昇温条件を 3.2.1 で得られた最適条件 50 °C (1 min hold) → (15 °C/min) → 170 °C (80 min hold) とし、注入口温度を 280 °C から 170 °C に下げて測定した結果を Fig. 6 (c) に示す。注入口温度が 280 °C のときの結果と比較すると、保持時間 70.7 分のメチルナフチデートのピークに対する保持時間 14.1 分の分解物のピーク強度比が減少したことから、注入口温度を下げることは、メチルナフチデートの熱分解を抑制する手法として有効であると考えられる。

注入口温度をさらに 160 °C に下げて測定した結果を Fig. 6 (d) に示す。注入口温度が 170 °C のときの結果と比較すると、保持時間 70.7 分のメチルナフチデートのピークに対する保持時間 14.1 分の分解物のピーク強度比がさらに減少した。しかし、注入口温度を 150 °C に下げた際には、注入口にメチルナフチデートの残留分が確認されたため、注入口温度 150 °C 以下は不適であると判断した (data not shown)。

以上のことから、完全に熱分解を抑制することはできないものの、注入口温度を 160 °C に下げることで、注入口における熱分解をほぼ抑制することができることが分かった。

3.2.1(c) エチルナフチデートにおける分析条件の検討

3.2.1(a) 及び (b) で検討したメチルナフチデートの分析条件 (50 °C (1 min hold) → (15 °C/min) → 170 °C (80 min hold), 注入口温度 160 °C) でエチルナフチデートを分析した結果を Fig. 7 (a) に示す。メチルナフチデートの場合と同様に、エチルナフチデートのピークを検出することができた。

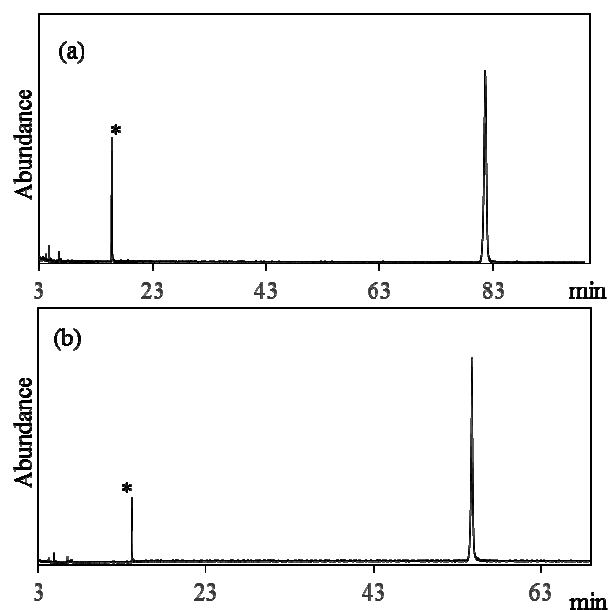


Fig. 7 Total ion chromatograms of Ethylnaphthidate under the following GC-MS conditions:

- (a) Injection port: 160 °C, Column: 50 °C (1 min hold)-(15 °C/min)-170 °C (90 min hold); and
(b) Injection port: 160 °C, Column: 50 °C (1 min hold)-(15 °C/min)-180 °C (60 min hold).

一方で、エチルナフチデートのピークの保持時間は 81.5 分と検出までに比較的長時間を要したことから、分析時間短縮のためカラム昇温条件を 50 °C (1 min hold) → (15 °C/min) → 180 °C (60 min hold) に変更して測定したところ、Fig. 7 (b) に示すとおり、ブロードな形状の分解物のピークが確認されず、エチルナフチデートのピークを保持時間 54.8 分に検出した。しかしながら、カラム昇温条件を 50 °C (1 min hold) → (15 °C/min) → 190 °C (60 min hold) とした際には、ブロードな形状の分解物のピークがわずかに確認されたことから、カラム最高温度 190 °C は不適であると判断した (data not shown)。

また、注入口温度に由来する分解物のピークを検出したことから、注入口温度を 160 °C から 150 °C に下げて測定した結果、注入口に残留分が確認されたため、注入口温度 150 °C 以下は不適であると判断した (data not shown)。

3.2.1(d) 3, 4-ジクロロメチルフェニデートにおける分析条件の検討

3.2.1(a) 及び (b) で検討したメチルナフチデートの分析条件 50 °C (1 min hold) → (15 °C/min) → 170 °C (80 min hold), 注入口温度 160 °C を参考に 3, 4-ジクロロメチルフェニデートを分析した結果を Fig. 8 (a) に示す。メチルナフチデートの場合と同様に、3, 4-ジクロロメチルフェニデートのピークを検出した。

一方で、微弱でブロードな形状の分解物ピークを検出したことから、カラム昇温条件を 50 °C (1 min hold) → (15 °C/min) → 150 °C (90 min hold) とし測定したところ、Fig. 8 (b) に示すように、ブロードな形状の分解物ピークが確認されず、3, 4-ジクロロメチルフェニデートのピークを保持時間 81.7 分に検出した。

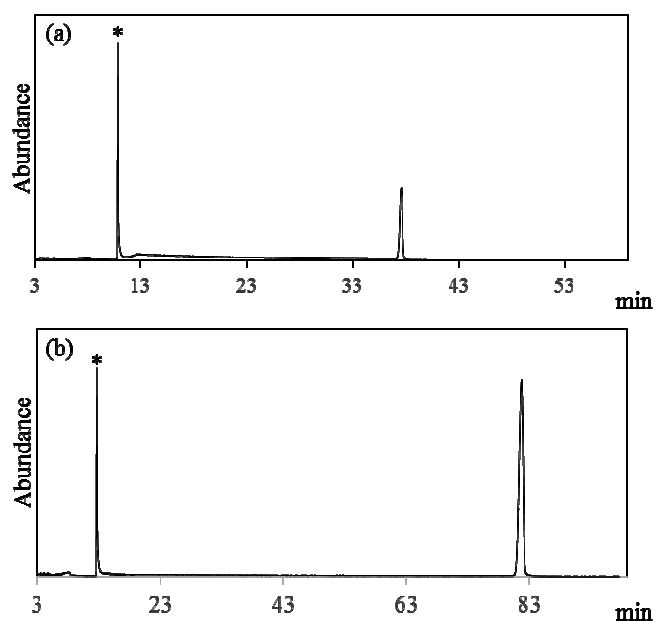


Fig. 8 Total ion chromatograms of 3, 4-dichloromethylphenidate under the following GC-MS conditions:

- (a) Injection port: 160 °C, Column: 50 °C (1 min hold)-(15 °C/min)-170 °C (50 min hold); and
 (b) Injection port: 160 °C, Column: 50 °C (1 min hold)-(15 °C/min)-150 °C (90 min hold).

また、エチルナフチデートと同様に、注入口温度に由来する分解物のピークを検出したことから、注入口温度を 160 °C から 150 °C に下げた結果、注入口に残留分が確認されたため、注入口温度 150 °C 以下は不適であると判断した (data not shown)。

3.2.2 EI 法及び CI 法を用いたメチルナフチデート、エチルナフチデート及び 3,4-ジクロロメチルフェニデートのマススペクトル

前記 3.2.1 で検討した各試料の熱分解を抑制する GC/MS の温度条件について、その結果を Table 1 に示す。これらの条件により測定して得られたメチルナフチデート、エチルナフチデート及び 3, 4-ジクロロメチルフェニデートのピークの EI 法によるマススペクトルを Fig. 9 に、CI 法によるマススペクトルを Fig. 10 に示す。

Table 1 GC/MS conditions for inhibition of thermal decomposition

Sample name	Injection port temperature	Column temperature	Interface temperature
Methylnaphthidate	160 °C	50 °C(1min hold)→(15 °C/min)→170 °C(80 min hold)	170 °C
Ethlynaphthidate	160 °C	50 °C(1min hold)→(15 °C/min)→180 °C(60 min hold)	180 °C
3,4-dichloromethylphenidate	160 °C	50 °C(1min hold)→(15 °C/min)→150 °C(90 min hold)	150 °C

*Other GC/MS conditions (column, split rate, injection amount, ion source temperature, quadrupole temperature, carrier gas, ionization method) are same as 2.2.1.

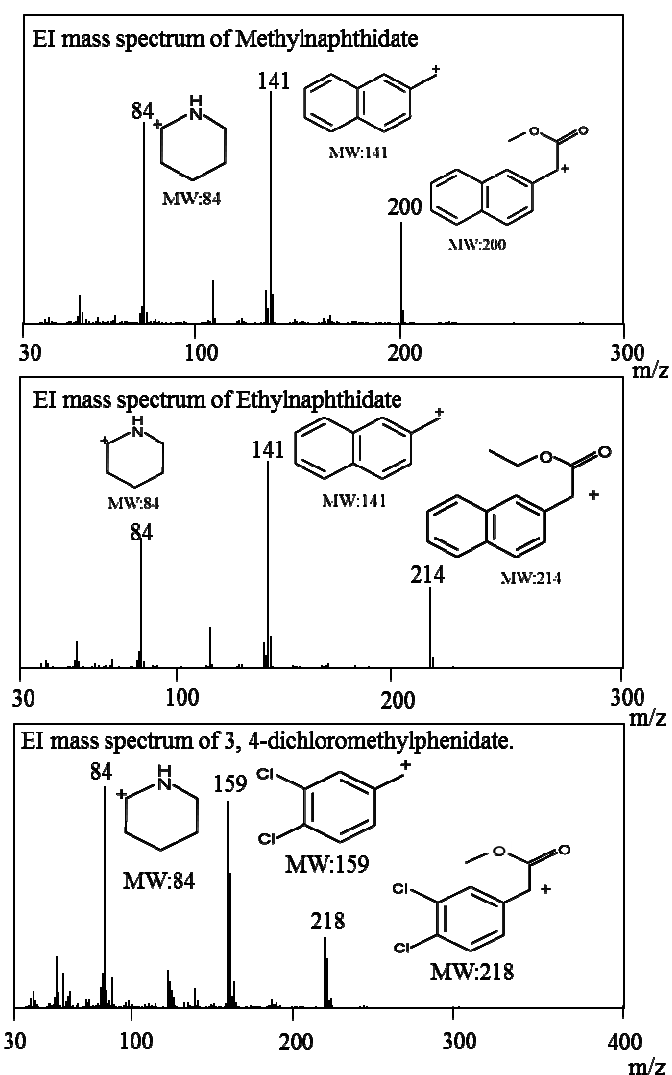


Fig. 9 EI mass spectra of (a) Methylnaphthidate, (b) Ethlynaphthidate, and (c) 3, 4-dichloromethylphenidate.

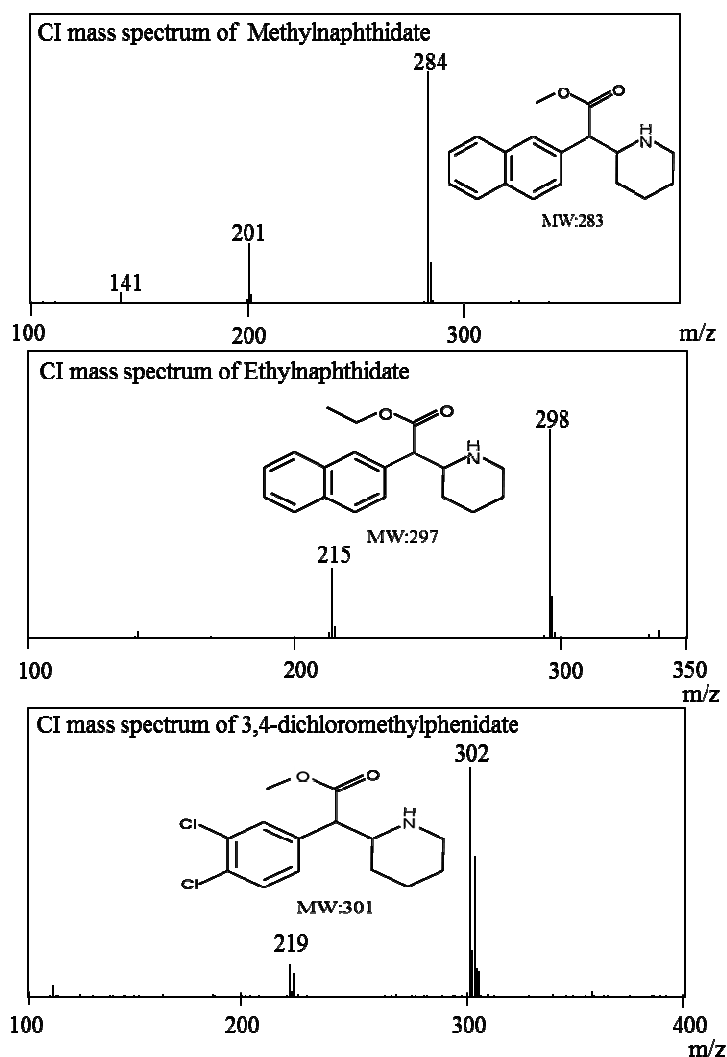


Fig. 10 CI mass spectra of (a) Methylnaphthidate, (b) Ethylnaphthidate, and (c) 3,4-dichloromethylphenidate.

EI 法では、メチルナフチデート、エチルナフチデート及び3,4-ジクロロメチルフェニデート由来と考えられるフラグメントイオンを検出し、特に分解物では検出できなかったピペリジンに由来すると考えられる質量電荷比 84 のフラグメントイオンを検出した。

また、CI 法では、メチルナフチデート、エチルナフチデート及び3,4-ジクロロメチルフェニデートのプロトン付加体 $[M+H]^+$ と一致する質量電荷比をベースピークとするマススペクトルが得られた。

3.3 TFA 誘導体化物の GC/MS 分析

TFA 誘導体化は、熱に不安定な化合物を GC で分析する際に、熱分解を抑制する目的で使用される一般的な手法であり、メチルナフチデート及びエチルナフチデートについては National Forensic Laboratory の Analytical Report により、3,4-ジクロロメチルフェニデートについては Tsujikawa らにより報告されている 7) ~9)。そこで、3.2 の結果と比較するためにメチルナフチデート、エチルナフチデート及び3,4-ジクロロメチルフェニデートの TFA 誘導体化物の測定を行った。

各 TFA 誘導体化物のトータルイオンクロマトグラムを Fig. 11 に、各々で検出されたピークのマススペクトルを Fig. 12 に示す。

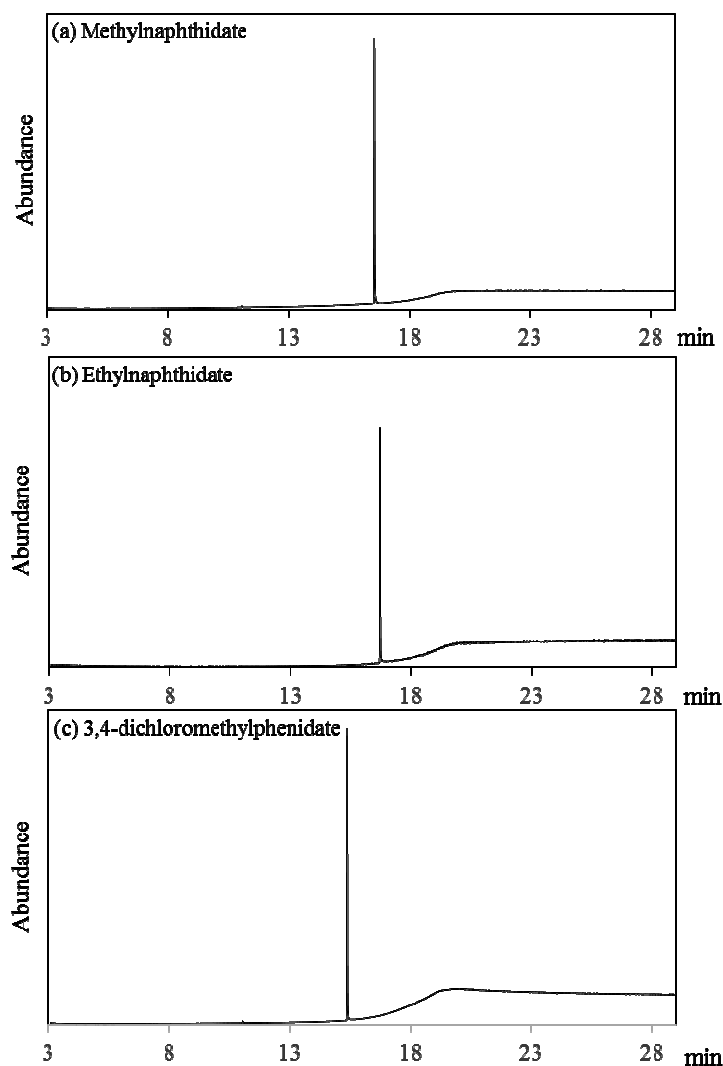


Fig. 11 Total ion chromatograms of TFA derivatives from (a) Methylnaphthidate, (b) Ethylnaphthidate, and (c) 3,4-dichloromethylphenidate under the GC-MS conditions described in 2.2.1.

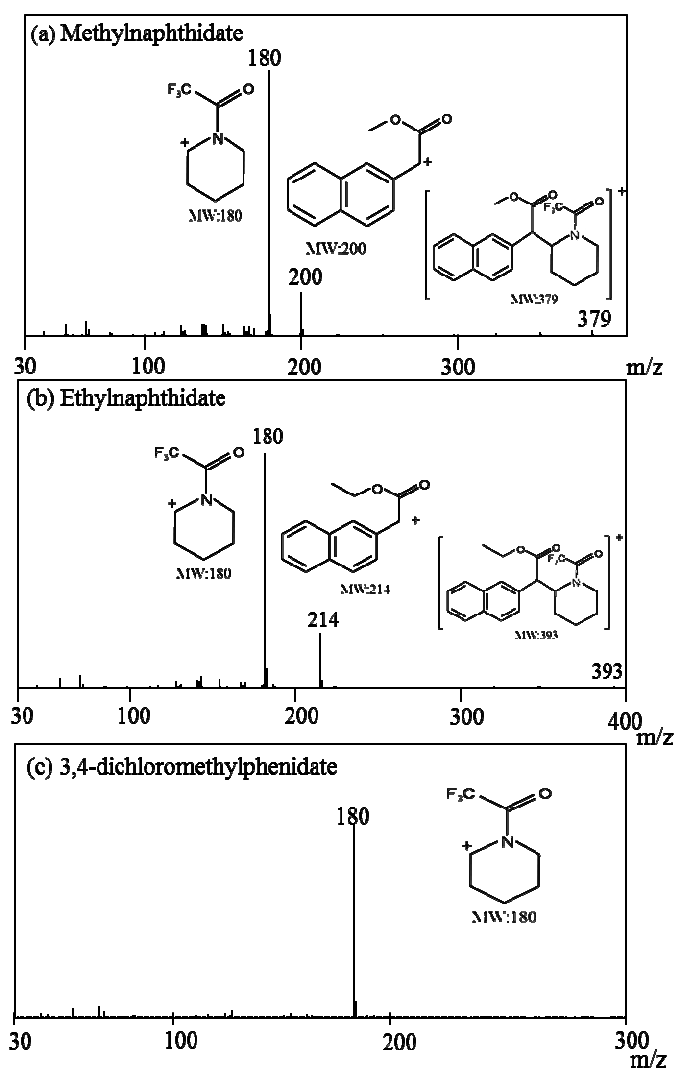


Fig. 12 EI mass spectra of TFA derivatives from (a) Methylnaphthidate, (b) Ethylnaphthidate, and (c) 3,4-dichloromethylphenidate

いずれの化合物においても、1本のピークが検出され、そのピークのマススペクトルからは、TFA誘導体由来のフラグメントイオンが検出された。また、メチルナフチデート及びエチルナフチデートについてはTFA誘導体の分子イオンが検出された。

3.4 熱分解を抑制する分析条件とTFA誘導体化の比較

3.4.1 測定時間及びピークの比較

GC-MSの測定に要する時間は、熱分解を抑制する分析条件ではピークの検出までにメチルナフチデートでは約70分、エチルナフチデートでは約55分、3,4-ジクロロメチルフェニデートでは約80分を要したのに対して、TFA誘導体化では15～17分程度でピークを検出することができた。

また、TFA誘導体化では、熱分解を抑制する分析条件と比較してよりシャープなピークを得ることができた。

以上の比較から、TFA誘導体化は、より短時間で測定が可能

であり、低濃度サンプル等の高感度での分析が必要な場合において適した手法であると考えられる。

3.4.2 マススペクトル情報の比較

TFA誘導体化によるフェニデート系物質のマススペクトルは、いずれもピペリジンのTFA誘導体由来の質量電荷比180のフラグメントイオンがベースピークとして得られた。またメチルナフチデート及びエチルナフチデートでは、六員環遷移状態を経た β 開裂によるフラグメントイオン（メチルナフチデートについては200、エチルナフチデートについては214）が有効なフラグメントイオンとして得られたが、3,4-ジクロロメチルフェニデートでは得られなかった。分子イオンについては、メチルナフチデート及びエチルナフチデートでは微弱ながら検出され、3,4-ジクロロメチルフェニデートでは検出されなかった。

一方、熱分解を抑制する分析条件で得られた誘導体化していないフェニデート系物質のマススペクトルにおいては、いずれもピペリジンに由来する質量電荷比84のフラグメントイオン、六員環遷移状態を経た β 開裂によるフラグメントイオン（メチルナフチデートについては200、エチルナフチデートについては214、3,4-ジクロロメチルフェニデートについては218）に加えて、芳香環に由来するフラグメントイオン（メチルナフチデート及びエチルナフチデートについてはナフチル基由来の質量電荷比141、3,4-ジクロロメチルフェニデートについてはジクロフェニル基由来の質量電荷比159のフラグメントイオン）についても有効なフラグメントイオンとして得られた。分子イオンについては、いずれの物質においても検出されなかった。

二つの手法によるマススペクトル情報を比較すると、熱分解を抑制する分析条件では、より詳細な化学構造についての情報がマススペクトルから得られることから、これらの物質を同定する際には、より確度の高い手法であると考えられる。特に、芳香環に由来するフラグメントイオンは、芳香環の置換基を示す情報であり、エチルフェニデート（指定薬物）と4-メチルメチルフェニデート（指定薬物）のような構造異性体関係にある物質を識別するうえで重要な情報となる。今後本研究で用いた3物質と構造異性体関係にある物質が、新たに発見された場合に、これらを識別するために必要な情報となることが考えられる。

4. 要 約

フェニデート系物質のうちメチルナフチデート、エチルナフチデート及び3,4-ジクロロメチルフェニデートの3物質については、熱分解のためGC/MSによる同定が困難である。熱分解を抑制する手法の一つであるTFA誘導体化を用いて、GC/MSによる同定が可能になることは知られているが、本研究では、熱分解を抑制する分析条件を検討し、TFA誘導体化することなくGC/MSによる同定が可能か否かを検討した。

これら3物質は、従来のGC/MSの温度条件では、カラム内と注入口内において熱分解を起こしていることが分かったため、カラム昇温条件と注入口温度条件を検討した結果、これら3物質全てについて、熱分解を抑制することに成功し、未分解物を有効な

主ピークとして検出することができた。それらのマススペクトルからは、それぞれの化学構造に由来するフラグメント情報を得ることができた。このことから、3 物質それぞれについて、熱分解を抑制する分析条件により、GC/MS による同定が可能であることがわかった。

また、上記の手法と TFA 誘導体化について比較した結果、TFA

誘導体化は、測定時間の短縮及び高感度での検出という点で有効な手法であることが分かった。一方、熱分解を抑制する分析条件では、より詳細な化学構造についての情報をマススペクトルから得ることができることから、これらの物質を同定する際には、より確度の高い手法であると考えられる。

文 献

- 1) “日本医薬品集医薬品2013年版”，P. 2875（2013），（日本医薬品集フォーラム）。
- 2) 薬事・食品衛生審議会医薬品第一部会議事録，資料2（2007），（厚生労働省）。
- 3) 曾根一郎，猪狩もえ，池田和隆：精神神経学雑誌，**110**，941（2008）。
- 4) Advisory Council on the Misuse of Drugs, Methylphenidate-based NPS: A review of the evidence of use and harm (2015.3.31)
- 5) B.L. Flamm, J. Gal : *Biochemical Mass Spectrometry*, **2**, 281 (1975).
- 6) H. Klare, J.M. Neudörfl, S.D. Brandt, E. Mischler, S. Meier-Giebing, K. Deluweit, F. Westphal, T. Laussmann: *Drug testing and analysis*, **9**, 423 (2017).
- 7) National Forensic Laboratory: Analytical Report HDEP-28 (2015.8.19)
- 8) K. Tsujikawa, Y.T. Iwata, M. Inoue, S. Higashibayashi, H. Inoue: *Forensic Science International*, **251**, e15-e17 (2015)
- 9) National Forensic Laboratory: Analytical Report HDMP-28 (2016.2.11)