

マルチモードカラムを用いた簡便な危険ドラッグスクリーニング法の開発

武田章弘* 田上貴臣* 浅田安紀子* 土井崇広*
梶月由香* 川口正美* 沢辺善之*

高速液体クロマトグラフィー／フォトダイオードアレイ検出器によるマルチモードカラムを用いた危険ドラッグスクリーニング法を開発した。その結果、従来実施していたスクリーニング法に比べ、分析時間を 78 分から 35 分に短縮し、分析の準備、後処理についても簡略化することができた。

キーワード：マルチモードカラム、高速液体クロマトグラフィー／フォトダイオードアレイ検出器、新規精神活性物質

Key words : multi-mode-column, high performance liquid chromatography/ photodiode array detector (HPLC/PDA), new psychoactive substances

大阪府では、危険ドラッグの流通実態の把握及び取り締まりを行うために大阪府内及びインターネット上で流通する危険ドラッグ製品を買い上げ、その成分分析を行っている。危険ドラッグの分析においては、検体に含まれる成分を推定するスクリーニング法のひとつとして、高速液体クロマトグラフィー／フォトダイオードアレイ検出器 (HPLC-PDA) を用いている。危険ドラッグの分析では、合成カンナビノイド系などの疎水性化合物とカチノン系などの塩基性化合物を同時に分析する必要があることから、現在使用している方法 (従来法) では、移動相にドデシル硫酸ナトリウム (SDS) を使用しているため、分析に長時間を要することに加え、移動相の調製やカラムの洗浄等の後処理に多くの時間と手間を要している。

そこで HPLC-PDA によるスクリーニングの迅速化及び簡便化を目的として、SDS を使用することなく、疎水性化合物および塩基性化合物の同時分析が期待できる、オクタデシルシリル基 (ODS) とスルホン酸基の双方を備えたマルチモードカラムによる危険ドラッグのスクリーニング法の検討を行った。

*大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部 薬事指導課
Development of a Screening Analysis for New Psychoactive Substances with a Multi-mode-column
by Akihiro TAKEDA, Takaomi TAGAMI, Akiko ASADA,
Takahiro DOI, Yuka SATSUKI, Masami KAWAGUCHI
and Yoshiyuki SAWABE

実験方法

1) 標準物質及び試薬

危険ドラッグの標準物質は市販品、国立医薬品食品衛生研究所、大阪府警察科学捜査研究所、及び東京都健康安全研究センターからの分与品、または当研究所で合成したものを使用した。その他試薬類はすべて市販品を用いた。

2) 検体

検体は 2011 年から大阪府が実施している危険ドラッグ買上調査で買い上げた危険ドラッグ製品を用いた。

3) 装置

HPLC-PDA は Waters 製 Alliance HPLC e2695/2998 を使用した。

4) 試料溶液の調製

検体の性状ごとに以下の方法で試料原液を調製した。
液体：メタノールで 100 倍希釈して試料原液とした。
粉末：メタノールで 1 mg/mL 相当になるように溶解した。

植物片：検体約 50 mg をとり、メタノール 2.5 mL を加え、ボルテックスミキサーで攪拌後、0.45 μ m のメンブランフィルターでろ過した。

また、分析に供する際は、液体検体、粉末検体、植物片検体の試料原液を 70% アセトニトリルでそれぞ

れ 10 倍、100 倍、10 倍に希釈した液を試料溶液とした。

5) 標準溶液の調製

標準品を約 0.1 mg/mL となるようにメタノールに溶かした液を標準原液とし、 -20°C で保管した。分析に供する際は、標準原液を 70% アセトニトリルで 10 倍希釈した液を標準溶液とした。

6) 測定条件

新規分析法

移動相：5.0 mM リン酸二水素カリウム溶液／5.0 mM リン酸水素二カリウム溶液／アセトニトリル (3:3:14)

カラム：カプセルパック CR 1:4、150 mm×4.6 mm、5 μm (資生堂)

カラム温度： 40°C

注入量：50 μL

流量：1 mL/min

測定波長：200-400 nm

従来法²⁾

移動相 A：アセトニトリル／水／リン酸混液 (300:700:1、SDS 2.8 g/L 含有)

移動相 B：アセトニトリル／水／リン酸混液 (700:300:1、SDS 2.8 g/L 含有)

カラム：L-columnODS、150 mm×4.6 mm、5.0 μm (化学物質評価研究機構)

カラム温度： 40°C

注入量：50 μL

流量：1 mL/min

グラジエント条件：0-10 min (A/B：75/25) → 30 min (A/B：10/90)

※ 合成カンナビノイド系または上記のグラジエント条件では化合物が溶出しない場合は以下のように条件を変更した。グラジエント条件：0-10 min (A/B: 75/25) → 30-90 min (A/B: 10/90)

測定波長：200-400 nm

結果

1) マルチモードカラムによる分析の条件検討

マルチモードカラムにはカプセルパック CR (資生堂、150 mm×4.6 mm、5 μm) を用いたが、当該カラムは ODS 基とスルホン酸基の充てん比率の違いにより 3 種類が存在する。そこで、カチノン系化合物などの塩基性化合物の保持が良好になることを期待して、スルホン酸基の充てん比率が最も高い CR1:4 を選択した。

検討の際に使用した対象成分はカチノン系から 1-(2-fluorophenyl)-2-(methylamino)propan-1-one (2-FMC)、1-phenyl-2-(pyrrolidin-1-yl)octan-1-one (PV-9)、合成カンナビノイド系から N-(1-amino-3-methyl-1-oxobutan-2-yl)-1-(5-fluoropentyl)-1H-indazole-3-carboxamide (5F-AB-PINACA)、naphthalen-1-yl[4-(pentyl)ox)naphthalen-1-yl]methanone (CB-13)、フェネチルアミン系から 1-(4-methylphenyl)propane-2-amine (4-MA)、トリプタミン系から N-ethyl-N-isopropyl-5-methoxytryptamine (5-MeO-EIPT)、ピペラジン系から 1-[4-bromo-2,5-dimethoxyphenyl)methyl]-piperazine (2CB-BZP) を選択した (図 1)。

移動相の有機溶媒比率は、従来法において最も溶出の遅かった合成カンナビノイド系化合物 CB-13 が 60 分以内に溶出する 70% に固定し、アイソクラティック分析を行った。リン酸二水素カリウム水溶液及びリン酸水素二カリウム水溶液とアセトニトリルを混合し、pH 及び塩濃度の異なる移動相による対象成分の保持時間と分離を検討した。

その結果を図 2 に示した。5F-AB-PINACA、CB-13 はともに、移動相の pH 及び塩濃度の影響を受けず、一定の保持時間を示した。4-MA、5-MeO-EIPT、2CB-BZP は pH の上昇に伴い、保持時間が短縮し、塩濃度の低下に伴い、保持時間が長くなった。2-FMC もまた同様の傾向を示したのに対し、PV-9 は pH の上昇に伴い、保持時間が長くなった。

以上の結果、CB-13 以外の成分が 15 分以内に溶出し、カチノン系 2 化合物並びに 5F-AB-PINACA 及び 2-FMC の分離がそれぞれ良好であった、pH 6.5 および塩濃度 5 mM を分析条件として採用した。なお、当該条件下における各成分のピーク形状に問題は認められなかった。

2) 従来法とマルチモードカラムによる分析法の比較

1) で確定した分析条件と SDS を使用する従来の分析条件の比較を危険ドラッグ成分 260 化合物 (カチノン系 75 化合物、合成カンナビノイド系 101 化合物、フェネチルアミン系 43 化合物、トリプタミン系 10 化合物、ピペラジン系 6 化合物、その他 25 化合物) を対象に比較した。その結果、従来法では全成分の溶出に 78 分を要した。一方、マルチモードカラムによる分析法では 35 分で全成分を溶出することが可能であった (図 3)。

3) マルチモードカラムによる危険ドラッグ検体の分析

実際に大阪府下で買い上げられた危険ドラッグ 3 検体 (液体状、粉末状、植物片それぞれ 1 検体) を、マルチモードカラムによる分析法で分析した。その結果、検体中の夾雑物による妨害は確認されなかった。また、検体中の危険ドラッグ成分は互いに完全に分離された状態で検出され、各成分の保持時間及び吸収スペクトルは標準溶液と一致した (図 4)。

考察

危険ドラッグ検査で実施している HPLC-PDA を用

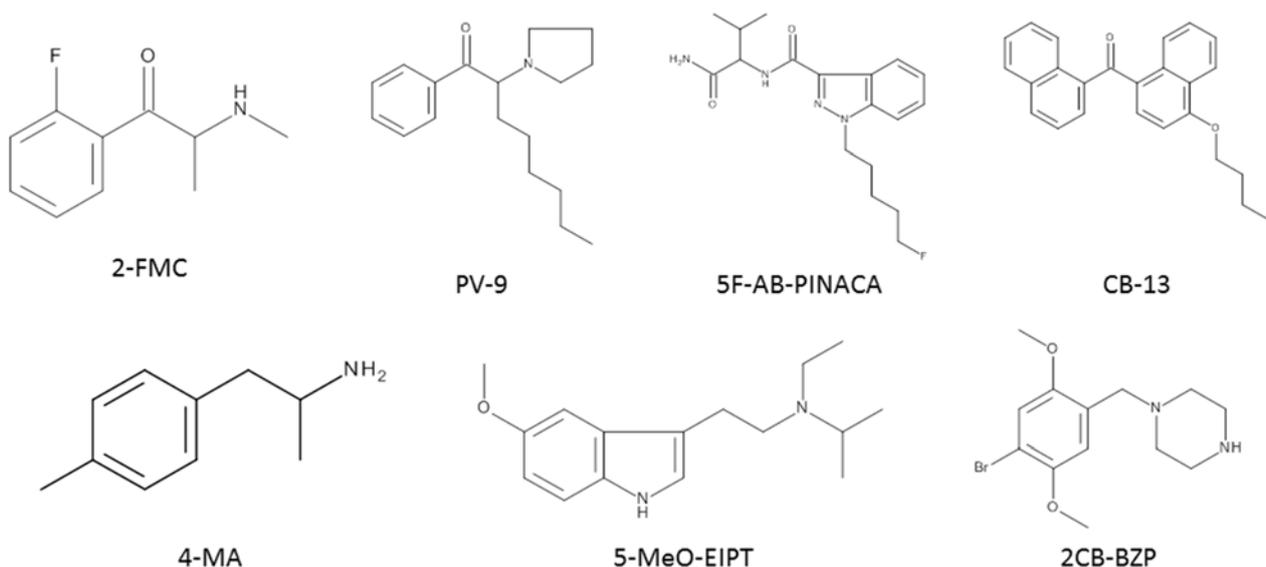


図 1 分析の条件検討に使用した対象成分

いたスクリーニング法において、マルチモードカラムを用いた新規分析法を開発した。その結果、対象とした危険ドラッグ 260 化合物を、従来法と比較して約半分の 35 分で全成分を検出することが可能であった。また、実際の検体についても夾雑物の妨害を受けず、含有成分を全て検出することができた。さらに、従来法で使用していた移動相には SDS を含有していたため、移動相の調製及び分析後のカラム洗浄処理にも多くの時間を費やしていたが、新たな分析法で用いられる移動相は調製及び分析後の処理は容易であり、費やされる時間を削減することが可能となった。

文献

- 1) 武田章弘、浅田安紀子、田上貴臣、土井崇広、皐月由香、川口正美、沢辺善之：平成 23・24 年度の違法ドラッグ買上調査について、大阪府立公衆衛生研究所報、**51**、23-27 (2013)
- 2) 吉田正雄、鈴木仁、高橋美佐子、守安貴子、中嶋順一、金井千恵子、長嶋真知子、瀬戸隆子、清水雅子、濱野朋子、中江大：平成 22 年度指定薬物検出事例、東京都健康安全研究センター年報、**62**、107-114 (2011)

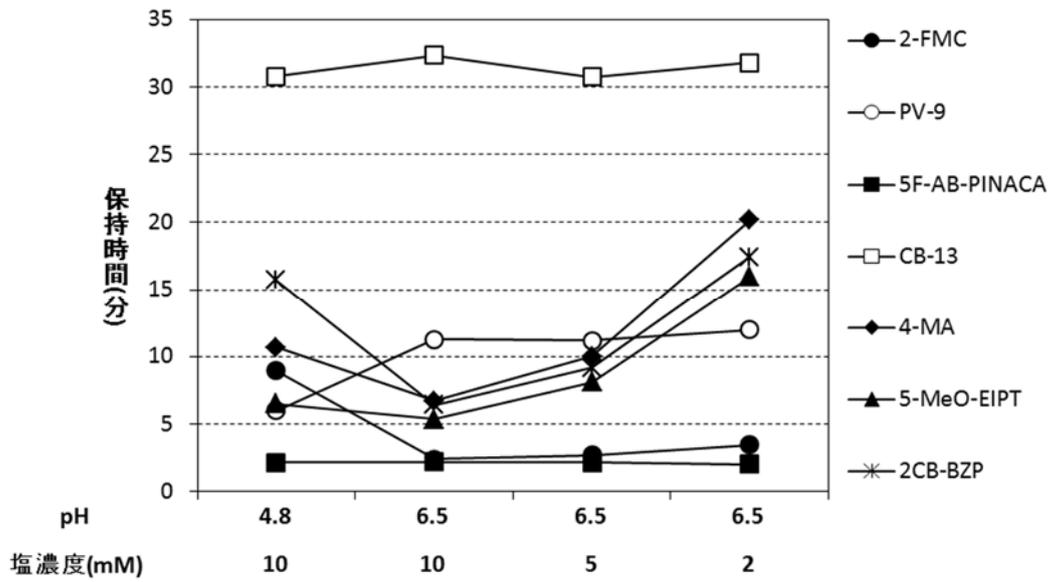


図2 マルチモードカラムによる分析の条件検討の結果

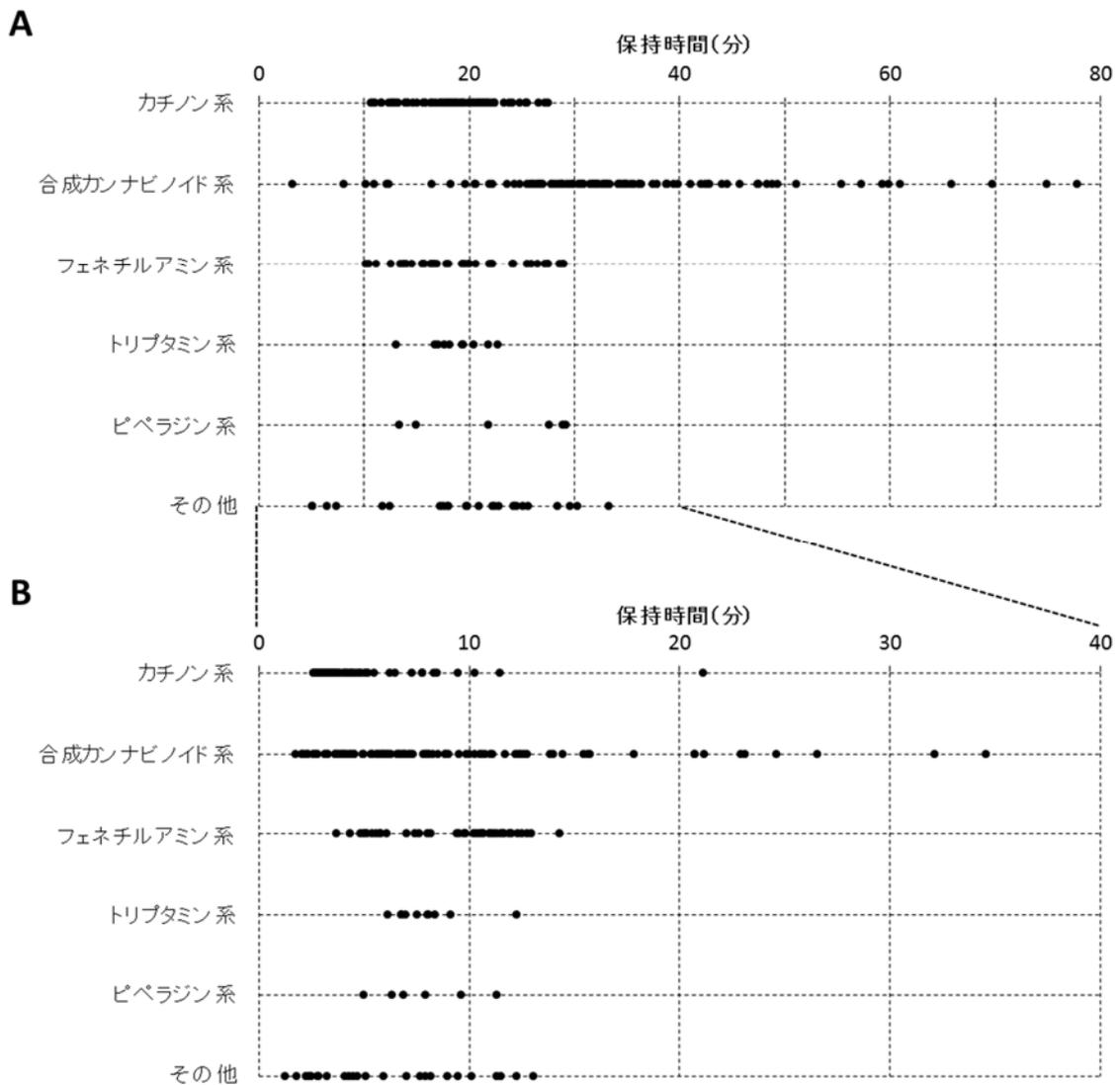


図3 従来法(A)及び新規分析法(B)による危険ドラッグ成分の保持時間の分布

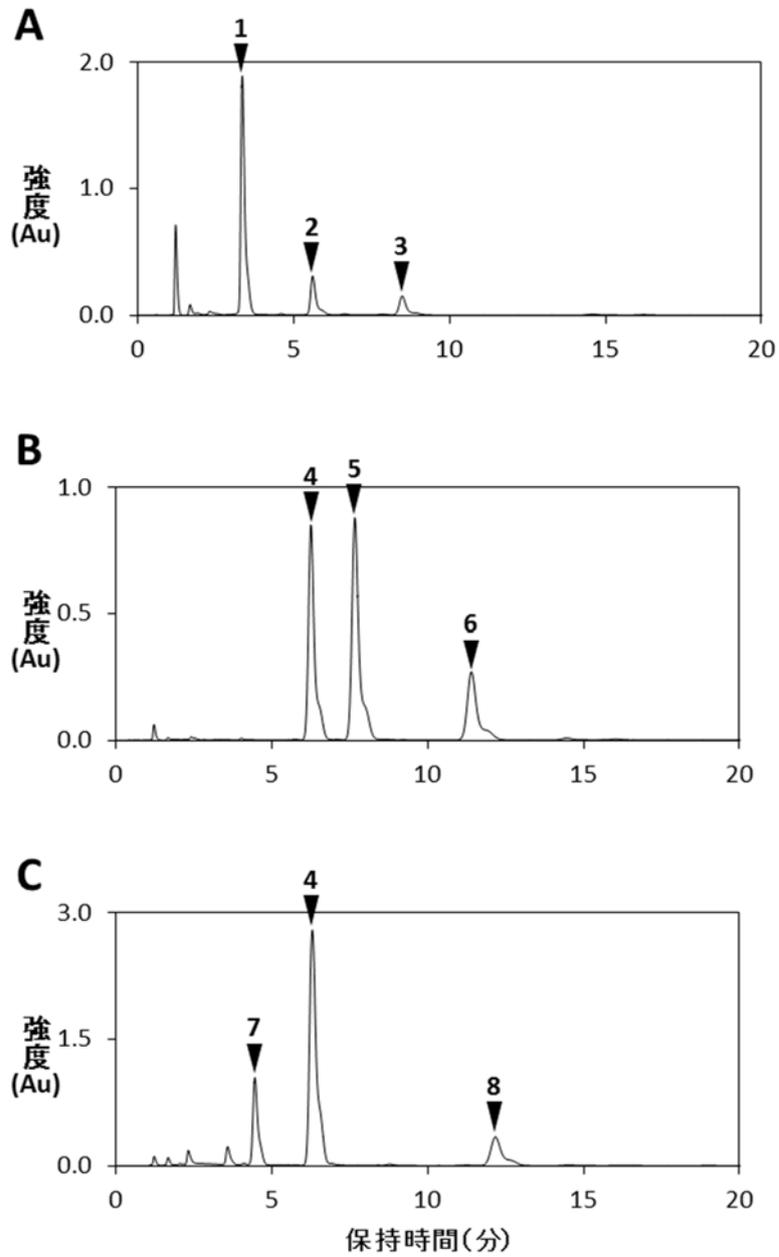


図4 マルチモードカラムによる危険ドラッグ検体の分析

A: 液体, B: 粉末, C: 植物片 (1) α -ethylaminopenttyophenone, (2) 4F- α -PVP, (3) α -PHPP, (4) 5F-MN-18, (5) diclofenine, (6) PV-9, (7) FUB-PB-22, (8) NNE1 indazole analog なお、縦軸は波長範囲 200- 400 nm のカウントを積分した強度を示している。