—技術報告—

固相分散抽出—GC/MS 法によるヒト血清中合成カンナビノイドの分析法の検討

阿久津 守¹, 杉江謙一¹, 斉藤貢一²¹厚生労働省関東信越厚生局麻薬取締部・鑑定課

〒102-8309 東京都千代田区九段南 1-2-1 九段第三合同庁舎17階

²星薬科大学薬品分析化学教室

〒142-8501 東京都品川区荏原 2-4-41

Examination of analytical method for synthetic cannabinoids in human serum by solid-phase dispersive extraction–GC/MSMamoru Akutsu¹, Ken-ichi Sugie¹ and Koichi Saito²*¹Narcotics Control Department, Kanto-Shin'etsu Regional Bureau of Health and Welfare Ministry of Health, Labour and Welfare**1-2-1, Kudan-Minami, Chiyoda-ku, Tokyo, 102-8309, Japan**²Department of Analytical Chemistry, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Hoshi University 2-4-41, Ebara, Shinagawa-ku, Tokyo, 142-8501, Japan**(Received 10 April 2015; accepted 31 August 2015;**Published online 30 September 2015 in J-STAGE DOI: 10.3408/jafst.703)*

In order to prove synthetic cannabinoid abuse, it is necessary to detect intact synthetic cannabinoids or their metabolites from such biological samples as urine or blood. Generally, blood is used as the biological sample because it is usually difficult to detect intact synthetic cannabinoids in urine. Furthermore, a rapid and accurate method for the detection of synthetic cannabinoids in the biological sample is required. Therefore, we examined the applicability of solid-phase dispersive extraction (SPDE)–GC/MS in the rapid detection of intact synthetic cannabinoids in blood. We chose seven synthetic cannabinoids designated as narcotics. To determine the optimum operating conditions for SPDE, we selected Oasis[®] HLB as the solid-phase material for pre-treatment and filled it with 10 mg into the equipment, and acetone as the eluent. The pre-treatment resulted in 80–100% recovery. Furthermore, the pre-treatment time was significantly reduced in SPDE compared to solid-phase extraction (SPE). In addition, the pre-treatment protected operators from unnecessary exposure, reduced cross-contamination of chemicals, and decreased operation complexity. The limit of detection ($S/N > 3$) of JWH-018, JWH-122, cannabicyclohexanol (CCH), XLR-11, and AM2201 was 2.5 ng/mL, and that of JWH-073 and MAM-2201 was 5 ng/mL. The limit of quantification ($S/N > 10$) of JWH-018, JWH-122, CCH, XLR-11, and AM2201 was 5 ng/mL, and that of JWH-073 and MAM-2201 was 10 ng/mL. The average recoveries of the seven synthetic cannabi-

noids from pooled serum samples spiked at 25 and 450 ng/mL were 76.9–107.4% (SD: 6.4–10.7%) and 63.1–89.6% (SD: 3.9–8.2%), respectively. (SPDE)–GC/MS was proven to be a useful method for detecting intact synthetic cannabinoids in blood.

Key words: SPDE, GC/MS, synthetic cannabinoid

緒言

大麻の精神作用成分であるテトラヒドロカンナビノールと類似の作用を示す合成カンナビノイド類を乾燥植物細片に混合したもの（いわゆる危険ドラッグ）が、2004年以降世界各国に広がり、我が国においても「お香」などと標榜して販売されており、健康被害が急増している^{1,2)}。当該合成カンナビノイドについては、新たに出現するたびに順次「指定薬物」に指定されており、また依存性、精神毒性等が確認された物質については麻薬に指定され、一層厳格に規制されている³⁾。さらに、平成26年4月の薬事法改正により、指定薬物に指定されたものは、使用罪の適応を受けることになった。使用罪を立証するためには、尿や血液などの生体試料から指定薬物成分または代謝物を検出することが肝要となる。この際、生体試料から未変化体成分が検出されることが望ましいが、一般に合成カンナビノイド類は、尿中から未変化体の成分を検出することが困難であり^{4,5)}、未変化体を捕らえるためには、血中からの検出が主に行われている^{6,7)}。また生体試料の鑑定試験は迅速かつ正確さが要求される。そこで、本研究においては、合成カンナビノイド類の中でも指定薬物より使用罪の罰則規定が厳しい麻薬に格上げ指定された Fig. 1 に示す7品目（JWH-018, JWH-122, JWH-073, カンナビシクロヘキサノール (CCH), XLR-11, AM2201, MAM-2201）に着目し、血中未変化体の迅速検出法の検討を行うこととした。

従来、血液等生体試料の前処理には固相抽出法 (Solid-phase extraction; SPE) が汎用されており、当該方法は、液-液抽出と比較して、1) 使用する溶媒が少量、2) エマルジョンが生成されないこと、3)

Fig. 1 Chemical structures of seven synthetic cannabinoids.

多数試料の処理が迅速などのメリットがあるが、他方、SPEは、開放系で処理が行われるため、有害化学物質による実験者への曝露やクロスコンタミネーションなどが危惧される。特に薬物乱用者は注射器の共用などから肝炎ウイルスやHIV感染者なども多く、当該感染者の血液については慎重に取扱う必要があり、実験中の血液飛散等がないよう配慮しなければならないが、SPEで主に使用するマニホールドのような開放系の器具などから感染する虞も無視できない。そこで本研究では、前述の問題改善と試験の迅速化を図ることを目的として固相分散抽出法 (Solid-phase dispersive extraction; SPDE) を採用し、その有用性を検討した。また従来、一般に合成カンナビノイド類の血液等生体試料の検出は、比較的感度の良いLC/MS等で行われているが⁶⁻¹¹⁾、法科学分野では、原理の違う複数の技法に

よる分析を実施することが推奨される¹²⁾ことから、LC/MS 等とは別に GC/MS による分析法を検討することとした。

なお、SPDE とは、マイクロチューブ内において、試料液中に固相抽出剤を分散させ、これを遠心ろ過フィルターを用いて、1) 遠心分離により固相と溶媒相をろ別、2) 分散洗浄、3) 分散溶出、の3ステップ操作を行うもので、既存の SPE の欠点を克服した抽出およびクリーンアップ方法であり、血清中のベンゾジアゼピン系薬物やバイコマイシンの検出に応用されている^{13,14)}。本研究では、血清を試料として前記の合成カンナビノイド類について測定を行い、SPDE の適用性を検討した。

材料および方法

1 試料および試薬

凍結ヒト血清は、提出者から適切な同意が得られ、個人情報情報が確実に連結不可能で匿名化されている旨の証明が得られたものをコスモ・バイオ㈱から購入した。JWH-018, JWH-073, JWH-122, AM2201, MAM-2201 および XLR-11 は Cayman Chemical 社から麻薬指定前に購入した。CCH は、麻薬指定前に国立医薬品食品衛生研究所より提供を受けたものを使用した。その他の試薬は試薬特級品を関東化学株式会社から購入した。

2 器具および装置

器具

SPDE で使用する遠心ろ過フィルター（製品名：@ろ過™）およびスクリーバイアル（製品名：キャップチューブ™）は㈱フロンティア・サイエンスから提供されたものを使用した（Fig. 2）。固相抽出剤には Oasis® HLB (30 μm) を用い、Oasis® HLB が充填されたカートリッジは Waters 社から購入した。2 mL のマイクロチューブはワトソン株式会社から購入した。

装置

卓上遠心機：H-36㈱コクサン、超音波洗浄機：VS-F100 アズワン㈱、高速パラレル濃縮装置：TurboVapLV バイオタージ・ジャパン㈱、パーソナル遠心機：CHIBITAN II (10 krpm) メルク㈱

Fig. 2 Photograph of centrifugation filter device used for SPDE.

3 固相懸濁剤の調製

Oasis® HLB カートリッジから取り出した固相剤 100 mg をマイクロチューブに入れ、メタノール 1.0 mL を加えた。このマイクロチューブに @ろ過™ を装着し、フィルター反対側（上部）にも同様にマイクロチューブを装着した。Oasis® HLB を添加したマイクロチューブが下側に位置したままボルテックスミキサーを用いて攪拌し、固相剤をメタノール中に分散させた。直ちにカートリッジを上下逆にして遠心分離 (3,000 rpm, 1 min) し、溶媒をろ別した。溶媒が入ったマイクロチューブを外し、代わって超純水 1.0 mL を入れたマイクロチューブを @ろ過™ に装着し、再び上下逆（Oasis® HLB を添加したマイクロチューブを下向き）にして遠心分離 (3,000 rpm, 1 min) した。Oasis® HLB を添加したマイクロチューブを @ろ過™ から脱着し、攪拌・分散して、100 mg/mL の固相懸濁液を調製した。

4 試料前処理

4-1 血清の除タンパク

各試験対象 7 物質 (250 ng/mL) を添加した血清またはブランク血清 0.5 mL をマイクロチューブに入れ、アセトニトリル 0.5 mL を加えて攪拌し、遠心分離 (10 krpm, 1 min) した。上清を可能な限り採取し、窒素気流下、40℃ で約 0.25 mL まで濃縮し、濃縮液を以下のとおり固相分散抽出した。

4-2 SPDE による前処理操作

@ろ過™ の上部にキャップチューブ™、下部にマイクロチューブを装着し、キャップチューブ™ 側に上記のとおり除タンパク処理をした添加血清またはブランク血清 0.25 mL および固相懸濁液 0.1 mL

(固相剤10 mg 相当)を添加した．ボルテックスミキサーで攪拌し，遠心分離 (3,000 rpm, 1 min) した後，ろ液が入ったマイクロチューブを外し，代わって新たに空のマイクロチューブを@ろ過TMに装着して，キャップチューブTM側に超純水1.0 mLを加えて攪拌し，遠心分離 (3,000 rpm, 1 min × 2) して固相を洗浄した．洗液の入ったマイクロチューブを外し，空のマイクロチューブに再度交換し，溶出溶媒としてアセトン1.0 mLを加えて攪拌し，更に超音波照射 (100 kHz, 1 min) した後，同様に遠心分離 (3,000 rpm, 1 min) した．溶出液は，圧縮気流下で蒸発乾固し，メタノール0.5 mLで再溶解させ，遠心分離 (10 krpm, 1 min) し，上清を GC/MS 用試験溶液とした．

5 GC/MS 条件検討

GC/MS においては，高感度かつ選択性の高い SIM モードを選択し，GC キャピラリーカラム，オープンの昇温温度条件については，国連薬物犯罪事務所が推奨する合成カンナビノイドの分析法¹⁶⁾に準じて至適条件を検討し，次の条件とした．

装置：Agilent 社製7890A GC/5975C MSD

分析カラム：Agilent 社製 DB-5MS (30 m × 0.25 mm i.d, 膜厚0.25 μm)

注入口温度：250°C

カラム温度：180°C (1 min 保持) - 5°C/min 昇温 - 250°C (5 min 保持) - 20°C/min 昇温 - 310°C (7 min 保持)

トランスファーライン温度：280°C

注入量：2 μL

注入法：スプリットレス

キャリアーガス：ヘリウム (1.2 mL/min)

イオン化法：電子イオン化法 (EI)

イオン化電圧：70 eV

イオン源温度：280°C

四重極温度：150°C

測定方法：SIM

JWH-018：測定用イオン m/z 214，確認用イオン m/z 341

JWH-122：測定用イオン m/z 214，確認用イオン m/z 355

JWH-073：測定用イオン m/z 200，確認用イ

オン m/z 327

CCH：測定用イオン m/z 233，確認用イオン m/z 314

XLR-11：測定用イオン m/z 232，確認用イオン m/z 314

AM2201：測定用イオン m/z 232，確認用イオン m/z 359

MAM-2201：測定用イオン m/z 373，確認用イオン m/z 232

6 分析法バリデーションの検討

検出限界，定量限界および検量線は，試料注入時のサンプルマトリックスの影響を補正するためマトリックスマッチング法により測定を行った．予め合成カンナビノイドが検出されないことを確認した血清をブランク試料とし，「4 試料前処理」のとおり前処理を行った．溶出液を蒸発乾固した残留物に 2.5, 5, 10, 25, 100, 250, 500 ng/mL の濃度に調製した各合成カンナビノイドのメタノール溶液0.5 mLを添加し，GC/MSを行った (n=3)．なお，定量方法は絶対検量線法により行った．

真度および精度は，各合成カンナビノイドを25 ng/mL および450 ng/mL に調製した血清を用い，1日に2回，計5日の添加回収試験を行い評価した．添加回収試験は調製した血清を「4 試料前処理」のとおり前処理を行い，GC/MSを行った (n=3)．添加回収試験から得られた各濃度の回収率から，真度については平均回収率で，精度については併行精度および室内精度を一元配置分散分析により相対標準偏差 (RSD) を算出し評価した．

結果および考察

1 SPDE の最適操作条件

1-1 固相剤の確認

Oasis[®] HLB は，親水性・親油性基を併せ持つ逆相固相で，酸性，塩基性，中性全ての化合物に対応できる固相剤であるが，同カートリッジを用いた SPE による血清中合成カンナビノイド類の抽出は既に検討され，その有用性は確認されている¹⁵⁾ことから，本研究では固相剤として Oasis[®] HLB を選択した．

各試料に Oasis[®] HLB の固相懸濁液を添加し，ボ

ルテックスミキサーで攪拌，遠心分離した後，上澄を測定した結果，対象物質の合成カンナビノイドが検出されなかったことから，すべて固相に試料の合成カンナビノイドが保持されたことを確認した。

1-2 溶出溶媒の選定

測定対象物質（7種類）に対する溶出溶媒としては，アセトン，2%ギ酸/酢酸エチル溶液，酢酸エチル，アセトニトリルおよびメタノールのそれぞれ極性の異なる有機溶媒を選択し，比較検討をおこなった。

その結果，各物質に対する回収率は，アセトン，2%ギ酸/酢酸エチル溶液では，各物質とも概ね80–100%と良好な回収率が得られたが，酢酸エチル，アセトニトリルおよびメタノールによる回収率は，40–70%程度と低い値であった（Fig. 3）。このことから，測定対象物質は Oasis® HLB に対して疎水性相互作用としての保持が強く，また，弱いながらもイオン交換相互作用の存在も推察されたことから，アセトンおよび2%ギ酸/酢酸エチル溶液が効率の良い溶出溶媒であることが示唆された。溶媒については，2%ギ酸/酢酸エチル溶液を用いた場合，溶媒の調製や溶出液濃縮・乾固の作業に時間がかかったのに対し，アセトンの方が作業時間を短縮できることから，アセトンを溶出溶媒として選定した。

なお SPE では，酢酸エチルによる溶出が最も効率的でその回収率は90%以上であると報告があるが¹⁵⁾，これは SPE では，カラムクロマトグラフィーの原理にしたがって動的に溶出しているのに対して，SPDE については，分散現象に基づく固相と液相との分配平衡によって静的に溶出している，というメカニズムの違いがあったためと考えられる。

1-3 固相剤添加量の比較

通常の 1 mL 程度の液体試料を処理する際に使われる SPE において，カートリッジに充填されている固相剤の量は30 mgであることから，本実験では，固相剤の至適添加量を確認するため，5, 10, 20, 30および40 mg について回収率を比較検討した。

その結果，いずれの場合においても60%以上の回収率が得られ，固相剤の量に対する回収率の明確な変動は認められなかったが，10 mg の固相剤を添加したときの回収率は80–100%と最も高い回収率を示した（Fig. 4）。これは固相剤の添加は 5 mg では不十分であったが，10 mg で必要十分量であることが示され，更に20 mg 以上では固相剤が過剰となって溶出が不十分になり，回収量が減少したものと考えられ，固相剤の添加量としては10 mg を選択した。

1-4 SPDEの操作性

従来の SPE との操作性を比較するため，Oasis®

Fig. 3 Comparison of eluents in terms of recovery of seven synthetic cannabinoids.

Fig. 4 Comparison of amounts of seven synthetic cannabinoids recovered from each solid-phase gel.

HLB が充填された市販のカートリッジを使用して抽出処理を行った場合、試料添加から溶出まで約30分間を要するのに対し、SPDE の処理時間は、約10分以内に迅速に処理することができた。また、カートリッジを使用した場合、溶出速度を約 1 mL/min に調整して行う必要があり、試料の粘性によって、カートリッジからの溶出速度を一定に保つために、試料負荷・洗浄・溶出に際して、常にマニホールド内の圧力調整を行わなければならなかったが、SPDE では固相を試料中で分散させた際、瞬時に固相と液相間での薬物の分配が平衡に達し、試料前処理時に、ボルテックスミキサー攪拌後、遠心ろ過フィルターを用いて遠心分離により固相と液相を分離するだけで処理を終了することができた。また、SPDE では複数の試料を全て同時に遠心分離で処理することができるため、SPE のような操作の煩雑性はほとんどなかった。

2 定量方法 (マトリックスマッチング法)

MS を用いた定量方法では、一般に重水素ラベル体や ^{13}C ラベル体を用いた、いわゆる同位体希釈質量分析法に基づく内部標準法により実施されるが、麻薬として指定される合成カンナビノイドの重水素ラベル体の入手は困難であり、またサロゲートとして同じ挙動を示す構造類似体を選択できなかったことから、本研究は絶対検量線法での定量を検討した。なお、試料にかかる GC/MS の際、マトリッ

クス由来の妨害が認められたことから、これを補正するため、試料溶液と同等のマトリックスで標準溶液を作成し、検量線を作成するマトリックスマッチング法で定量を行った。

3 GC/MS 結果

GC/MS の結果、各測定対象物質のピーク形状は良好であり、いずれも良好に相互分離された。XLR-11については、GC/MS の際、熱分解されることが報告されているが¹⁷⁾、本測定においてもXLR-11分解物の出現を確認した (Fig. 5)。なお、測定用イオンが重複する場合であっても、確認用イオンが異なるため、判別は十分に可能であった (Fig. 6)。

次に、実試料として血清に各合成カンナビノイド標準品を添加して 500 ng/mL の濃度に調製したものについて本法に従って前処理を行い、GC/MS を行った。その結果、血清のマトリックス由来の夾雑物による妨害ピークの影響は見られず、7種類の測定対象物質は良好に定性・定量分析できることが確認された。なおXLR-11については、すべての測定結果において、XLR-11の分解の割合は、29.0% (SD : 0.9%) であり、全試料が同じ分解の挙動を示すことが確認できたため、分解物については考慮せず、XLR-11の測定結果のみを用いて定量分析を行った。

Fig. 5 Chromatograms of target ions of seven synthetic cannabinoids in serum spiked with 250 ng/mL synthetic cannabinoid standards.

4 分析法バリデーション

4-1 検出限界, 定量下限および検量線

マトリックスマッチング法により測定を行ったところ, 各物質の検出限界 ($S/N > 3$) および定量下

限 ($S/N > 10$) を算出した結果, 検出限界は, 2.5 および 5.0 ng/mL, 定量下限は, 5.0 および 10 ng/mL であった. また, 検量線は 5~500 ng/mL および 10~500 ng/mL の濃度範囲で良好な直線性 (相

Fig. 6 Chromatograms of the qualifier ions of seven synthetic cannabinoids in serum spiked with 250 ng/mL synthetic cannabinoid standards.

関係数 $r=0.994\sim0.999$) を示した (Table 1) .

なお定量下限以下である 1.0 ng/mL の各試料 0.5 mL を窒素気流下で乾固し, メタノール 0.05 mL に溶解して測定を行ったところ, 各物質とも定量下限 ($S/N>10$) 以上の結果が得られたことから, 更なる高感度分析が要求された場合でも, その対応は可能であることが確認された.

4-2 添加回収試験 (真度および精度)

平均回収率は, 低濃度では $76.9\sim107.4\%$ (SD : $6.4\sim10.7\%$), 高濃度では $63.1\sim89.6\%$ (SD : $3.9\sim8.2\%$) となり, 真度は良好であった. 各精度の許容限度は Shah らの報告¹⁸⁾に準じて, 低濃度では「 ≤ 20

% RSD」, 高濃度では「 $\leq 15\%$ RSD」とした. 併行精度および室内精度を一元配置分散分析により相対標準偏差 (RSD) を算出し評価した結果, 精度も低濃度および高濃度共に許容限度内に収まることを確認された (Table 2).

結 語

薬物乱用が HIV 感染の主要な経路の 1 つになっていることは論を待たないところであるが¹⁹⁾, 薬物乱用者の血液を分析する際, 感染予防には十二分に留意するよう心掛けなければならない. 従来の SPE で使用するマニホールドのような開放系の器具では, 分析後, 拡散した血液等の生体試料の処理に考慮しなければならないが, SPDE は血液試料をほぼ閉鎖系で処理することができるため, 操作中における血液試料の飛散などによる実験者への曝露を低減できる前処理法であると言える.

従来, LC/MS での合成カンナビノイドの血中未変化体の検出事例はおよそ $0.1\sim230\text{ ng/mL}$ と報告されている^{11,12)}. 本研究で構築した SPDE-GC/MS 法による定量下限は, $5.0\sim10\text{ ng/mL}$ であるが, 低レベルにおいて LC/MS 等と同等の感度で行う必要があれば, 試料を濃縮することにより, 同等レベルの分析も可能となる.

Table 1 Limits of detection (LOD), limits of quantitation (LOQ), and calibration ranges of all analytes.

Analyte	LOD (ng/mL)	LOQ (ng/mL)	Calibration range (ng/mL)	Correlation coefficient (r) (n=5)
JWH-018	2.5	5.0	5-500	0.997
JWH-122	2.5	5.0	5-500	0.994
JWH-073	5.0	10.0	10-500	0.997
CCH	2.5	5.0	5-500	0.999
XLR-11	2.5	5.0	5-500	0.998
AM2201	2.5	5.0	5-500	0.996
MAM-2201	5.0	10.0	10-500	0.996

Table 2 Accuracy and precision of detection of all analytes.

Analyte	Concentration (ng/mL)	Recovery (%)	Precision (%)	
			Intra-assay precision	Intermediate precision
JWH-018	25	99.8 $\pm$ 9.4	2.38	9.95
JWH-122	25	107.4 $\pm$ 6.4	4.11	6.19
JWH-073	25	97.0 $\pm$ 8.7	8.60	6.19
CCH	25	76.9 $\pm$ 10.7	8.95	14.46
XLR-11	25	95.0 $\pm$ 9.0	3.39	9.93
AM2201	25	104.2 $\pm$ 6.4	1.72	6.44
MAM-2201	25	99.0 $\pm$ 9.0	3.61	9.57
JWH-018	450	78.3 $\pm$ 3.9	2.33	5.23
JWH-122	450	71.9 $\pm$ 5.2	5.26	10.61
JWH-073	450	81.7 $\pm$ 4.3	10.21	10.64
CCH	450	63.1 $\pm$ 6.3	5.56	10.46
XLR-11	450	87.0 $\pm$ 4.9	3.05	6.09
AM2201	450	89.6 $\pm$ 5.5	5.02	6.31
MAM-2201	450	85.4 $\pm$ 8.2	6.27	9.97

以上 SPDE-GC/MS 法は、簡便、迅速、かつ精度の高い分析法であり、対象とした麻薬である合成カンナビノイド 7 品目の血中未変化体の確認試験法として有用であることが示唆された。

謝 辞

本研究は、厚生労働科学研究費補助金（医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業，H25-医薬一般-019）の助成により行われたもので、関係各位に深謝する。

文 献

- 1) 花尻（木倉）瑠理，脱法ドラッグ（脱法ハーブ）による健康被害を防ぐために．日本法科学技術学会誌，**18**別冊，1，2013.
- 2) UNODC, *The challenge of new psychoactive substances*. United Nation Publication, p. 3, Vienna, 2013.
- 3) 厚生労働省医薬食品局監視指導・麻薬対策課：第 8 章合成ハーブ等と称して販売される薬物（いわゆる脱法ドラッグ）対策．麻薬・覚醒剤行政の概況，pp. 201-203, 2013.
- 4) Hutter, M., Broecker, S., Kneisel, S. and Auwärter, V., Identification of the major urinary metabolites in man of seven synthetic cannabinoids of the aminoalkylindole type present as adulterants in 'herbal mixtures' using LC-MS/MS techniques. *J. Mass. Spectrom.*, **47**, 54-65, 2012.
- 5) Sobolevsky, T., Prasolov, I. and Rodchenkov, G., Detection of JWH-018 metabolites in smoking mixture post-administration urine. *Forensic Sci. Int.*, **200**, 141-147, 2010.
- 6) Teske, J., Weller, J.P., Fieguth, A., Rothämel, T., Schulz, Y. and Tröger, H.D., Sensitive and rapid quantification of the cannabinoid receptor agonist naphthalen-1-yl-(1-pentylindol-3-yl) methanone (JWH-018) in human serum by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. B*, **878**, 2659-2663, 2010.
- 7) Kneisel, S. and Auwärter, V., Analysis of 30 synthetic cannabinoids in serum by liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry after liquid-liquid extraction. *J. Mass. Spectrom.*, **47**, 825-835, 2012.
- 8) Zhang, L., Wang, Z.-H., Li, H., Liu, Y., Zhao, M., Jiang, Y. and Zhao, W.-S., Simultaneous determination of 12 illicit drugs in whole blood and urine by solid phase extraction and UPLC-MS/MS. *J. Chromatogr. B*, **955-956**, 10-19, 2014.
- 9) Ammann, J., McLaren, J., Gerostamoulos, D. and Beyer, J., Detection and Quantification of New Designer Drugs in Human Blood: Part 1-Synthetic Cannabinoids. *J. Anal. Toxicol.*, **36**, 372-380, 2012.
- 10) Shanks, K. G., Dahn, T. and Terrell, A. R., Detection of JWH-018 and JWH-073 by UPLC-MS/MS in Postmortem Whole Blood Casework. *J. Anal. Toxicol.* **36**, 145-152, 2012.
- 11) Hermanns-Clausen, M., Kneisel, S., Hutter, M., Szabo, B. and Auwärter, V., Acute intoxication by synthetic cannabinoids-Four case reports. *Drug Test Analysis*, 2013.
- 12) SWGDRUG, *RECOMMENDATIONS (METHOD OF ANALYSIS/DRUG IDENTIFICATION)* p. 14, July-7, 2011.
- 13) Saito, K., Kikuchi, Y. and Saito, R., Solid-phase dispersive extraction method for analysis of benzodiazepine drugs in serum and urine samples. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **100**, 28-32, 2014.
- 14) Sakamoto, Y., Jinno, Y., Shinodzuka, I., Iwasaki, Y., Ito, R. and Saito, K., Sample Cleanup Using Solid-Phase Dispersive Extraction for Determination of Vancomycin in Serum. *Anal. Sci.*, **30**, 271-275, 2014.
- 15) 嘉数一路，久恒一晃，石場 厚，松本智寛，血清中合成カンナビノイド類の抽出方法の検討．日本法科学技術学会誌，**18** 別冊，44，2013.
- 16) UNODC, *Recommended method for the Identification and Analysis of Synthetic Cannabinoid Receptor Agonists in Seized Materials*. p. 34, United Nation, New York, 2013.
- 17) Choi H., Heo S., Kim E., Hwang B., Lee C.

- and Lee J., Identification of (1-pentylindol-3-yl)-(2,2,3,3-tetramethylcyclopropyl) methanone and its 5-pentyl fluorinated analog in herbal incense seized for drug trafficking. *Forensic Toxicol.*, **31**, 86-92, 2013.
- 18) Shah V., Midha K., Findlay J., Hill H., Hulse J., McGilveray I., McKay G., Miller K., Patnaik R., Powell M., Tonelli A., Viswanathan C. and Yacobi A., Bioanalytical Method Validation—A Revisit with a Decade of Progress. *Parm. Res.*, **17**, 1551-1557, 2000.
- 19) 和田 清, 小堀栄子, 薬物依存と HIV/HCV 感染—現状と対策—. *J. AIDS Research*, **1**, 1-7, 2011.