〔衛 生 化 学〕
EISEI KAGAKU
35 (3) 194-197 (1989)

ヒト尿中の微量コカインの抽出

三井利幸,^a 松岡俊恵,^a 藤村義和^b

愛知県警察本部科学捜査研究所,^a 中部大学工学部工業化学科^b

Extraction of Trace Cocaine in Human Urine

TOSHIYUKI MITSUI,^a TOSHIYASU MATSUOKA^a and YOSHIKAZU FUJIMURA^b

Criminal Science Laboratory Aichi Police H.Q.,^a 2-1-1, San-no-maru, Naka-ku, Nagoya 460, Japan and Department of Industrial Chemistry, College of Engineering, Chubu university,^b 1200, Matsumoto-cho, Kasugai 487, Japan

(Received October 25, 1988)

Efficient and simple extraction method for cocaine in human urine was developed by the addition of tri-*n*-propylamine to the urine sample and by the use of GC/MS for the determination. The quantitative extraction of trace amounts of cocaine in the human urine is very hard with conventional organic solvents. However, in the present study, tri-*n*-propylamine was found to extremely raise the extractability of trace amounts of cocaine.

The recommended procedure is as follows: to 20 ml urine containing less than 1.2 μg of cocaine in 50 ml separatory funnel, 1 ml of 15% sodium carbonate aqueous solution, 1 ml of aqueous solution saturated with tri-*n*-propylamine, and 10 ml of dichloromethane are added. It is shaken for 3 min and centrifuged for further 3 min at 3500 rpm in a 50 ml centrifuge tube. To a part (5 ml) of the resulting dichloromethane phase, 1 ml of *n*-tricosane dichloromethane solution (537 ng/ml) is added as an internal standard. The solution is then concentrated on a water bath to 0.2 ml at $60 \pm 5^\circ\text{C}$ and the cocaine is determined by GC/MS. The extraction efficiency was 97% at least of 20 ng of cocaine·HCl tested. In human urine containing less than 1.2 μg of cocaine, the extraction efficiency was always higher in the presence of tri-*n*-propylamine than in the absence of the base.

Keywords — Cocaine; forensic toxicology; human urine; GC/MS; tri-*n*-propylamine; extraction; analysis

緒 言

コカアルカロイド系麻薬である塩酸コカインは、アメリカ等ではかなりの乱用がみられ大きな社会問題となっている。日本では、このような例はほとんど認められていないが今後増加してくる可能性は十分考えられる。裁判化学においては、コカイン使用証明のために使用被疑者の胃内容物や血液、尿等の体液中からコカインを抽出し定量する必要がある。しかし、未変化体として尿中に排泄されるコカインの量は24時間尿で摂取量の1-12%¹⁾であり、かなり少ない。著者らの経験では、従来から行われている液-液抽出(バッチ法)やExtrelutを用いた

麻薬類の抽出方法²⁻⁶⁾では、試料溶液中に含有されている数十ng程度の微量なコカインを高率で抽出することは不可能であった。今回は尿中に微量に存在しているコカインを簡便な抽出操作でほぼ定量的に抽出できる方法について検討した。

実 験 方 法

1. 試薬及び装置 試薬: 塩酸コカインは塩野義製薬製、日本薬局方医薬品をそのまま使用した。飽和トリ-*n*-プロピルアミン水溶液は東京化成製のトリ-*n*-プロピルアミン特級試薬約5 mlを分液ロート内の蒸留水約100 mlに加え、5分間激しく振とう後、3000 rpmで5分間遠心分離した下層溶液を

TABLE I. Operating Conditions of Instrument

Column	1.5% OV-1 (2.5 mm i.d. × 2 m)
Column temp ·	220°C
Injection temp ·	250°C
Separator temp ·	250°C
Inlet temp ·	250°C
Chamber temp ·	170°C
Ionization volt	70ev
Ionization current	300 μ A
Fragment ion for cocaine analysis m/z	303
Fragment ion for n -tricosane analysis m/z	324

そのまま使用した。なお、その際のトリ- n -プロピルアミンの濃度は 9.35 mg/ml であった。

その他の試薬は市販特級試薬をそれぞれそのまま使用した。

装置：ガスクロマトグラフ質量分析装置 (GC/MS) は日本電子製 JMS-DX 300 を MA-DA 5000 のデータ処理装置と共に使用した。

2. 抽出操作 50 ml の分液ロートにコカイン (20, 41, 82, 165, 331, 660, 990, 1200 ng) を含有する尿 20 ml, 飽和トリ- n -プロピルアミン水溶液 1 ml, 15% 炭酸ナトリウム水溶液 1 ml, ジクロロメタン 10 ml を加え 3 分間激しく振とうした。ついで, 3500 rpm で 3 分間遠心後ジクロロメタン層をとり無水硫酸ナトリウムで脱水した。ジクロロメタン層 5 ml をとり, これに内標として 537 ng/ml の n -トリコサンのジクロロメタン溶液 1 ml を加え, ジクロロメタン溶液が約 0.2 ml になるまで温浴上で濃縮後, この 2 μ l を用いて GC/MS に付した。GC/MS の測定条件は Table I に示した。なお, 検量線は, 塩酸コカイン 1, 2.1, 1.4, 4.1, 8.3, 16.6, 49.5, 60 ng を含有するメタノール溶液 1 ml に, 537 ng/ml n -トリコサンジクロロメタン溶液 1 ml, 35% アンモニア水 0.05 ml を加えた後, 温浴上で乾固しないように注意しながら溶媒を約 0.2 ml にまで濃縮後, その 0.2 μ l を用いて作成した。この検量線は 1–60 ng/ml の範囲で相関係数 0.9998 の直線を示した。

結果及び考察

コカイン抽出条件の検討は, 定量至適な範囲にある塩酸コカイン 26.9 ng/ml 水溶液の 20 ml を用いて行った。

1. 添加アミン類の検討

すでに著者らは, アミノ基を持ったメタンフェタ

TABLE II. Effect of Amines on Extraction of Cocaine

Amines	Extraction efficiency (%)
n -Octylamine	83
Dibutylamine	86
Diethylamine	89
Diphenylamine	4
Tri- n -propylamine	100
Triethylamine	67
none	1

ミンや塩酸クロルプロマジン等の抽出時に, アミノ基を持つ化合物を試料液中に添加し抽出すれば, 抽出率が高くなることを認めている。^{7a,b)}そこで今回もコカインの抽出率を上げる目的で, コカインが一種のアルキルアミンであることを考え, 各種アミン類の飽和水溶液 1 ml を添加して, 実験方法 2 の抽出操作に準じた方法で, コカインの抽出率に与える影響を検討した。その結果, Table II に示したように飽和トリ- n -プロピルアミン水溶液を添加した時が最も高い抽出率を示した。そこで, 今回はすべて飽和トリ- n -プロピルアミン水溶液を添加することにした。

2. 飽和トリ- n -プロピルアミン水溶液添加量の検討

コカイン抽出時における飽和トリ- n -プロピルアミン水溶液の最適添加量を実験方法 2 の抽出操作に準じた方法で検討したところ, 検討した 0.1–3.0 ml の間では抽出率に全く差は認められなかった。トリ- n -プロピルアミンは, コカインの定量に直接的な影響は与えないが絶対量が多いと GC の分離に影響を与え, それがコカインの定量に妨害を示す可能性も考えられたので, 今回は飽和トリ- n -プロピルアミン水溶液の添加量はすべて 1 ml とすることにした。

3. 抽出溶液中の炭酸ナトリウム濃度の検討

直接入手され得るコカインは塩類であり, 有機溶媒に抽出する場合は遊離塩基にする必要がある。しかし, 遊離塩基とするために添加するアルカリは水酸化ナトリウム等の強アルカリでは尿中の蛋白質等の沈殿が生じ抽出率が低下する。そこで今回は, 添加しても蛋白質等の沈殿が生じにくい炭酸ナトリウムを用いることにした。コカイン抽出時の試料溶液中の最適炭酸ナトリウム濃度を, 実験方法 2 の抽出操作に準じた方法で検討したところ, 検討した 0.08–3.00% の間では抽出率に全く差は認められな

TABLE III. Effect of Extractants

Solvent	Extraction efficiency (%)
Dichloromethane	98
Chloroform	100
Carbon tetrachloride	81
<i>n</i> -Hexane	80
Cyclohexane	72
Benzene	73

かった。今回は完全を期するために試料中の濃度はすべて0.75%の条件とした。

4. 抽出溶媒の検討

水に対して分配比の小さい有機溶媒であるジクロロメタン、クロロホルム、四塩化炭素、*n*-ヘキサン、シクロヘキサン、ベンゼンを用いて、実験方法2の抽出操作に準じた方法で各々の抽出率を測定した。その結果、Table IIIに示したようにジクロロメタン、クロロホルムともほぼ100%の抽出率を示した。本操作は抽出液を濃縮する必要があるため、今回は沸点が低く濃縮操作が容易なジクロロメタンを用いることにした。

5. 振とう時間及び遠心時間の検討

実験方法2の抽出操作に準じた方法で、コカインを抽出するための振とう時間及び遠心時間を検討した。その結果、振とう時間はFig. 1に示したように2分以上で一定の最大値を示した。遠心時間は検討した1-10分の間では測定値に全く差は認められなかった。今回は完全を期するために振とう時間、遠心時間共に3分間の条件で行うことにした。

6. 試料溶液量の影響

Fig. 1. Effect of Shaking Time on Extraction of Cocaine

Cocaine · HCl (528ng) in 20ml water was extracted.

TABLE IV. Extraction Efficiency of Cocaine in Human Urine

Volume (ml)	Extraction efficiency (%)
10	97
20	98
30	98
50	97
100	99
150	102

蒸留水 10-150 ml 中に塩酸コカイン 538 ng を含有するように調製した溶液について、実験方法2の抽出操作でそれぞれの液量に対する抽出率を検討した。その結果、検討した 10-150 ml の範囲内では抽出率は 97-102% の間にあり、液量の差による影響は全く認められなかった。そこで、尿 10-150 ml 中についても同様の方法で抽出率を求めたところ、Table IV に示したように、蒸留水と同様尿量が 10-150 ml の間であれば抽出率に影響を与えないことが明らかとなった。参考として、塩酸コカイン 538 ng を含有する血液 50 ml に蒸留水 50 ml を加え、同様の方法で抽出率を検討したところ約 85% で、尿と比較して抽出率が低下した。これは血液成分にコカインが吸着されるためではないかと考えられた。

7. 共存物質の影響

共存物質が抽出率に及ぼす影響について、塩基性医薬品であるフェノチアジン系の塩酸クロプロマジン、アミノ安息香酸アルカミンエステル製剤である塩酸プロカインと塩酸テトラカイン、アヘンアルカロイド系製剤である塩酸モルヒネの水溶液を用いて検討した。その結果、Table V に示したようにいずれの医薬品も塩酸コカインに対し重量比で 3-4.5 倍共存していても抽出率に全く影響は認められなかった。これらのことから、その他のアミン系医薬品もコカインの抽出及び GC/MS による定量に対しては影響を与えないものと推定された。

8. 抽出結果

本方法と飽和トリ-*n*-プロピルアミン水溶液を添加しない方法とで尿 20 ml 中からコカインを抽出した結果を Table VI に示した。この結果から明らかなように、飽和トリ-*n*-プロピルアミン水溶液を添加しないと塩酸コカインの含有量が 538 ng でもほとんど抽出されてこない。しかし、飽和トリ-*n*-プロピルアミン水溶液を添加した場合は尿 20 ml 中の塩酸コカイン含有量が 20 ng でも抽出率は 97% で

TABLE V. Effect of Basic Drugs on Extraction Efficiency of Cocaine

Compounds	C/CH ^{a)} (w/w)	E · F. ^{a)} (%)
Chlorpromazine · HCl	4.5	100
Procaine · HCl	4.2	99
Tetracaine · HCl	3.3	102
Morphine · HCl	4.5	98

a) C: Compounds, CH: cocaine · HCl, E.F.: extraction efficiency.

TABLE VI. Effect of Tri-*n*-propylamine on Extraction Efficiency of Cocaine in Urine

Urine or blood (20 ml)	E.F. ^{a)} (%)
Urine + TPA	99 ± 3
Urine	1 ± 2

E.F.: Extraction efficiency.

a) Values represent the means ± S.D. of 5 determinations.

TPA: Tri-*n*-propylamine.

あった。塩酸コカイン 538 ng を含有する尿 20 ml を用いて再現性を検討したところ、相対標準偏差は 1.31% ($n=10$) であった。このことから、本方法は尿中に含有されている微量のコカインを簡便な方法で定量的に抽出しうる有効な方法と考えられた。

結 語

尿中に飽和トリ-*n*-プロピルアミン水溶液を添加し、ジクロロメタンで抽出することにより、簡便な抽出操作で微量のコカインを高い抽出率で再現性よく抽出する方法が確立された。本方法によれば、尿 20 ml 中のコカインの含有量が 20 ng でも抽出率はほぼ定量的であった。

引 用 文 献

- 1) 日本薬学会編, “薬毒物化学試験法注解, 増補版,” 南山堂, 東京, 1985, pp.200—201.
- 2) J. Breiter, R. Helger, H. Long, *J. Forensic Sci.*, **7**, 131 (1976).
- 3) E.C. Griesemer, Y. Liu, R.D. Budd, L. Raftogianis, T.T. Noguchi, *J. Forensic Sci.*, **28**, 894 (1983).
- 4) K. Matsubara, C. Maseda, Y. Fukui, *Forensic Sci. Inter.*, **26**, 181 (1984).
- 5) P. Jacob, B.A.E. Baker, R.T. Jones, N.L. Benowitz, *J. Chromatogr.*, **417**, 277 (1987).
- 6) 三井利幸, 科学警察研究所報告, **36**, 78 (1983).
- 7) a) 三井利幸, 藤村義和, 分析化学, **37**, T 27 (1988); b) *Idem*, 衛生化学, **34**, 436 (1988).