Jpn. J. Toxicol. Environ. Health
衛生 生 化 学
42 (2) 159-166 (1996)

市販酵素免疫キットを用いる尿中乱用薬物の分析

片木宗弘, 西岡 裕, 中島邦生, 土橋 均

大阪府警科学捜査研究所

Analysis of Abused Drugs in Human Urine with Commercial Enzyme Immunoassay Reagents

MUNEHIRO KATAGI, HIROSHI NISHIOKA, KUNIO NAKAJIMA, HITOSHI TSUCHIHASHI

*Forensic Science Laboratory, Osaka Prefectural Police Headquarters, 1-3-18,
Hommachi, Chuo-ku, Osaka 541, Japan*

(Received August 28, 1995)

A simple, rapid and sensitive screening method and semiquantitative analysis for abused drugs, methamphetamine (MA), morphine (MO), cocaine (COC) and cannabinoid (CN), in the urine sample were investigated using the Syva Emit stTM urine assay reagent with Shimadzu CL-770, the temperature-controlled spectrophotometer.

A sample was diluted and mixed in an Emit stTM urine reagent vial with an Emit stTM dilutor. Thirty seconds after mixing, the mixture was transferred to the flow cell of the spectrophotometer kept at 37°C, and the absorbance change at 349 nm was measured for 30 s (60 s for CN).

Calibration curves were examined over a range of 0 to 50 µg/ml for MA, morphine-3-glucuronide (M3G) and benzoylecgonine (BE), 0 to 0.5 µg/ml for Δ⁹-tetrahydrocannabinol-11-oic acid (THC-COOH), and were found to be relatively linear between 0 and 0.5 µg/ml for MA and M3G, 0 and 1 µg/ml for BE, 0 and 0.3 µg/ml for THC-COOH. Cutoff values were able to be set at the concentration of 0.5 µg/ml for MA, 0.5 µg/ml for M3G (corresponding to 0.2 µg/ml), 0.3 µg/ml for BE, 0.1 µg/ml for THC-COOH, and within-run coefficients of variation (C. V.) for the samples of the cutoff levels were less than 2% (*n*=10).

The quantitative results from enzyme multiplied immunoassay technique (EMIT) assays for 100 urine samples were compared with those from GC, GC/MS and LC/MS, and the former showed an excellent correlation with the latter for MA and BE levels. Dihydrocodeine, however, showed a high cross-reactivity with MO, which often caused "false positive results."

Key words — EMIT; abused drug; screening method; quantitative analysis

緒 言

近年, 覚せい剤メタンフェタミン (MA) の乱用と共にヘロイン (HE), コカイン (COC) 等の麻薬, 更には大麻の乱用が急増, 大きな社会問題となり, それに伴い法化学や救急医療の分野でも尿中のそれら薬物の検査依頼が急激に増加する傾向にある。従来, これら尿中薬物の検査に際し, 覚せい剤について尿の前処理を要しない簡易な予備試験^{1,2)}が行われているのみであり, その他のものについては, すべての試料について, 有機溶媒抽出からガスクロマ

トグラフ/質量分析 (GC-MS) に至る一連の検査³⁾を行わなければならない, 非常に非効率であった。さらに最近では, 法化学の分野で, 特に覚せい剤について鑑定試料である尿中の薬物濃度が問われることがしばしばあるが, 時間的な制限もあり, 複雑な定量検査に代わるより簡便な定量法の開発が望まれている。

一般に尿中薬毒物の簡易なスクリーニング法としては, イオン会合性試薬等による呈色試験,^{1,2)} イムノアッセイ⁴⁻¹¹⁾ 等が報告され, 特にイムノアッセイはその特異性と高感度な面から有用性が認められ,

欧米では既に市販、実用化され、我が国でも法化学の分野を中心に次第に普及し始めている。¹²⁻¹⁴⁾ なかでも enzyme multiplied immunoassay technique (EMIT) は、前処理操作を必要とせず測定時間が短く、使用する試料量ごく少量でよいこと、さらには、現在国内で入手可能な他の市販イムノアッセイは発色による陽性-陰性の判定のみで定量までは不可能であるのに対し、吸光度変化を測定するため陽性-陰性の判定ばかりでなく定量も可能であるという点から、簡易な定量法として大いに実用化が期待される。また、この方法を用いた全自動乱用薬物分析装置 ETS-PLUS システムも実用化され、我々はこの装置を用いた覚せい剤中毒者の唾液による覚せい剤のスクリーニング法を報告した。¹⁴⁾ ETS-PLUS システム用の Emit d.a.u.TM 試薬は、1 キット当たり 200—250 検体の分析が可能であり、試料と試薬をセットすれば陽性-陰性の判定まで全自動で行えるため日常多数の鑑定試料を扱う場合は非常に効率的である。しかしその反面、装置が比較的高価であり、試薬の使用期限は開封調製後 3 ヶ月程度であるため、鑑定試料点数が比較的少ない場合、使用期限内に試薬を使い切ることが困難となり、コスト的にも非効率的となる場合がある。

一方、専用の分光光度計で手動で用いられる Emit stTM 試薬は、1 検体の測定に必要な試薬が 1 本のバイアルに凍結乾燥された状態で封入されているため長期間の保存が可能であり、検査試料数によっては ETS-PLUS システムより効率的である。

そこで今回、尿中の覚せい剤、モルヒネ (MO)、COC、カンナビノイド (CN) のスクリーニングを目的として、本来専用器で使用する Emit stTM 試薬を温度調節付分光光度計で使用するための基礎的条件の検討を行った。このシステムは本来、カットオフ値と比較して陽性、陰性の判定のみに用いられ、各薬物の濃度把握は不可能であったが、今回分光光度計で吸光度変化を測定することにより各薬物について検量線を作成、定量分析への応用についても検討した。

実験方法

1. 試料 MA 塩酸塩は大日本製薬製、アンフェタミン (AP) 硫酸塩、MO 塩酸塩及び COC 塩酸塩はいずれも武田薬品工業製、morphine-3-glucuronide (M3G) は Laboratories Sarget (Mergnac Cedex, France) 製を使用した。Benzoyllecgonine (BE), ecgonine methyl ester (EME) 及び

ecgonine (EC) はいずれも COC 塩酸塩より合成した。¹⁵⁻¹⁸⁾ これらはいずれも 1 mg/ml 水溶液を作成し標準試料水溶液とし、健康人の尿で随時希釈して用いた。Δ⁹-Tetrahydrocannabinol-11-oic acid (THC-COOH) は、Syva 社製 Emit キャリブレーターを随時尿で希釈して用いた。

また各アッセイには、Emit stTM urine amphetamine assay, Emit stTM urine opiate (OP) assay, Emit stTM urine cocaine metabolite assay 及び Emit stTM urine cannabinoid assay を使用し、その他の試薬については特級品を使用した。

2. 装置及び測定条件 分光光度計：島津臨床用分光光度計 CL-770, 測定波長：340 nm, 測定準備時間：30 秒, 待ち時間：15 秒, 測定時間：30 秒 (ただし CN は 60 秒), 測定温度：37°C

3. 測定方法 バイアルに Emit stTM ダイリ्यूターで尿 50 μl (CN は 100 μl) 及び蒸留水 3 ml を注入する。試験管ミキサーでバイアルを 10 秒間攪拌する。尿、蒸留水注入から 30 秒後に分光光度計 CL-770 に反応液を 1 ml 吸入させる。吸入から 15 秒後、反応液の 340 nm の吸光度 (A_0) を測定する。さらにその 30 秒後 (CN は 60 秒後) の吸光度

Fig. 1. Analytical Procedure for Abused Drugs by EMIT

TABLE I. Between-Day Precision of Absorbance Change by Emit st™ Urine Assay

	MA concentration ($\mu\text{g/ml}$)			CN concentration ($\mu\text{g/ml}$)		
	0	0.5	1.0	0	0.1	0.2
Mean ($\times 10^{-3}$)	221	269	285	688	745	810
Standard deviation ($\times 10^{-3}$)	5.36	7.99	5.90	9.80	11.4	14.9
C.V. (%)	2.43	2.97	2.07	1.43	1.53	1.84
N	20	20	20	20	20	20

C.V., coefficients of variations. N, number of sample.

($A_{30(60)}$) を測定する。 $\Delta A (=A_{30(60)} - A_0)$ をカットオフ値と尿とで比較する (Fig. 1)。

実験結果及び考察

1. 測定条件の検討

EMIT は、酵素反応を利用しているため試料注入から測定までの時間 (測定準備時間) 及び吸光度測定時間が吸光度に大きく影響する。そこで、後述するカットオフ値の尿試料を用い、測定準備時間及び測定時間を変化させ各薬物を 10 回連続測定し、各アッセイで変動が最小となる条件を求めた。その結果、AP assay, COC metabolite assay, OP assay については測定準備時間 30 秒, 測定 30 秒の条件で、また CN assay については測定準備時間 30 秒, 測定時間 60 秒の条件で変動係数が最小となり、日内の変動係数は AP assay が 0.82%, COC metabolite assay が 1.89%, OP assay が 1.07%, CN assay が 0.64% と良好であった。

さらに、測定日を変えて検査した場合の日差による ΔA の変動及び試薬ロット間による ΔA の変動を AP assay 及び CN assay について求め、検量線及びカットオフ値の有効性についても検討した。

その結果、Table I, II に示すように、ブランク、カットオフ値、高濃度のいずれにおいても日差による変動係数は 3% 以内と小さいものの、前述の日内の変動よりも大きな変動を示した。また、試薬ロット間による変動も判定に大きな影響を与えるほどではないもののやはり日内の変動より大きくなること分かった。このことから、EMIT による測定の場合、異なるロットの試薬を合わせて使用することは避けるべきであり、試薬ロット及び測定日が変わればその都度検量線の作成あるいは対照試料としてカットオフ値の試料の測定が好ましいと思われる。

2. 検量線、カットオフ値及び実検体への応用

各最適条件に従って検量線を作成、カットオフ値を設定し、当研究所に鑑定依頼のあった尿試料 100 検体について測定し、GC-MS との結果を比較した

(Table III)。なお、カットオフ値は、各アッセイにおけるブランク尿の吸光度変化 (ΔA_0) の平均値 (M) 及びその標準偏差 (S.D.) を求め、カットオフ値の吸光度変化がおおよそ $[M + 5 \text{ S.D.}]$ となるように設定した。また、GC-MS は薬毒物化学試験法³⁾に従って行い、そのカットオフ値については、MA が $0.3 \mu\text{g/ml}$, MO が $0.3 \mu\text{g/ml}$, BE が $0.2 \mu\text{g/ml}$, THC-COOH が 20 ng/ml で行った。

さらに、陽性試料については EMIT により定量を試み、GC, GC-MS あるいは高速液体クロマトグラフ/質量分析 (LC-MS) による定量値との比較を行った。

1) 覚せい剤 (MA 及び AP) 検量線及びカットオフ値——MA 及び AP を尿に添加し、AP assay を用いて $0-50 \mu\text{g/ml}$ の範囲で検量線を作成した。Fig. 2 に、そのうち $2 \mu\text{g/ml}$ までを示す。MA, AP とも $0.5 \mu\text{g/ml}$ 付近までは比較的直線に近い検量線が得られたがそれ以降の高濃度では、濃度の増

TABLE II. Difference between Various Lots of Emit st™ Urine Assay Reagents

	MA ($0.5 \mu\text{g/ml}$) Lot			CN ($0.1 \mu\text{g/ml}$) Lot		
	D1	E1	F1	C1F	C1H	E1
ΔA_{cutoff}	0.269	0.271	0.260	0.544	0.546	0.739
ΔA_0	0.211	0.211	0.207	0.505	0.514	0.697
$\Delta A_{\text{cutoff}} - \Delta A_0$	0.058	0.060	0.053	0.039	0.032	0.042

TABLE III. Results of EMIT and GC-MS for MA, BE, MO and CN in 100 Suspected Urine Specimens

	EMIT (+)	GC-MS (+/-)	EMIT (-)	GC-MS (-/ +)
MA	37	37/0	63	63/0
BE	2	2/0	98	98/0
MO	11	4/7	89	89/0
CN	2	0/2	98	98/0

加に比例して吸光度変化 ($\Delta A - \Delta A_0$) が増加しない頭打ち状態となった。また、MA 及び AP とも同程度の感度であり、通常覚せい剤使用者尿の場合、MA は AP に比べて数倍から数十倍の濃度であるため、MA について各濃度での ΔA の変動係数等を考慮し、カットオフ濃度を検討した。

その結果、Substance Abuse and Mental Health Services Administration (SAMHSA) (旧 NIDA)¹⁹⁾ 及びメーカー設定のカットオフ値²⁰⁾ は $1 \mu\text{g/ml}$ であるが、今回、 $0.5 \mu\text{g/ml}$ でも十分使用可能であると考えられたためカットオフ値を MA $0.5 \mu\text{g/ml}$ と設定した。

Fig. 2. Response of the Emit st™ Urine AP Assay to MA and AP

●, MA; ○, AP.

Fig. 3. Correlation of EMIT for MA ($\mu\text{g/ml}$, Vertical Axis) against GC Assay for MA ($\mu\text{g/ml}$, Horizontal Axis) with 37 Suspected Urine Specimens

実検体への応用——100 検体いずれも GC-MS と判定は一致した。さらに、MA 陽性の 37 検体について、GC と EMIT で MA の定量を行い相関を求めた。Fig. 3 に示すように、AP assay では、尿中に排泄される AP などの MA 代謝物に対しても交差反応を示すため、ほとんどのものはやや EMIT の方が高い値を示したが、相関係数は 0.98 と非常に高い相関を示し、特に $5 \mu\text{g/ml}$ 以下の濃度のものに限れば、相関係数は 0.99 とさらに高い相関が得られた。このことから、GC 等に比べやや精度は劣るものの、EMIT により MA の定量が可能であり、高濃度のものについてはブランク尿等で希釈して測定することにより正確な定量が可能と思われる。

また、今回の検体では見られなかったが、通常の風邪薬等にしばしば配合されているエフェドリン (EP) についてその交差反応性を測定したところ、MA と同程度の反応性を示したことから、EP の交差反応も考慮に入れて検査を行う必要があると思われる。

2) MO 検量線及びカットオフ値——Emit st™ OP assay を用いて、MO 及びその主代謝物である M3G について検量線を作成した。Fig. 4 にそのうち $2 \mu\text{g/ml}$ までを示す。MO, M3G とも $0.5 \mu\text{g/ml}$ 付近までは比較的直線に近い検量線が得られたがそれ以降の高濃度では、濃度の増加に比例して吸光度変化 ($\Delta A - \Delta A_0$) が増加しない頭打ち状態となった。M3G は MO に比べてその反応性は約 $1/2$ 程度であった。しかし、MO や HE 摂取者の尿中には、通常 MO は M3G の数分の一から数十分の一排泄されると言われている。²¹⁻²³⁾ 従って、カット

Fig. 4. Response of the Emit st™ Urine OP Assay to MO and M3G

●, MO; ○, M3G.

オフ値も M3G について設定した方が合理的であると考えられるため、M3G について設定した。SAMHSA¹⁹⁾ 及びメーカー設定値²⁰⁾ は MO として 0.3 $\mu\text{g/ml}$ であるが今回は各濃度の吸光度の変動等から MO の 0.2 $\mu\text{g/ml}$ に相当する M3G 0.5 $\mu\text{g/ml}$ とした。

実検体への応用 — Table III に示すように、EMIT 陽性の 11 検体のうち実際に GC-MS で MO が検出されたのは 4 検体に過ぎず、EMIT 陽性の検体のうち MO が検出されなかった 7 検体については、いずれも GC-MS により風邪薬等に含まれる鎮咳薬ジヒドロコデイン (DHCOD) が多量に検出された。そこで、DHCOD について EMIT の反応性を調べたところ、MO と同程度の反応性があったことから、DHCOD に対する交差反応により EMIT 陽性の結果が出たものと思われる。

さらに EMIT 陽性の検体のうち MO が確認出来た 4 検体について、EMIT 及び LC-MS により定量を行った。なお、LC-MS は西川らの方法²³⁾ に従った。Table IV に示すように、いずれも EMIT の方がかなり高い値を示した。これは、EMIT による定量値は M3G の検量線より求めた M3G の値であるが、一方前述のように尿中には M3G だけでなく M6G、さらには量的には少ないものの MO も含まれ、Fig. 4 に示すように、MO が M3G に比べて EMIT では非常に感度が高いためと考えられる。したがって、EMIT での定量値は高濃度であるか低濃度であるかといったおおよその濃度の目安にはなりうるが、定量は困難であると考えられる。ただし、M3G 及び M6G を MO に加水分解した後、EMIT によりトータルの MO として更に精度良く定量することは可能と考えられる。

3) COC 検量線及びカットオフ値 — Emit stTM COC metabolite assay を用い、COC 及びその主代謝物である BE、EME 及び EC について検量線

TABLE IV. Comparison of Quantitative Analysis between EMIT and LC-MS

Sample	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)			
	EMIT	LC-MS		
		M3G	M6G	MO
1	620	210	46	17
2	600	180	27	7.5
3	13	4.7	1.0	1.1
4	60	42	8.4	1.7

Fig. 5. Response of the Emit stTM Urine COC Metabolite Assay to COC, BE, EME and EC

●, BE; ○, COC; ▲, EC; △, EME.

TABLE V. Comparison of Quantitative Analysis between EMIT and GC-MS

Sample	Concentration of BE ($\mu\text{g/ml}$)	
	EMIT	GC-MS
1	250	190
2	3.0	1.7

を作成した。Fig. 5 に 2 $\mu\text{g/ml}$ までを示す。BE は 1 $\mu\text{g/ml}$ 付近まで、COC 及び EC は 2–3 $\mu\text{g/ml}$ までは直線に近い検量線が得られたがそれ以降の高濃度では、濃度の増加に比例して吸光度変化 ($\Delta A - \Delta A_0$) が増加しない頭打ち状態となり、EME についてはほとんど反応性を示さなかった。また、COC 乱用者の場合、尿中には EME 及び EC もかなりの量排泄される^{24–26)} が、Fig. 5 に示すように BE と比較して反応性が低いため、その寄与は比較的小さいこと、さらに COC の代謝は非常に速く尿中には投与量の数%の未変化体が排泄される程度で、^{24,25)} 通常ほとんど無視できることから、尿中濃度が比較的高く EMIT の反応性も高い BE を対象としてカットオフ値を設定した。その結果、SAMHSA¹⁹⁾ 及びメーカー設定値²⁰⁾ と同じく BE 0.3 $\mu\text{g/ml}$ が適当であった。

実検体への応用 — Table III に示すように、100 検体いずれも GC-MS と判定は一致した。さらに、COC assay 陽性の 2 検体について、EMIT 及び GC-MS により BE の定量を行った。その結果、Table V に示すように EMIT の方がやや高い値を示したが、これは主に、試料尿中に BE と同程度あるいはそれ

以上の濃度で含まれている EME や EC 等の尿中代謝物の交差反応の影響が少なからず出たものと考えられる。また、比較対照試料が 2 例と少ないため EMIT の値と実際の濃度との相関は判定できないが、比較的近似した値が得られたことから、近似値として濃度判断可能と思われ、さらに今後多数の試料について相関を求めることで、定量の可能性が期待される。

4) CN 検量線及びカットオフ値——CN assay を用いて CN の検量線を作成した。なお、アッセイの対象は大麻の幻覚成分 tetrahydrocan-

Fig. 6. Response of the Emit st™ Urine CN Assay to THC-COOH

Fig. 7. Variation of Response of the Emit st™ Urine CN Assay to Various Concentration of THC-COOH

●, 0 ng/ml (blank); ○, 20 ng/ml; ■, 50 ng/ml; △, 100 ng/ml; ▲, 200 ng/ml.

nabinol (THC) の主代謝物 THC-COOH^{27,28)} とし、0—500 ng/ml の範囲で検量線を作成した。Fig. 6 にその検量線を、Fig. 7 にカットオフ濃度付近の試料 10 検体の ΔA の値のばらつきを示した。300 ng/ml 付近までは直線に近い検量線が得られたがそれ以降の高濃度では、濃度の増加に比例して吸光度変化 ($\Delta A - \Delta A_0$) が増加しない頭打ち状態となった。また、CN assay の場合反応が緩やかなため 60 秒測定としたが、50 ng/ml 以下の低濃度ではブランクと区別できない場合もあり、メーカー設定値と同じ 100 ng/ml をカットオフ値とした。

大麻の場合、近くの者が吸引する大麻の煙を吸い込んだ受動喫煙の場合と直接吸引する能動喫煙の場合の尿中 THC-COOH 濃度の別れ目がほぼ 10—20 ng/ml と言われているが、^{29,30)} 今回の分析では、カットオフ値をその値まで下げることは不可能であった。また、今回は、THC-COOH の標準品を有しないため検討できなかったが、THC-COOH-glucuronide でカットオフ値を設定することで改善されると考える。

実検体への応用——Table III に示すように、100 検体いずれも GC-MS により THC-COOH は検出されず、CN assay 陽性の 2 検体については LC-MS も試みたが、対象物である THC-COOH は検出されなかった。これは、通常大麻中には THC の他、cannabinol (CBN) や cannabidiol (CBD) 等 THC と構造の類似した化合物が多数存在し、それらは THC と同じくメチル基の酸化反応により THC-COOH と非常によく似た構造の CBN-COOH, CBD-COOH として尿中に排泄される。³¹⁾ しかもそれらに対しては交差反応を示すことが考えられることから、実際の尿中 THC-COOH 濃度は非常に少なかったためではないかと思われ、高濃度の試料も含め、今後多数の試料について更に検討する必要があると思われた。

3. カットオフ値の評価

Table III に示すように、MA 及び BE については、EMIT と GC-MS の陽性、陰性一致率共に 100% であり、設定したカットオフ値は実用に適していると考えられる。M3G (あるいは MO) については、GC-MS で陽性の試料については EMIT でも 100% 陽性であること、EMIT で false positive の判定が出た試料はすべて DHCOD の MO に対する交差反応性によるものでありカットオフ値の設定値によるものではないことから、実用には問題ないと考えられる。CN についてはデータ不足のため評価は困難

であるが、SAMHSA のガイドライン¹⁹⁾ も考慮し、今回設定したカットオフ値で更に多くの試料、特に GC-MS 陽性の試料について検討する必要があると考えられる。

結 語

尿中依存性薬物のスクリーニング法として、イムノアッセイを利用した Emit stTM 試薬を一般的な臨床用分光光度計で使用し、その有効性を検討、更に検量線を作成し定量の可能性についても検討した。

EMIT による測定では、異なるロットの試薬を合わせて使用することは好ましくなく、さらに試薬ロット及び測定日が変わればその都度検量線の作成あるいはカットオフ濃度の試料の測定が望ましいと思われた。

AP assay では、カットオフ値を MA 0.5 $\mu\text{g/ml}$ に設定したところ、GC-MS の判定結果とよく一致した。さらに、検量線を作成することで、精度は GC 等に比べやや劣るものの定量も可能であることが示唆された。また、EP の存在により false positive の判定が出る危険性があることから、EP の交差反応も十分考慮に入れて検査を行う必要があると思われた。

OP assay では、カットオフ値を M 3 G 0.5 $\mu\text{g/ml}$ (MO 0.2 $\mu\text{g/ml}$ に対応) に設定したところ、実際の尿試料ではしばしば DHCOD に交差反応がみられたものの、これらの交差反応性に十分注意すればスクリーニング法としては感度的にも有効であると思われる。また EMIT では高濃度であるか低濃度であるかといったおよその濃度の目安にはなりうるが、定量は困難であると考えられた。

COC metabolite assay では、カットオフ値を BE 0.3 $\mu\text{g/ml}$ に設定したところ、GC-MS の判定結果とよく一致した。また比較対照試料が少ないため EMIT の値と実際の濃度との相関は判定できないが、近似値として濃度判断可能と思われ、更に今後多数の試料について相関を求めることで定量の可能性も期待される。

CN assay では、カットオフ値を THC-COOH 100 ng/ml に設定したところ、EMIT 陽性でも GC-MS では THC-COOH は検出されず、今後高濃度の試料も含め多数の試料について更に検討する必要があると思われた。

謝辞 Emit stTM 試薬をご提供下さいました日本シンテックス社に深謝致します。

引 用 文 献

- 1) 岡本賢二, 昭和 54 年度鑑識科学研究発表会 (化学部会) 講演要旨集, 東京, 1979 年 10 月, p.18.
- 2) Y. Nakahara, H. Sekine, *Forensic Sci. Int.*, **26**, 277 (1984).
- 3) “薬毒物化学試験法と注解,” 第 4 版, 日本薬学会編, 南山堂, 東京, 1992, pp.287—306.
- 4) T.D. Hall, I. Sanchez, L. Dunlap, J. de Kanel, *J. Anal. Toxicol.*, **13**, 371 (1989).
- 5) Y.H. Caplan, B. Levine, *J. Anal. Toxicol.*, **13**, 289 (1989).
- 6) G.W. Kunsman, J.E. Manno, K.R. Cockerham, B.R. Manno, *J. Anal. Toxicol.*, **14**, 149 (1990).
- 7) M.A. Przekop, J.E. Manno, G.W. Kunsman, K.R. Cockerham, B.R. Manno, *J. Anal. Toxicol.*, **15**, 323 (1991).
- 8) V.M. Haver, J.L. Romson, S.M.H. Sadrzadeh, *J. Anal. Toxicol.*, **15**, 98 (1991).
- 9) K.F. Buechler, S. Moi, B. Noar, D. McGrath, J. Villela, M. Clancy, A. Shenhav, A. Colleymore, G. Valkirs, T. Lee, J.F. Bruni, M. Walsh, R. Hoffman, F. Ahmuty, M. Nowakowski, J. Buechler, M. Mitchell, D. Boyd, N. Stiso, R. Anderson, *Clin. Chem.*, **38**, 1678 (1992).
- 10) E.J. Cone, S. Dickerson, B.D. Paul, J.M. Mitchell, *J. Anal. Toxicol.*, **16**, 72 (1992).
- 11) A.H.B. Wu, S.S. Wong, K.G. Johnson, J. Callies, D.X. Shu, W.E. Dunn, S.H.Y. Wong, *J. Anal. Toxicol.*, **17**, 241 (1993).
- 12) 大森 毅, 田中 謙, 井上堯子, 科警研報告, **47**, 57 (1994).
- 13) 西川眞弓, 辰野道昭, 片木宗弘, 土橋 均, 衛生化学, **41**, 59 (1995).
- 14) 西岡 裕, 宮沢 正, 大崎幸彦, 土橋 均, 科警研報告, **46**, 81 (1993).
- 15) M.A. Elsohly, R. Brenneisen, A.B. Jones, *J. Forensic Sci.*, **36**, 93 (1991).
- 16) S.P. Findly, *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 2855 (1954).
- 17) D.R. Clark, T.M. Hajar, *Clin. Chem.*, **33**, 118 (1987).
- 18) J.K. Baker, R.F. Borne, *J. Heterocycl. Chem.*, **15**, 165 (1978).
- 19) Department of Health and Human Services, *Fed. Reg.*, **59**, 29907 (1994).

- 20) Emit stTM 添付文書.
- 21) L.A. Woods, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **112**, 158 (1954).
- 22) H. Yoshimura, M. Mori, K. Oguri, H. Tsukamoto, *Biochem. Pharmacol.*, **19**, 2353 (1970).
- 23) 西川真弓, 中島邦生, 五十嵐一雄, 糟谷史代, 福井巳芳, 土橋 均, 衛生化学, **38**, 121 (1992).
- 24) T. Inaba, D.J. Stewart, W. Kalow, *Clin. Pharm. Ther.*, **23**, 547 (1978).
- 25) D.M. Chinn, D.J. Crouch, M.A. Peat, B.S. Finkle, T.A. Jennison, *J. Anal. Toxicol.*, **4**, 37 (1980).
- 26) M. Nishikawa, K. Nakajima, M. Tatsuno, F. Kasuya, K. Igarashi, M. Fukui, H. Tsuchihashi, *Forensic Sci. Inter.*, **66**, 149 (1994).
- 27) M.E. Wall, B.M. Sadler, D. Brine, H. Taylor, M. Perez-Reyes, *Clin. Pharmacol. Ther.*, **34**, 352 (1983).
- 28) 山本郁男, 薬誌, **106**, 537 (1986).
- 29) B. Law, P.A. Mason, A.C. Moffat, L.J. King, V. Marks, *J. Pharm. Pharmacol.*, **36**, 578 (1984).
- 30) M. Perez-Reyes, S. DiGuseppi, A.P. Mason, K.H. Davis, *Clin. Pharmacol. Ther.*, **34**, 36 (1983).
- 31) 山本郁男, 成松鎮雄, 法中毒, **9**, 2 (1991).