ノ ー ト

NOTE

裁判化学における Capillary GC/MS の薬物同定への 応用 I: ヘロインを摂取したヒト尿からの 6- アセチルモルヒネの直接検出

Application of Capillary GC/MS for Identification of Drugs on Forensic Chemistry I: Direct Detection of 6-Acetylmorphine in Urine Samples of Heroin Abusers

大下敏隆*・宮田嘉彦・安藤皓章

Toshitaka Ohshita, Yoshihiko Miyata, and Hiroaki Ando

(平成4年2月1日受理)

It has been considered that heroin and its metabolites in human urine play a main evidence in most cases of heroin use. However heroin is quickly metabolized and run out from a body. There are a few reports and data on their detective research from human urine samples, but very few about underivatized methods. This study was aimed at examining whether heroin metabolites like as 6-acetylmorphine and morphine could be detected from urine samples by GC/MS without derivatization. Heroin and its metabolites in the human urine sample was directly extracted with chloroform-isopropanol (3:1, pH $\approx$ 9.5, 20°C) and the extracts were analyzed by GC/MS. In the results, we found some heroin metabolites like 6-acetylmorphine and morphine in the urine sample of a drug addict.

The above data suggest that our direct method is useful for evaluating whether a person use heroin or not. It may also be possible to detect metabolites of heroin from urine samples of heroin abusers, if urine samples were quickly taken from the bodys (at least 4 or 5 hours after use of heroin).

1. 結 言

各種分析機器の進歩は、裁判化学の分野においても、より高感度の分析を可能にしつつある。

capillary GC/MS は非常に高い分解能を有するため、従来の充填カラムによる GC では困難であった微量成分の分離と検出を可能にした。

そこで著者らは capillary GC/MS を用いて、ヘロイン（ジアセチルモルヒネ）摂取者の尿中代謝物の分析を行った。

現在、一般的なヘロイン摂取者の尿分析法は、酵素あるいは酸を用いて、まず β -グルクロナイドを加水分解した後、遊離したモルヒネを抽出し分析している¹⁾。

しかし、これらの方法では、試料からモルヒネのみ、あるいはモルヒネおよびコデインが検出されるため、その結果からでは摂取した薬物がヘロイン（ジアセチルモルヒネ）なのかあるいはモルヒネやコデインなのかを特定することはできない。

* 警視庁科学捜査研究所 (〒100 東京都千代田区霞が関 2-1-1)

Criminal Investigation Laboratory, Metropolitan Police Department of Tokyo (2-1-1 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100, Japan)

ヘロインの3位のアセチル基は生体内では非常に不安定であり、速やかに加水分解を受け6-アセチルモルヒネ (6-AM) となるが、この6位のアセチル基も容易に加水分解を受けて短時間にモルヒネに変化する²⁾。

ヘロインの摂取を証明するには尿中からヘロインあるいは6-AMを検出する必要があるが、これまで生体試料からヘロインおよび6-AMを誘導体化することなしに直接検出した報告は動物実験によるもののみ³⁾である。ヒトからの検出は非常に困難とされており⁴⁾、いくつかある報告は、未処理あるいは酵素による加水分解処理を施した尿試料からの抽出物をいずれも誘導体化しSIMによって検出している^{5)~7)}。これまでの報告にある、誘導体化法を用いたSIM法による分析では検出限界 $2\text{ }\mu\text{g/ml}$ となっているが、この方法は誘導体の分子イオンをSIM法で確認することによってその化合物を同定している。しかし、裁判化学という立場から、特にこのような微量薬物を同定する場合にはその化合物の全マスペクトルを測定し確認することが望ましいと考えられる。

今回、capillary GC/MSを用いてヘロイン摂取者の尿について分析を行った。さらに、そのとき排泄されるモルヒネの状態について検討を加えた。

また、尿中から検出されたコデインについてもその由来を検討するために摂取時に使用した注射器についても同様に分析した。

2. 実験方法

2.1 試料

(a) ヒト尿 52 ml (ヘロイン塩酸塩 50 mg を静注により摂取後4時間40分後に採取したもの)

(b) 摂取時に使用した注射器

2.2 試薬

塩酸モルヒネおよびリン酸コデインは三共(株)製を、6-AMはWrightの方法⁸⁾により合成したものを使用した。その他の試薬類はすべて市販の特級品をそのまま使用した。

2.3 使用機器及び分析条件

GC/MSはShimadzu GCMS QP1000Aを使用し、イオン化エネルギー 70 eV 、イオン化電流 $60\text{ }\mu\text{A}$ 、イオン源温度 250°C で測定した。カラムはCBP1-W12-300 ($12\text{ m}\times 0.53\text{ mm}$ film thickness $3\text{ }\mu\text{m}$)を用い、 100°C で1分保持後 240°C まで毎分 10°C の昇温分析を行った。

2.4 試料溶液の調整

ヒト尿は、まず10%炭酸ナトリウム溶液でpH 9.5に調整し 20°C でクロロホルム-イソプロパノール (3:1) 混液 100 ml で3回抽出、抽出液を合わせて無水硫酸ナトリウムで乾燥後濃縮、メタノール $100\text{ }\mu\text{l}$ に溶解し試料溶液1とした。GC/MS分析にはその $1\text{ }\mu\text{l}$ を供した。

次に、抽出後の尿を酢酸で中和、酢酸ナトリウム緩衝液でpH 5.5に調整し β -グルクロニダーゼ $15,000$ 単位を加え 37°C で24時間インキュベートした後、先記と同様の操作を行いメタノール $100\text{ }\mu\text{l}$ に溶解し試料溶液2とした。

注射器はメタノールで洗浄して、洗浄液を濃縮後メタノール 1.0 ml に再溶解し試料溶液3とした。

試料溶液1および2については2.2に示した試薬を標品として作成した検量線を用いて capillary GC で絶対検量線法により定量分析を行った。

3. 結果及び考察

試料溶液1から得たマスキロマトグラムをFig. 1に、試料溶液3から得たマスキロマトグラムをFig. 2に示した。

さらに、Fig. 1のマスキロマトグラム中の保持時間8.1分のピークに対応するマスペクトルAおよびFig. 2中の保持時間8.0分ピークに対応するマスペクトルBをFig. 3に示した。

試料溶液1から、ヘロイン (保持時間 8.7分: $\text{M}^+ 369$) は検出されなかったが、マスペクトルAに示すとおり、微量ながら6-AMが検出された。

また、その他にコデイン (保持時間 6.7分) およびモルヒネ (保持時間 10.1分) も検出された。

Fig. 1. Mass chromatograms of extract of the urine sample from heroin abuser.

Fig. 2. Mass chromatograms of extract of the syringe used by heroin abuser.

試料溶液 3 からは、ヘロイン (保持時間 8.7 分) の他に不純物 (保持時間 8.0 分: マススペクトル B) が検出された。

ヘロイン中の不純物は、そのマススペクトルからアセチルコデインと同定できる。これはヘロイン合成時に原料のモルヒネ中に混在するコデインに由来するものと考えられる。

また、試料溶液 1 から検出されたコデインは、このアセチルコデインが代謝を受けたものと考えられる。

試料溶液 2 からは、モルヒネのみが検出された。

定量分析の結果は、試料溶液 1 がモルヒネ 1,923 ng/ml, コデイン 381 ng/ml, 6-AM 195 ng/ml で、試料溶液 2 がモルヒネ 2,213 ng/ml

Fig. 3. Mass spectra of (A) 6-acetylmorphine and (B) acetylcodeine.

Fig. 4. Structures of (1) 6-acetylmorphine and (2) acetylcodeine.

であった。

モルヒネ関連化合物の EIMS による開裂パターンについては、これまでに種々の検討がなされている^{9)~11)}。

Fig. 4 に 6-AM およびアセチルコデインの構造を示した。これらの 6 位にアセチル基を有するモルヒネ誘導体のマススペクトルは、どちらも M^+ が base peak となり、 $[M-OCOCH_3]^+$ も比較的強く観測される他に、モルヒネと同様の m/z 162, 124 も観測された。

さらに、6-AM はモルヒネと同様の m/z 215, 174 が観測され、アセチルコデインにはこれらに対応すると考えられるそれぞれ 14 質量数ずつ多いイオンである m/z 229, 188 が観測された。

著者らは、この例の他にもヘロイン摂取者の尿を加水分解することなく抽出し、直接 capillary GC/MS 分析によりモルヒネを検出しており、こ

れらのことから、ヘロイン摂取者の尿中には遊離状態のモルヒネも排泄されていることが明らかになった。

4. 結 語

ヒト尿においてもヘロインを摂取後4～5時間以内の尿を採取すれば capillary GC/MS によってマススペクトルを測定し代謝物の一つである6-AMを確認することが可能であることが明らかになった。

このことは、6-AMは一般に入手することが非常に困難なのでヘロインの施用を裏付ける重要なデータとなるものと考えられる。

また、加水分解処理を施すことなく、尿中からモルヒネを抽出できることから、ヘロインは、その摂取量や採尿の時期によっては必ずしも代謝物であるモルヒネの大部分がグルクロン酸抱合されるとはかぎらないと考えられる。

謝 辞 本研究を行うに当たり、御助力を戴いた当研究所飯田裕康科長ならびに服藤恵三氏に深く感謝いたします。

文 献

- 1) 日本薬学会編, “薬毒物化学試験法注解”, 第3版, 南山堂, 東京(1985), p. 186.
- 2) 日本薬学会編, “薬毒物化学試験法注解”, 第3版, 南山堂, 東京(1985), p. 191.
- 3) 渡辺敬三・牧野由紀子・箭内博行・岡本敏彦, 薬誌, **93**, 695 (1973).
- 4) S. Y. Yeh, C. W. Gorodetzky, and R. L. McQuinn, *J. Pharmacol. Exptl. Therap.*, **196**, 249 (1976).
- 5) J. Fehn and G. Megges, *J. Anal. Toxi.*, **9**, 134 (1985).
- 6) A. Solans, R. D. Torre, and J. Segura, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **8**, 905 (1990).
- 7) B. D. Paul, J. M. Mitchell, and L. D. Mell, Jr., *J. Anal. Toxi.*, **13**, 2 (1989).
- 8) C. I. Wright, *J. Pharmacol. Exptl. Therap.*, **71**, 164 (1941).
- 9) 立松晃・後藤俊夫, 薬誌, **85**, 152 (1965).
- 10) H. Audier, M. Fetizon, D. Ginsburg, A. Mandelbaum, and T. Rüll, *Tetrahedron Lett.*, **13** (1965).
- 11) D. M. S. Wheeler, T. H. Kinstle, and K. L. Rinchart, Jr., *J. Am. Chem. Soc.*, **89**, 4494 (1967).

Keywords

Capillary GC/MS
Human urine
Heroin
6-Acetylmorphine
Acetylcodeine