

学位論文（博士）

Direct Analysis in Real Time (DART)-TOF-MS による

危険ドラッグの迅速な定性・定量分析における

最適な試料導入法の確立

2020年9月

薬学専攻

杉江 謙一

目 次

論文リスト	1
略号リスト	2
緒論	3
第 I 章 危険ドラッグの DART-TOF-MS 測定における 最適な試料導入法の検討	6
第 1 節 序論	6
第 2 節 マイクロシリンジを用いた危険ドラッグ試料導入法 の検討および考察	7
第 3 節 ガスタイトシリンジを用いた亜硝酸エステル試料導入法 の検討および考察	10
第 4 節 小括	12
第 II 章 新規試料導入法を用いた DART-TOF-MS の危険ドラッグ分析 への応用	13
第 1 節 序論	13
第 2 節 DART-TOF-MS による <i>t</i> -Boc-MP 分析法の確立および考察	15
第 3 節 DART-TOF-MS による亜硝酸エステル分析法の確立および考察	24
第 4 節 小括	32
第 III 章 DART-TOF-MS を用いた液体危険ドラッグ中 α -PVP の定量分析法 の構築	34
第 1 節 序論	34
第 2 節 定量分析条件の検討および考察	35
第 3 節 分析法バリデーションおよび考察	43
第 4 節 実資料の液体危険ドラッグ中 α -PVP 定量分析および考察	44
第 5 節 小括	44
総括および結論	46
謝辞	49
実験の部	50
引用文献	57

論文リスト

本学位論文は，下記の発表論文を総括したものである．

- 1) マイクロシリンジ試料導入法を用いた Direct Analysis in Real Time (DART)-TOF-MS による α -PVP 含有危険ドラッグ分析における定量法の検討：杉江 謙一，阿久津 守，斉藤 貢一，分析化学，**65** (8)，439-446，(2016)．
(第 I 章および第 III 章)
- 2) Rapid detection of *tert*-butoxycarbonyl-methamphetamine by direct analysis in real time time-of-flight mass spectrometry : K. Sugie, D. Kurakami, M. Akutsu, K. Saito, *Forensic Toxicol.*, **36** (2), 261-269, (2018). (第 II 章)
- 3) ヘッドスペース - Direct Analysis in Real Time (DART)-TOF-MS を用いる亜硝酸エステル系指定薬物の迅速スクリーニング：杉江 謙一，阿久津 守，斉藤 貢一，分析化学，**68** (9)，699-706，(2019)．(第 I 章，第 II 章)

略号リスト

NPS : New Psychoactive Substances

GC/MS : Gas Chromatography / Mass Spectrometry

(ガスクロマトグラフィー/質量分析法)

DART-TOF-MS : Direct Analysis in Real Time - Time of flight - Mass

spectrometer

LC/MS : Liquid Chromatography / Mass Spectrometry

(液体クロマトグラフィー/質量分析法)

HS : Head Space (ヘッドスペース)

SPME : Solid-Phase Micro-Extraction (固相マイクロ抽出)

MP : Methamphetamine (メタンフェタミン)

AP : Amphetamine (アンフェタミン)

MDMA : Methylenedioxyamphetamine

t-Boc-MP : *tert*-Butoxycarbonyl-MP

CID : Collision Induced Dissociation (衝突誘起解離)

EI : Electron Ionization (電子イオン化)

ESI : Electrospray Ionization : エレクトロスプレーイオン化

α -PBP : α -Pyrrolidinobuthiophenone

α -PVP : α -Pyrrolidinovalerophenone

α -PHP : α -Pyrrolidinohexanophenone

PV-8 : α -Pyrrolidinoheptanophenone

PV-9 : α -Pyrrolidinoctanophenone

RSD : Relative Standard Deviation (相対標準偏差)

SEM : Standard Error of the Mean (標準誤差)

緒論

危険ドラッグは、麻薬、向精神薬等と同様に、多幸感や快感等の効果を期待して摂取・乱用されるにも関わらず、麻薬等に指定された成分を含有しないことを理由に、「合法ドラッグ」、「合法ハーブ」等と称して販売されているものである¹⁾。他にも「脱法ドラッグ」とも呼ばれていたが、2014年7月に危険性が高いことが理解できるような用語を国が公募した結果、「危険ドラッグ」が選定された^{2,3)}。その流通は、1990年代後半から顕在化し、固体、粉末、液体など様々な形態で販売された。これらの製品はいわゆる無承認無許可医薬品に該当するものとして、2006年に旧薬事法の改正がなされ、2007年に麻薬や覚せい剤とは異なる新たなカテゴリーの指定薬物として規制され、医療等の用途以外の製造、輸入、販売等が禁止となった⁴⁾。その後、危険ドラッグの乱用による中毒事故や交通事故などが多発し、大きな社会問題となり、法改正や販売店舗への徹底した取締が行われた。その結果、2015年以降、危険ドラッグの販売店舗数はゼロとなり、危険ドラッグの新規出現数や健康被害の発生は減少した^{1,3)}。しかしながら、その後も危険ドラッグの販売手法は店舗型からインターネット販売やデリバリー販売へ移行するなど、その流通ルートは巧妙化・潜在化しており、引き続き十分な警戒が必要である⁵⁾。現在、我が国では指定薬物は2385種類(2020年6月現在)が規制されており、その分類も合成カンナビノイド類、合成カチノン類、フェネチルアミン類および植物由来物質など多岐にわたり、指定薬物の分析は複雑化している。また、危険ドラッグの流通は世界的にも深刻な問題となっており、日本の危険ドラッグに相当するものとして国連では、条約で規制されていないが乱用により公衆衛生に脅威を与えうる物質を **New psychoactive substances (NPS)** と定義している。国連麻薬犯罪事務所 (UNODC) の報告によると、世界100カ国以上の国・地域において NPS の流通が報告されており、2018年12月までに800種類以上もの物質が検出されている⁶⁾。欧州では2015年に合成カンナビノイド、特に **MDMB-CHMICA** による健康被害が問題となった^{7,8)}。また近年では、欧米において、フェンタニルと構造が類似した様々な危険ドラッグが出現し、多くの健康被害が生じている⁹⁻¹¹⁾。このように、現在も世界的に新規危険ドラッグは発見され健康被害が発生しており、今後我が国へ密輸される可能性もあることから、違法薬物の鑑定に

において分析法の確立など十分な対策を事前に検討しておく必要がある。

従来、指定薬物の分析にはマススペクトルライブラリーが充実しているガスクロマトグラフィー質量分析法(GC/MS)が汎用されるが¹²⁻¹⁶⁾、全ての指定薬物をGC/MSで分析するには測定に長時間を必要とする。更に、国立医薬品食品衛生研究所の調査によると、2015年1月から3月に入手した危険ドラッグ製品の含有成分を調査した結果、危険ドラッグ成分が検出されない、もしくは未規制のカフェインのみ検出された製品が全体の約65%を占めたとの報告もある⁴⁾。また、危険ドラッグの密造所が捜索現場となった場合、危険ドラッグの検体が大量に鑑定嘱託されることが想定され、その検体には規制物質と未規制物質が混在する可能性がある。そこで、危険ドラッグの鑑定結果を早急に得るためには、迅速かつ高精度に規制物質を識別し、鑑定時間を短縮する分析法が望まれている。

近年、Codyらによって開発されたDirect Analysis in Real Time(DART)イオン源は大気圧下で試料を直接イオン化して質量分析部へ導入できることから、迅速な質量分析を可能とした¹⁷⁾。更に、質量分析部にTime of flight-Mass spectrometer(TOF-MS)を接続したDART-TOF-MSでは高分解能マススペクトルが得られ、精密質量から化学式を推定することも可能である。そのため、これまでにDART-TOF-MSは食品中の残留化学物質や違法薬物全般のスクリーニングなど様々な分野での応用が数多く報告されており¹⁸⁻²¹⁾、中でも危険ドラッグ製品については、液体、粉末、植物片などの形態に対する分析が報告されている²²⁻²⁶⁾。従来、液体試料のDART-TOF-MSの試料導入法としては、ガラス棒に危険ドラッグの試料液を付着させ、DARTイオン源にかざす方法が汎用されている。これは簡易かつ迅速な方法であり、DART-TOF-MS測定の利点であると考えられる。そのため、多くの指定薬物を含む危険ドラッグを正確かつ迅速にスクリーニングし、鑑定試験の大幅な時間短縮が期待できるため、DART-TOF-MSの危険ドラッグ分析への応用は非常に有用であると考えられる。しかしながら、この試料導入法およびDART-TOF-MS測定には、①ガラス棒の先端がDARTイオン源のヘリウムガス流路を妨害し、感度を低下させること、②高揮発性物質(例えば、亜硝酸エステル)はガラス棒に付着させた途端に揮発し、試料導入が困難であること、③DARTイオン源における試料導入位置の再現性が悪く、定量分析に向かないことの問題点が挙げられる。

そこで本研究では、多くの指定薬物を対象とし鑑定時間を大幅に短縮するため、

これらの欠点を改善した DART-TOF-MS による危険ドラッグの迅速な定性・定量分析に最適な試料導入法を検討した。

第 I 章 危険ドラッグの DART-TOF-MS 測定における最適な 試料導入法の検討

第 1 節 序論

危険ドラッグは液体、粉末、植物片など様々な形態で販売されており、分析する際には、どのような形態であっても対応できる分析法が必要となる。危険ドラッグの分析では、メタノールなどの有機溶媒で抽出、希釈などの前処理で調製された試料液が、GC/MS や液体クロマトグラフィー/質量分析法 (LC/MS) ²⁷⁻³¹⁾などで測定されている。DART-TOF-MS の測定でも同様に有機溶媒で調製された試料液が用いられ、試料導入デバイスとしてガラス棒が主に利用されている。そのガラス棒の先端を試料液に浸し、試料液が付着したガラス棒の先端を DART イオン源にかざすことで試料導入が実施される ³²⁻³⁵⁾。しかしながら、試料導入デバイスとして用いるガラス棒は先端が太く、DART イオン源から噴出されるヘリウムガス流路を妨害し、感度低下の原因になると言われている ³⁴⁾。そのため、ヘリウムガス流路を妨害せず、有機溶媒で調製された試料液を効率的に DART-TOF-MS に導入し、高感度な分析を可能とする試料導入デバイスが必要であると考えられる。

また、DART-TOF-MS を用いた分析は、液体や粉末状の化合物が添加されたハーブ並びに血液や尿などの生体試料など様々な試料形態への応用が報告がされており、違法薬物以外の分野においても食品中の香気成分や大気中の揮発性有機化合物の分析などにも応用されている ³⁶⁻³⁸⁾。このことから、指定薬物の中でも揮発性の高い亜硝酸エステルの分析に適応可能ではないかと考えられるが、これまでに亜硝酸エステルを DART-TOF-MS で分析した報告は見当たらない。従来の亜硝酸エステル分析では GC/MS が用いられており、亜硝酸エステルの高い揮発性を利用した Head space (HS) 法や Solid-Phase Micro-Extraction (SPME) を組み合わせた HS-SPME 法が注入法として用いられている ³⁹⁻⁴³⁾。HS 法では液体試料を密閉容器中で一定時間静置することで気-液平衡状態になった気体を採取し、GC/MS に注入する ⁴⁴⁾。他方、HS-SPME 法では、HS 法と同様に気-液平衡状態の気体と SPME ファイバーの

液相間の分配平衡を利用し、同ファイバーへ化合物を吸着させる。そして GC 注入口内で SPME ファイバーから化合物を脱離させることで GC/MS へ試料導入されるが、GC/MS では成分分離のため分析結果を得るまでに時間がかかってしまう。他方、DART-TOF-MS であれば気化した試料を直接測定することが可能であるため、亜硝酸エステルの測定時間を大幅に短縮し、迅速に分析結果を取得できると考えられた。しかしながら、DART-TOF-MS 測定において、高揮発性の亜硝酸エステルは試料導入用のガラス棒上で瞬時に揮発し、試料導入および測定が困難であった。

そこで本研究では、メタノールで調製した危険ドラッグ試料液および高揮発性の亜硝酸エステルに適したそれぞれの新たな試料導入法について検討した。

第2節 マイクロシリンジを用いた危険ドラッグ試料導入法の検討 および考察

ヘリウムガス流路の妨害による検出感度低下を抑制するには、シリンジのような先端が細いデバイスが有利であると考えられた。そのため、液体試料導入には、採取した試料液を液滴として先端に保持し、DART イオン源にかざすことが可能なマイクロシリンジを新規デバイスとして選択し、ガラス棒による試料導入と比較した。モデル化合物として、世界的に被害事例が多く、我が国において 2012 年に指定薬物に指定され、2013 年に麻薬に格上げ指定された α -PVP を用いた。また、DART-TOF-MS 測定において良好な感度を得るには、試料液の溶媒は水よりもメタノールの方が良いとの報告があることから⁴⁵⁾、本研究では溶媒にメタノールを選択した。

50 $\mu\text{g/mL}$ の α -PVP メタノール溶液を試料液とし、マイクロシリンジおよびガラス棒を用いて DART-TOF-MS による繰り返し測定を実施した。マイクロシリンジを用いた試料導入の概略を Fig.I-1 に示す。

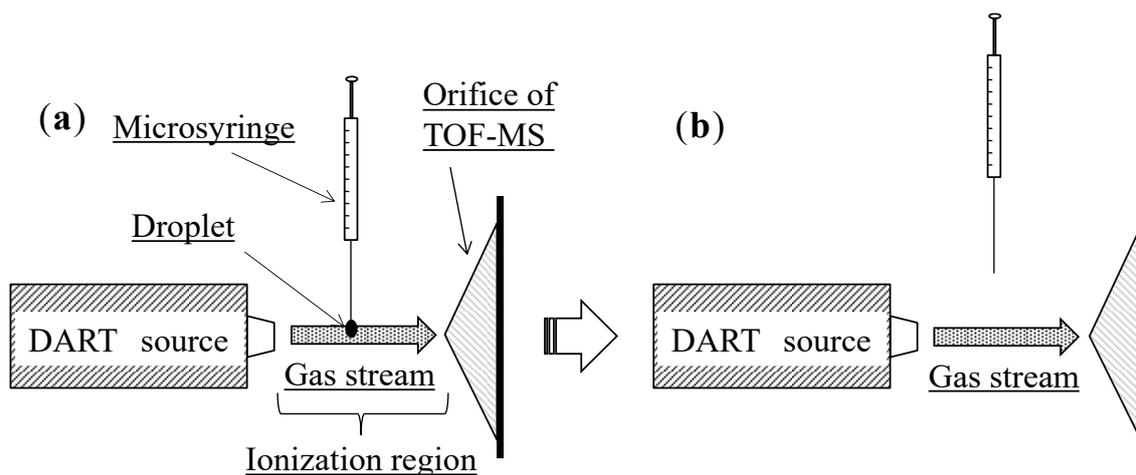


Fig.I-1 Injection method to DART source using a microsyringe. (a) The droplet (0.4 μ L) formed at tip of microsyringe was held up to ionization region. (b) As soon as the solvent in the droplet was volatilized, microsyringe was released from ionization region. Each point represents the mean using a microsyringe with Standard Error of the Mean (SEM) of 5 samples.

ガラス棒による試料導入は、ガラス棒の先端を試料液に浸して試料液を付着させ、その先端を DART イオン源に約 2 秒間かざすことで実施した。

その結果、マイクロシリンジを用いて試料導入することで検出感度が約 3 倍向上した (Fig.I-2)。

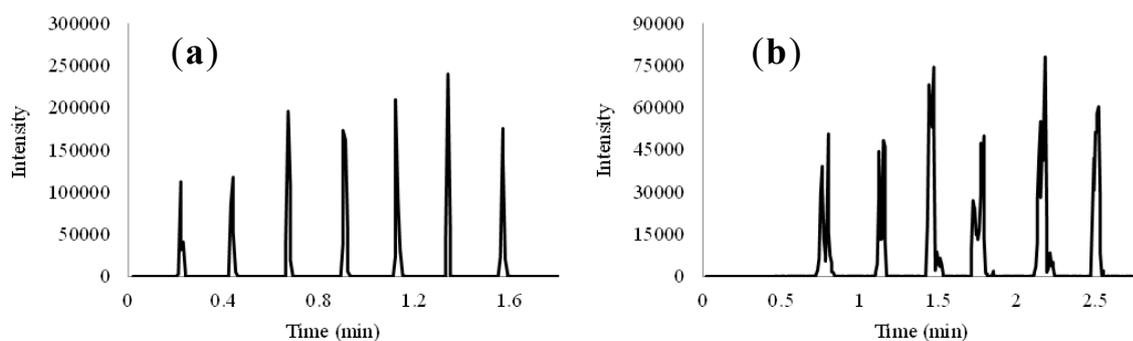


Fig.I-2 Comparison of typical chromatograms of α -PVP measured by DART-TOF-MS using (a) a microsyringe and (b) a glass rod.

ガラス棒に付着させた液体試料はその先端の表面に薄く膜状に付着していると考えられ、試料注入の際に、DART イオン源のインスレーターキャップから噴出するヘリウムガスが直接当たっている部分と直接当たっていないオリフィス側で試料液の揮発に時間的な差が生じてしまい、試料液を均一に揮発できなかったため、ガラス棒で試料液を導入した場合にはピーク形状

が劣化したものと考えられた。また、イオン源への試料導入時間についても、測定の都度、手動で時間を調整するのは困難であり、定量分析における試料導入にはガラス棒は向いていないと思われた。

他方、マイクロシリンジはガラス棒よりも先端が細く、試料液を液滴として先端に保持させ、試料を均一に揮発させることを可能にすると考えられた。更に、先端が細いことからヘリウムガス流路妨害を軽減し、質量分析部へのスムーズな試料導入を可能としたことがピーク形状の改善に寄与したものと考えられた。前述のとおり、ガラス棒を用いる際、ヘリウムガス流路妨害による検出感度への影響から試料導入位置を検討する必要がある³⁴⁾。両デバイスともにイオン源試料導入位置を測定の都度統一することは困難であるが、マイクロシリンジを試料導入デバイスとして選択すればヘリウムガス流路妨害の影響を考慮する必要はないため、導入位置の設定をせずに感度の良い分析法の構築が可能であることが示唆された。しかし、マイクロシリンジを用いて試料導入したとしても、測定毎の試料導入位置を一定にすることは不可能であるためピーク面積の再現性は不十分であり、**DART-TOF-MS**を用いた高精度分析を行う際には内部標準物質の使用が必須であると考えられた。

また、マイクロシリンジを用いた場合の試料導入時間は、液滴をイオン源にかざし始めた時点から液滴が揮発する時点までとなるため、液滴が一定量であれば、イオン源にかざす時間もほぼ一定になるものと考えられる。マイクロシリンジ試料導入法では液滴の揮発を確認することにより、実験者は試料導入時間を制御することが可能であり、タイマーなどで時間を意識することなく試験を実施することが可能となる。このことから、マイクロシリンジ試料導入法は一般的なガラス棒を用いた試料導入法と比較して操作が容易であり、実験者の負担を軽減できる試料導入法であると考えられた。

第3節 ガスタイトシリンジを用いた亜硝酸エステル試料導入法の検討 および考察

第1項 試料導入方法の検討

指定薬物である亜硝酸エステルには、*iso*-propyl nitrite, *n*-butyl nitrite, *iso*-butyl nitrite, *tert*-butyl nitrite, *iso*-pentyl nitrite および cyclohexyl nitrite の 6 種類があり、その内の *n*-butyl nitrite をモデル化合物として選択し、亜硝酸エステルの DART-TOF-MS 測定に適した新たな試料導入法について検討した。亜硝酸エステルは高揮発性の液体であることから、DART-TOF-MS 測定での試料形態として液体と気体が想定された。そのため、試料導入デバイスにはマイクロシリンジおよび気体採取に適したガスタイトシリンジを用いた。ガスタイトシリンジを用いる際には HS 法を採用し、亜硝酸エステル測定における最適なシリンジおよび試料形態（液滴または気体）を検討した。

その結果、両導入法ともに複雑なフラグメンテーションが引き起こされており、そのため *n*-butyl nitrite のプロトン付加分子の検出は微量であった。化合物の分子イオン関連ピークが検出されたことは化合物の同定に有力な情報となることから、*n*-butyl nitrite のプロトン付加分子について、その検出感度を比較したところ、*n*-butyl nitrite のプロトン付加分子のピーク面積は HS 法で若干低かったものの、両導入法に有意な差は認められなかった。なお、亜硝酸エステルは加水分解により容易にアルコールに分解されることから、捜索現場で押収される亜硝酸エステルの製品中には脱水剤として難揮発性のトリグリセリドなどの乾燥剤が混入されていることがある。試料液を直接採取するマイクロシリンジ試料導入法では、これら乾燥剤も同時に採取し DART-TOF-MS に注入してしまう可能性がある。他方、HS 法であれば気体を採取するため、難揮発性物質の混入による影響を受けずに試料導入が行えるものと考えられた。以上のことから、亜硝酸エステルの DART-TOF-MS 測定ではガスタイトシリンジ-HS 法を用いて気体を測定するのが最適であることが示唆された。

第2項 HS法の平衡化温度の検討

HS法においては、亜硝酸エステルの気化を促進するため、ドライブロックバスを用いて加熱する。そこで、その温度による検出感度への影響について検討した。*n*-butyl nitrite 0.1 mL をガラスバイアルに入れ、25, 40, 50, 60, 70 および 80°C に設定したドライブロックバスで 10 分間加熱し、ガスタイトシリンジで気体を 0.1 mL 採取し、DART-TOF-MS に注入した。その結果、*n*-butyl nitrite プロトン付加分子のピーク面積は 25, 40, 50°C まではほぼ変化がなく、60°C で急激に上昇し、60~80°C で徐々に上昇する傾向が確認された (Fig. I-3)。

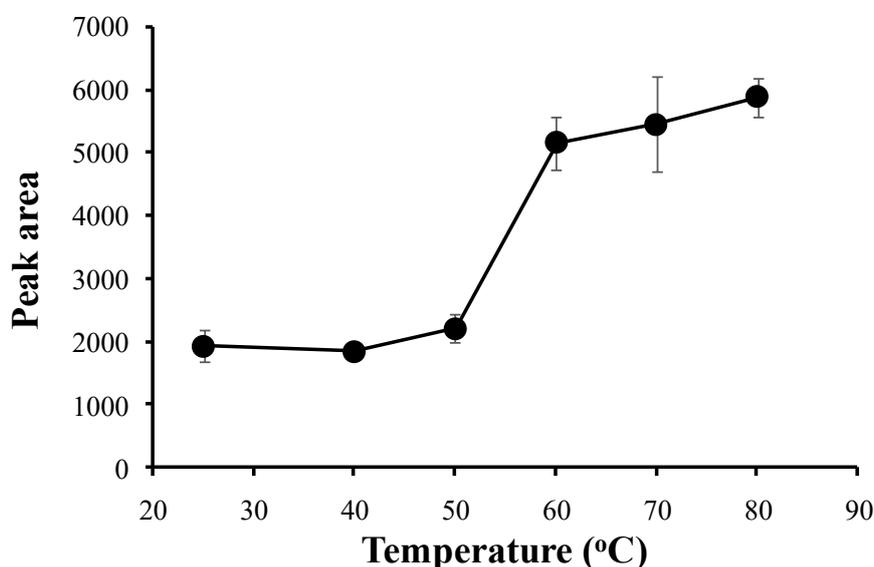


Fig. I-3 Comparison of the peak area of *n*-butyl nitrite measured by DART-TOF-MS at dry block bath temperature ($n=5$).

一般的に、亜硝酸エステルと原料となる対応したアルコールでは亜硝酸エステルの方がより沸点が低いことが知られている。また、各亜硝酸エステルに対応したアルコールの中で最も沸点が低いのはイソプロパノールであり、沸点は約 82.4°C である。そのため、温度を上げすぎると亜硝酸エステルだけでなくアルコールの揮発も同時に促進されることが予想され、気体中の亜硝酸エステル濃度が低下してしまうことが考えられた。また、70 および 80°C では、採取した気体の *n*-butyl nitrite がシリンジ内で冷却し、液化することにより DART-TOF-MS への注入時にシリンジから液体も噴出され、液体がイオン源の周囲に飛び散るのを確認した。以上のことから、ドライブロックバス

の平衡化温度はイソプロパノールの沸点より低くかつ試料の液化による汚染の危険性がない 60°C に設定することとした。

第 4 節 小括

危険ドラッグのみならず DART-TOF-MS 測定にはこれまでガラス棒を用いた試料導入法が用いられてきた。同法は簡便・迅速に試料導入できるといった利点があるが、①ガラス棒の先端が DART イオン源のヘリウムガス流路を妨害し、感度を低下させること、②高揮発性物質はガラス棒に付着させた途端に揮発し、試料導入が困難であることといった欠点があった。本研究では、これら二つの欠点について新規試料導入法を考案し、改善を試みた。すなわち、ヘリウムガス流路妨害の軽減が期待できるマイクロシリンジを新規試料導入デバイスとして採用し、従来のガラス棒による試料導入より高感度な DART-TOF-MS 測定を達成した。

他方、高揮発性物質の亜硝酸エステルの試料導入法については、気体状態のまま導入でき、かつ亜硝酸エステル製品に含有される乾燥剤などの混入物による DART-TOF-MS 測定への影響を軽減することができるガスタイトシリンジ-HS 法を考案した。

以上の研究から、危険ドラッグ試料液および高揮発性の亜硝酸エステルの DART-TOF-MS 測定における最適な試料導入法を確立した。

第Ⅱ章 新規試料導入法を用いた DART-TOF-MS の危険ドラッグ分析への応用

第1節 序論

我が国では、Methamphetamine (MP), Amphetamine (AP) およびそれらの塩類は覚せい剤取締法で厳しく規制され、例年検挙される薬物事犯の大半を占めている。押収される MP の形態は結晶や錠剤、粉末等さまざまであり、安息香酸ナトリウムやチオ硫酸ナトリウムといった増量剤が混入されていることもある⁴⁶⁾。更に、MP の構造異性体であるイソプロピルベンジルアミン等が混入されている事案もあり⁴⁷⁾、現場簡易試験や鑑定試験の複雑化が危惧されている。また、MP や AP と同様にフェネチルアミン系に分類される Methylenedioxymethamphetamine (MDMA) の関連化合物として、Methyl-3-[3',4'-(methylenedioxy)phenyl]-2-methyl-glycidate がオーストラリアで押収されている。同化合物を加水分解および脱炭酸することにより、MDMA の前駆物質である 3,4-MDP-2P を高収率で生成することが可能であり、このように化学構造そのものに手を加え、偽装する事例も確認されている⁴⁸⁾。

近年、MP および MDMA の化学構造中のアミノ基に *tert*-Butoxycarbonyl 基(*t*-Boc)を導入した *t*-Boc-MP および *t*-Boc-MDMA が海外で押収された⁴⁹⁻⁵¹⁾。*t*-Boc-MDMA は、毛髪用製品として粘状の明るい赤色液体に混ぜられてオーストラリアで発見され、当初、液体の含有物はサフロールではないかと思われていた。しかし、その後の詳細な分析の結果、含有物は *t*-Boc-MDMA と同定された⁴⁹⁾。また、*t*-Boc-MP は食器用液体洗剤に混ぜられた状態で、ニュージーランドで発見されている⁵¹⁾。現在 *t*-Boc-MP および *t*-Boc-MDMA は 2017 年 12 月に指定薬物に指定されているが、まだ未規制であった 2017 年 8 月、我が国においても税関による輸入物品検査で、プラスチックボトル入り液体として *t*-Boc-MP は初めて押収され、その翌年には MP の合成目的で *t*-Boc-MP を大量に所持していた事案も発生した⁵²⁾。このように MP や MDMA に *t*-Boc 基を導入することは、規制薬物を未規制薬物に変換し、薬物密輸にお

けるリスクを抑えることが目的であり、今後このような事案が増加することが懸念される。*t*-Boc 基は、従来ペプチド合成等の有機化学合成において、アミノ基保護を目的として利用されている⁵³⁻⁵⁵。MP や MDMA はフェネチルアミン系に分類される2級アミンであるため、同様に *t*-Boc 基をその化学構造中に導入することが可能である。*t*-Boc 基が導入された化合物は一般的にトリフルオロ酢酸等の強酸で処理することにより、*t*-Boc 基の脱離反応が進み、高収率で元の化合物を回収することが可能である⁵⁶⁻⁵⁸。また、強酸を用いずとも100°Cの蒸留水に溶解することで脱離反応が引き起こされ、反応時間も数十分以内に終了し、かつ元の化合物を高収率で回収できるとの報告もある⁵⁹。以上のように *t*-Boc 基の化合物への導入およびその脱離反応が容易であることを考慮すると、MP や MDMA だけでなく *t*-Boc 基を導入した様々なフェネチルアミン系薬物が今後合成される可能性も考えられる。これまで *t*-Boc 基が導入された規制薬物の分析データに関する報告はなく、未規制化合物であることから、今後、分析時の見逃しやデータ解析が困難となることが危惧された。そのため、日本国内への拡散を防止し、検出した化合物を行政当局へ早急な情報提供を実施するためにも、*t*-Boc-MP も他の指定薬物と同様に DART-TOF-MS による分析を可能とする必要がある。

また、亜硝酸エステルは危険ドラッグの乱用が社会問題として大きな話題となる以前から指定薬物として規制されていた化合物であるが、未だに日本国内への密輸が繰り返されている。現在、指定薬物に指定されている亜硝酸エステルは *iso*-propyl nitrite, *n*-butyl nitrite, *iso*-butyl nitrite, *tert*-butyl nitrite, *iso*-pentyl nitrite および cyclohexyl nitrite の6種類であり、その内 butyl nitrite の3種類は構造異性体である。亜硝酸エステルの鑑定試験においてはこれら構造異性体の識別は必須となるが、DART イオン源のペニングイオン化はソフトイオン化法であり⁶⁰⁻⁶²、測定対象成分のフラグメントイオンの生成を抑制するためプロトン付加分子が検出されやすく、亜硝酸エステルの構造異性体の識別は困難であることが予想される。しかしながら、質量分析部のオリフィスにおけるインソース collision induced dissociation (CID) を用いてフラグメントイオンを生成させて化合物を DART-TOF-MS で識別する報告もあり⁶³⁻⁶⁶、亜硝酸エステルの構造異性体もフラグメントイオンにより識別でき

る可能性がある。

そこで本研究では、第 I 章で構築した 2 種類の試料導入法を用いて、それぞれ *t*-Boc-MP および亜硝酸エステルの DART-TOF-MS による分析法を確立し、危険ドラッグ分析における DART-TOF-MS の汎用性向上を試みた。*t*-Boc-MP については、従来の危険ドラッグ分析法である GC/MS および LC/TOF-MS でも測定し、DART-TOF-MS 測定の優位性について検証した。

第 2 節 DART-TOF-MS による *t*-Boc-MP 分析法の確立および考察

危険ドラッグの分析には従来 GC/MS や LC/TOF-MS が利用されていることから、両分析機器でも *t*-Boc-MP を分析し、分析法としての適性を DART-TOF-MS と比較した。更に、合成した *t*-Boc-MP の確認試験に GC/MS を実施した。

第 1 項 GC/MS 分析

第1-1項 合成した *t*-Boc-MP の確認

Collins らが報告⁴⁹⁾した *t*-Boc-MP の GC/MS マススペクトルと同一であるか確認するため、合成した *t*-Boc-MP 標準品を GC/MS で測定した。合成した *t*-Boc-MP を 100 µg/mL の濃度にメタノールで調製したものを試料液とした。その結果、得られたマススペクトルと Collins らの報告したマススペクトルが同一であることを確認した (Fig. II-1) 。

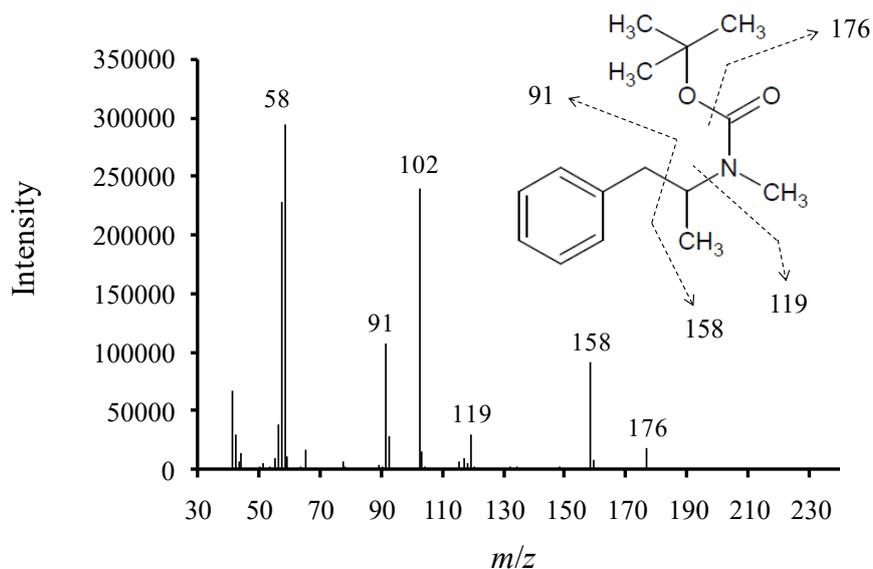


Fig. II-1 Mass spectrum of *tert*-butoxycarbonyl-methamphetamine (*t*-Boc-MP) measured by gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS) with assigned fragmentation pattern using a split ratio of 20:1 and inlet temperature at 250°C.

第1-2項 GC/MS 注入口における *t*-Boc-MP の熱分解

GC/MS で *t*-Boc-MP の確認試験を実施した際、注入口の温度が高い場合、*t*-Boc-MP の熱分解により生成されたと考えられる MP のピークがクロマトグラム上に確認された。注入口温度 300°C におけるクロマトグラムを Fig.II-2 に示す。

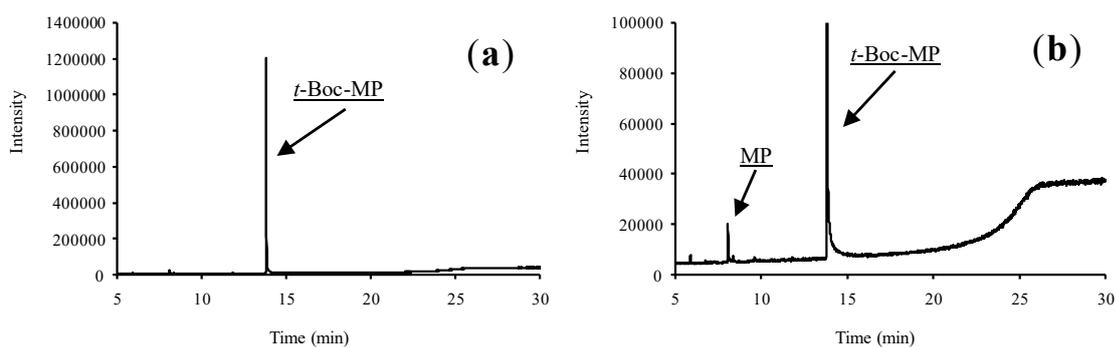


Fig. II-2 GC/MS total ion current chromatograms (TICCs) of *t*-Boc-MP at an injector temperature of 300°C. (b) Expanded view of shows the chromatogram.

そこで、注入口温度 200, 220, 250 および 300°C における *t*-Boc-MP の熱分解を検証した。各注入口温度における MP と *t*-Boc-MP のピーク面積比および *t*-Boc-MP のピーク面積を Table II-1 に示す。

Table II-1 Methamphetamine (MP)-to-*tert*-butoxycarbonyl-methamphetamine (*t*-Boc-MP) peak area ratios and *t*-Boc-MP peak areas measured by GC/MS at different inlet temperatures with split injection at 20:1.

Inlet temperature (°C)	Peak area ratio (MP-to- <i>t</i> -Boc-MP; ± SD, <i>n</i> =3)	<i>t</i> -Boc-MP area (× 10 ⁷ , ± SD, <i>n</i> =3)
200	0	3.7 ± 0.2
220	0	3.0 ± 0.1
250	0.0022 ± 0.000049	2.6 ± 0.3
300	0.0145 ± 0.00061	2.3 ± 0.7

その結果、200 および 220°C では MP は検出されず、250°C および 300°C では MP が検出され、温度上昇に伴いピーク面積比も上昇した。他方、*t*-Boc-MP のピーク面積は温度上昇に伴い減少した。

次に、スプリット比の影響を確認するため、注入口温度を 200°C に設定し、スプリット比を変えて GC/MS で測定した。各スプリット比における MP と *t*-Boc-MP のピーク面積比および *t*-Boc-MP のピーク面積を Table II -2 に示す。

Table II -2 MP-to-*t*-Boc-MP peak area ratios and *t*-Boc-MP peak areas measured by GC/MS for each injection mode at inlet temperature of 200°C.

Injection mode	Peak area ratio (MP-to- <i>t</i> -Boc-MP; ± SD, <i>n</i> =3)	<i>t</i> -Boc-MP area (× 10 ⁷ , ±SD, <i>n</i> =3)
Splitless	0.012 ± 0.00034	80.2 ± 0.06
Split (10:1)	0.0024 ± 0.00017	5.27 ± 0.01
Split (20:1)	0	3.70 ± 0.21
Split (50:1)	0	0.67 ± 0.02

スプリット比 50 : 1 および 20 : 1 では MP は検出されなかったが、10 : 1 およびスプリットレス注入で MP が検出された。スプリットレス注入ではスプリット注入に比べてピーク面積は最大となった。GC におけるスプリット

注入では、スプリット比が小さくなるほど、注入口での試料滞留時間が長くなる。そのため、スプリット比が小さい場合、注入口内で *t*-Boc-MP が熱に曝される時間が長くなり、熱分解により MP 生成が促進されたものと考えられた。

以上のことから、GC/MS 測定では、注入口における *t*-Boc-MP の熱分解により MP が生成されることが確認された。*t*-Boc-MP を GC/MS 測定する際には、測定条件によって MP が検出されることで誤判定を引き起こすことが危惧された。

第 2 項 LC/TOF-MS 分析

t-Boc-MP メタノール溶液 (100 ng/mL) を試料液とし、1 μ L を LC/TOF-MS で測定した。得られたマススペクトルを Fig.II-3 に示す。

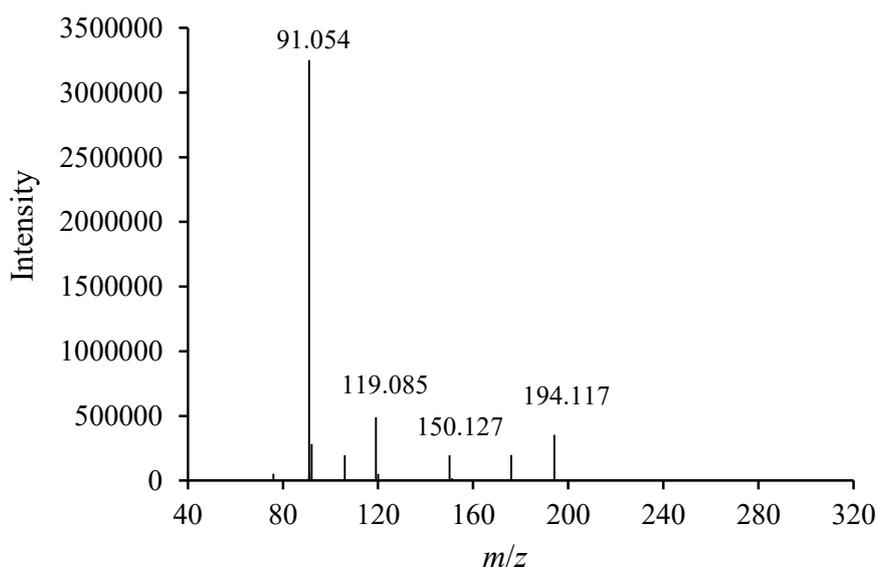
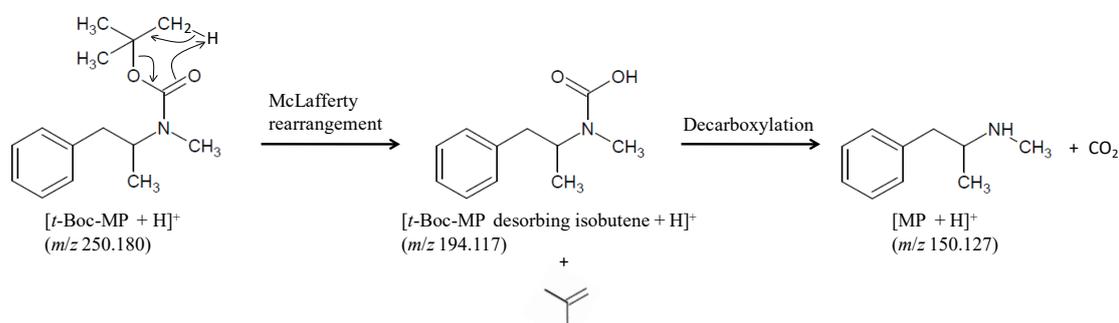


Fig.II-3 Mass spectrum of *t*-Boc-MP measured by liquid chromatography-time-of-flight mass spectrometry (LC/TOF-MS).

t-Boc-MP のマススペクトルにおいて、ベースピークとして m/z 91.054 が検出され、他に m/z 119.085, m/z 150.127 および m/z 194.117 のフラグメントイオンピークが検出された。しかしながら、*t*-Boc-MP プロトン付加分子 (理論値: 250.180) は検出されなかった。Wolf らの報告⁶⁷⁾によると、*t*-Boc 基が導入されたアミンを LC/MS で測定する際、イオン源において *t*-Boc 基のマクラファティ転位が即座に引き起こされると言われている。そこで *t*-Boc-MP

の LC/TOF-MS 測定においてもマクラファティ転位が引き起こされると予想されたため、Wolfらの報告を参考に *t*-Boc-MP のマクラファティ転位について 2 つの経路を考察した。1 つは *t*-Boc-MP からマクラファティ転位により中間体としてイソブテン脱離体 (m/z 194.117) が生成され、その後、脱炭酸を伴い MP (m/z 150.127) が生成される経路 (Fig.II-4-(a)) であり、もう一方は、イソブテン脱離と脱炭酸が同時に引き起こされ、直接 MP が生成される経路 (Fig.II-4-(b)) の 2 種類の転位反応が考えられた。

(a)



(b)

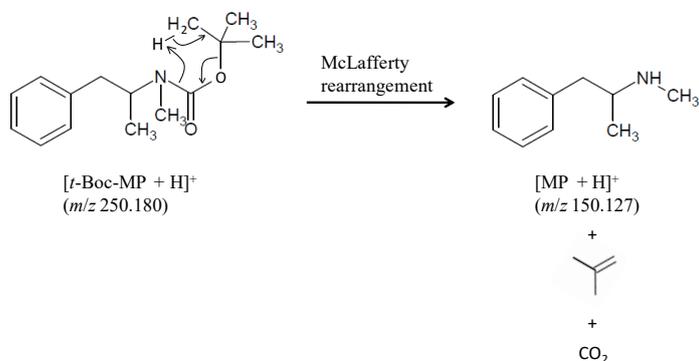


Fig.II-4 Possible pathways for the McLafferty rearrangement of *t*-Boc-MP during LC/TOF-MS analysis: (a) pathway producing an intermediate derived from isobutene desorption (m/z 194.117) and methamphetamine (MP) (m/z 150.127); (b) pathway producing only MP (m/z 150.127). All m/z values refer to the corresponding protonated compounds.

本測定においては、 m/z 150.127 および m/z 194.117 のフラグメントイオンが検出されたことから、*t*-Boc-MP のマクラファティ転位は Fig. 4-(a)の経路で引き起こされていると推定された。

以上の結果から、LC/TOF-MS 測定では、*t*-Boc-MP のマクラファティ転位

により得られた *t*-Boc-MP の化学構造を解析する上で有用であるフラグメントイオンは検出可能であるが、*t*-Boc-MP を同定するために最も必要なプロトン付加分子の検出が困難であることが示唆された。

第3項 DART-TOF-MS 分析

第3-1項 試料溶媒によるマススペクトルへの影響

t-Boc-MP の DART-TOF-MS 測定において最適な溶媒を選択するため、メタノール、エタノール、イソプロパノール、アセトニトリルおよび酢酸エチルを用いて 100 µg/mL の *t*-Boc-MP 試料液を調製し、DART イオン源温度を 200°C に設定し、各試料液の 0.4 µL を DART-TOF-MS で測定した。その結果、全ての試料液において、*t*-Boc-MP プロトン付加分子 ($[M+H]^+$: m/z 250.180) を検出することが可能であった (Fig. II-5)。

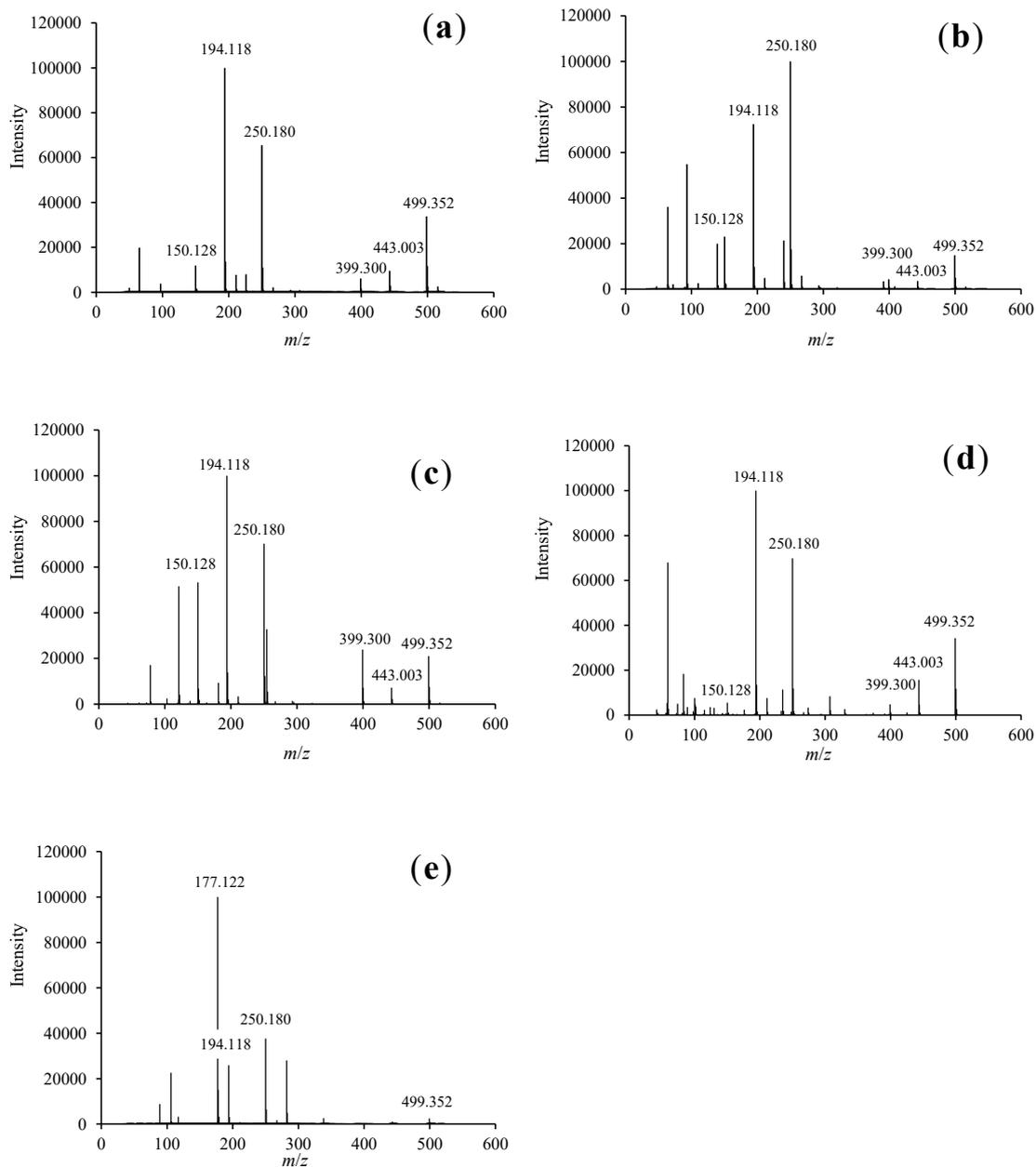


Fig.II-5 Comparison of DART-TOF-MS spectra of *t*-Boc-MP (100 µg/mL) in different solvents: **(a)** methanol, **(b)** ethanol, **(c)** isopropanol, **(d)** acetonitrile, and **(e)** ethyl acetate solutions. The ion source temperature was set at 200°C.

酢酸エチルを除くメタノール，エタノール，イソプロパノールおよびアセトニトリル溶液では，MPのプロトン付加分子 (m/z 150.128) が検出された。また，全ての溶液において，*t*-Boc-MP イソブテン脱離体 (m/z 194.118) のプロトン付加分子が検出した。 m/z 150.128 および m/z 194.118 が検出されたことから，*t*-Boc-MP の DART-TOF-MS 測定の際にもマクラファティ転位が起こっていることが示唆された。

なお、酢酸エチル溶液のみ、 m/z 177.122 のイオンが最も強く検出された。これは転位反応由来ではなく、*t*-Boc-MP のエステル結合の開裂により生成された *t*-Boc-MP イソブタノール脱離体であり、DART イオン源における熱分解により生成されたものであると考えられた (Fig.II-5-(e))。また、全ての溶液で m/z 499.352 のピークが検出され、酢酸エチル溶液以外の溶液で m/z 399.300 および m/z 443.003 のピークが検出された。組成推定の結果、 m/z 499.352 は *t*-Boc-MP 単一分子から成る 2 量体のプロトン付加分子、 m/z 443.003 は *t*-Boc-MP と *t*-Boc-MP イソブテン脱離体、 m/z 399.300 は *t*-Boc-MP と MP の異なる 2 分子から成る 2 量体のプロトン付加分子であることが示唆された。また、 m/z 150.128 より低質量側に各種溶媒の単一分子から成る 2 量体や水分子との 2 量体が検出された。上記溶媒に関連するイオン強度が他の溶媒と比較して低く、イオン源での熱分解が引き起こされなかったことから、DART-TOF-MS 測定においてメタノール溶液が最適であると考えられた。

第3-2項 イオン源温度の設定

t-Boc-MP メタノール溶液を用いて、DART-TOF-MS 測定におけるイオン源温度の影響について、200、250 および 300°C の 3 条件で検討した。その結果、*t*-Boc-MP プロトン付加分子 (m/z 250.180) および上記 2 量体のプロトン付加分子 ($[M+H]^+$: m/z 399.300, 443.003 および 499.352) は 250°C と 300°C では減少したが、マクラファティ転位によって生成する MP 由来のフラグメントイオンが増加する傾向がみられた (Fig.II-6)。

Harris らの報告⁶⁸⁾では、DART イオン源温度の上昇に伴い、化合物に堆積する内部エネルギーも上昇するとされている。このことから、イオン源温度の上昇により *t*-Boc-MP に堆積する内部エネルギーが上昇し、マクラファティ転位による MP の生成が促進され、同時に *t*-Boc-MP が減少し、それに伴い 2 量体等も減少したものと考えられた。

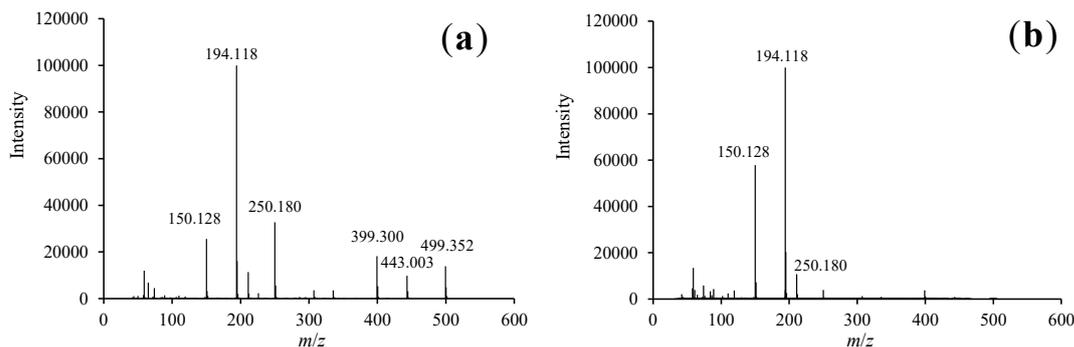


Fig.II-6 DART-TOF-MS spectra of *t*-Boc-MP (100 µg/mL). DART ion source temperature at (a) 250 and (b) 300°C.

以上のことから、*t*-Boc-MP のプロトン付加分子とフラグメントイオンを網羅的に取得するためには、比較的低温度である 200°C が DART-TOF-MS 測定時のイオン源温度として適していることが推測された。

第 3-3 項 試料濃度の調整

DART-TOF-MS 測定において、上記の 2 量体のプロトン付加分子が検出されており、これらのイオンの生成を抑制することができれば、*t*-Boc-MP やマクラファティ転位由来フラグメントイオンの検出量を増加させることが可能となると予想された。*t*-Boc-MP の同定において、プロトン付加分子の精密質量だけではなく、測定時のフラグメンテーションを認識し、生成されるフラグメントも解析時に利用することでより正確な同定が可能になると考えられた。そこで測定条件のもう一つのパラメーターとして試料濃度の影響を検討した。100 µg/mL では試料濃度が高すぎることから、各種 2 量体が生成されやすいと考えられたため、10 µg/mL の *t*-Boc-MP メタノール溶液を DART-TOF-MS で測定した。イオン源温度を 200, 250 および 300°C に設定して測定したところ、各種 2 量体のプロトン付加分子は検出されなかったが、イオン源温度 250 および 300°C において、*t*-Boc-MP プロトン付加分子の強度が低下する傾向が確認された (Fig. II-7)。

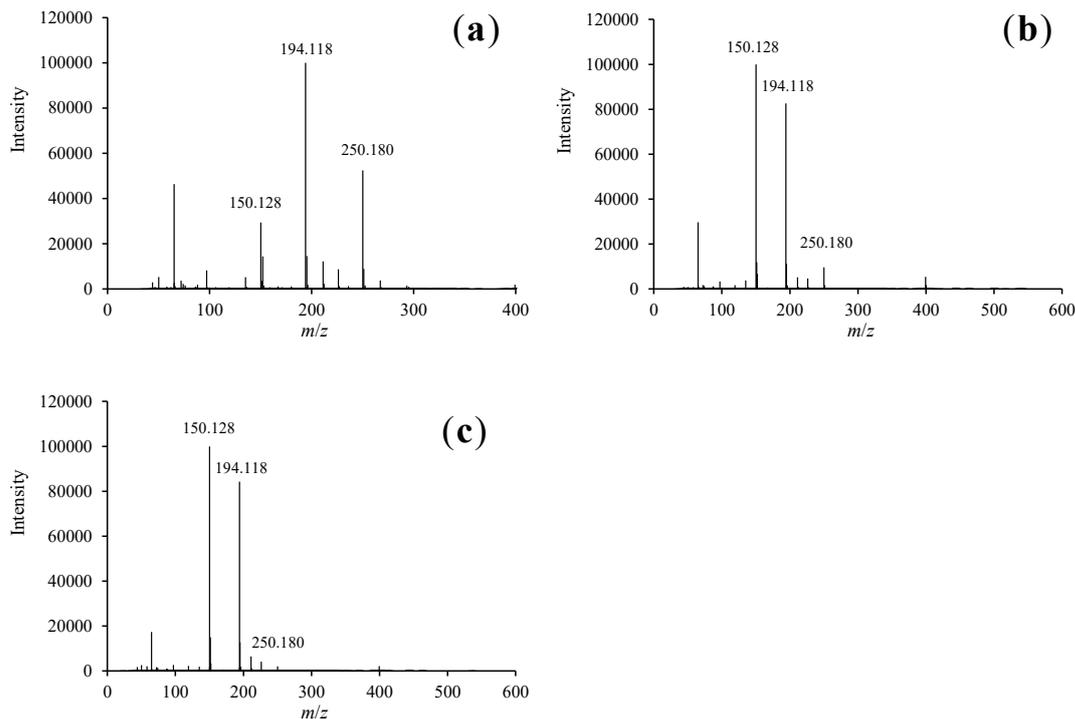


Fig. II-7 DART-TOF-MS spectra of *t*-Boc-MP at a lower concentration (10 µg/mL). DART ion source temperature at (a) 200, (b) 250 and (c) 300°C.

他方、イオン源温度が 200°C の場合、 m/z 150.128 の強度は 100 µg/mL より 10 µg/mL の方が高くなり、*t*-Boc-MP プロトン付加分子も比較的高い強度で検出された。このことから、試料濃度を低くすることで各種 2 量体の生成を抑制し、フラグメントイオンと *t*-Boc-MP プロトン付加分子を感度よく検出できることが示唆された。

以上のことから、DART-TOF-MS で *t*-Boc-MP を測定する際には、イオン源温度を 200°C に設定し、試料液の濃度を 10 µg/mL 程度にすることが望ましいと考えられた。

第 3 節 DART-TOF-MS による亜硝酸エステル分析法の確立および考察

第 1 項 TOF-MS 測定条件の最適化

第 I 章の結果(p.10)から、DART-TOF-MS への試料注入の際に *n*-butyl nitrite のフラグメンテーションが起きていることが確認され、その原因として、イ

オン源で晒される高温のヘリウムガスによる熱分解とオリフィス内でのインソース CID が考えられた。亜硝酸エステルのプロトン付加分子は同定の際に非常に重要な情報となることから、亜硝酸エステルのプロトン付加分子の感度についてイオン源温度とオリフィス電圧の影響について検討し、最適な測定条件を設定した。

第 1-1 項 DART イオン源温度の検討

DRAT イオン源温度による *n*-butyl nitrite プロトン付加分子の感度について検討し、最適なイオン源温度を設定することとした。*n*-butyl nitrite 0.1 mL をガラスバイアルに入れ蓋を閉めた後、ドライブロックバスで 10 分間加熱後、気体をガスタイトシリンジで 0.1 mL 採取し、DART-TOF-MS に注入した。イオン源温度は 150, 200, 250, 300 および 350°C に設定した。測定の結果、*n*-butyl nitrite のプロトン付加分子の温度変化による検出感度の推移を検証したところ、イオン源温度 300°C でピーク面積が最大となった (Fig.II-8)。

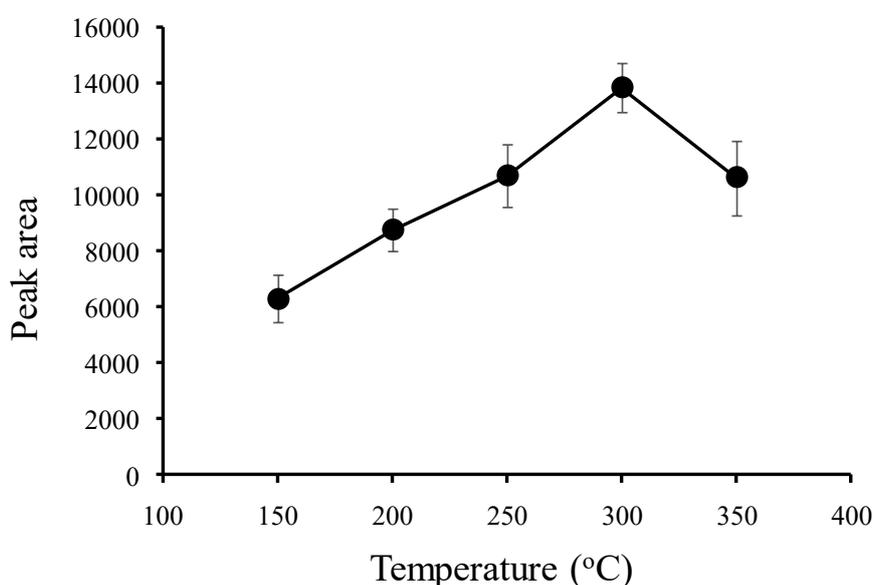


Fig.II-8 Comparison of the peak area of *n*-butyl nitrite measured by DART-TOF-MS at each DART ion source temperature ($n = 5$).

これはイオン源温度 300°C までは温度上昇によりプロトン付加分子の生成が促進されるが、それ以上の温度ではフラグメンテーションが促進されるためであると考えられた。以上のことから、DART イオン源温度はプロトン付加分子の感度が最も良好であった 300°C に設定することとした。

第 1-2 項 オリフィス 1 電圧の検討

次に、*n*-butyl nitrite のプロトン付加分子が最も高感度で検出される最適なオリフィス 1 電圧を設定することとした。*n*-butyl nitrite 0.1 mL をガラスバイアルに入れ、蓋を閉めた後、ドライブロックバスで 10 分間加熱し、気体をガスタイトシリンジで 0.1 mL 採取し、DART-TOF-MS に注入した。DART イオン源温度は 300°C、オリフィス 1 電圧は 10, 20, 30, 40, 50 および 60 V に設定した。その結果、検討した全ての電圧において強度は弱かったが *n*-butyl nitrite のプロトン付加分子が検出された。各電圧における当該イオンのピーク面積の推移を Fig.II-9 に示す。

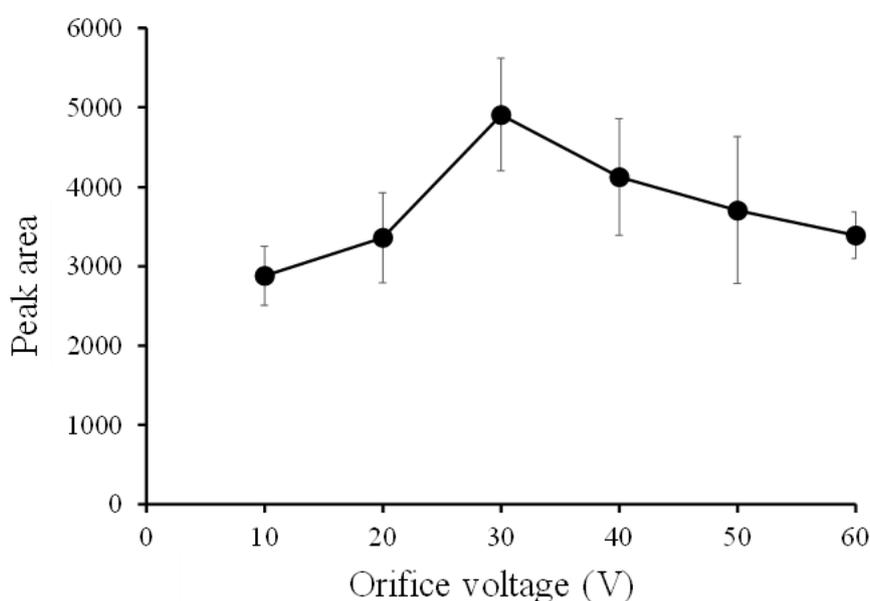


Fig.II-9 Comparison of the peak area of *n*-butyl nitrite measured by DART-TOF-MS at each orifice 1 voltage ($n=5$).

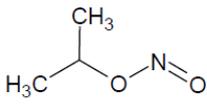
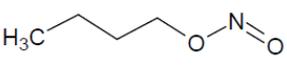
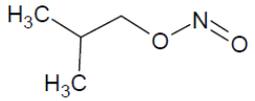
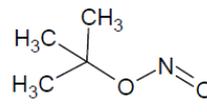
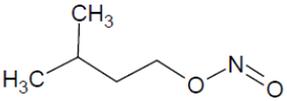
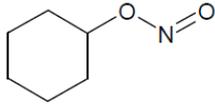
同プロトン付加分子のピーク面積は 30 V で最大となり、電圧が高くなるにつれて減少していく傾向が確認された。以上のことから、*n*-butyl nitrite のプロトン付加分子が最も感度良く検出された 30 V をオリフィス 1 電圧に設定することとした。

第 2 項 各亜硝酸エステルの測定

設定した分析条件を用いて、各亜硝酸エステルを DART-TOF-MS で測定した。測定した指定薬物の亜硝酸エステルの組成式と精密質量を Table II-3、指定薬物およびその構造異性体の化学構造式を Fig. II-10 に示す。

Table II-3 Elemental compositions and exact masses of alkyl nitrites measured by DART-TOF-MS.

Compound	Elemental compositions (protonated)	Measured exact mass
<i>iso</i> -propyl nitrite	$[C_3H_7NO_2+H]^+$	90.0462
<i>n</i> -butyl nitrite	$[C_4H_9NO_2+H]^+$	104.0709
<i>iso</i> -butyl nitrite	$[C_4H_9NO_2+H]^+$	104.0709
<i>tert</i> -butyl nitrite	$[C_4H_9NO_2+H]^+$	104.0709
<i>iso</i> -pentyl nitrite	$[C_5H_{11}NO_2+H]^+$	118.0863
cyclohexyl nitrite	$[C_6H_{11}NO_2+H]^+$	130.0850

Chemical structures of alkyl nitrites regulated as the designated substances		
 <i>iso</i> -propyl nitrite	 <i>n</i> -butyl nitrite	 <i>iso</i> -butyl nitrite
 <i>tert</i> -butyl nitrite	 <i>iso</i> -pentyl nitrite	 cyclohexyl nitrite

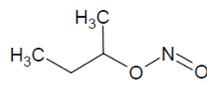
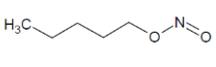
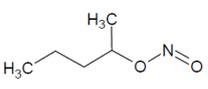
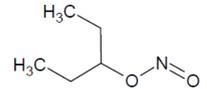
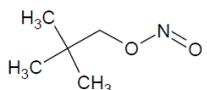
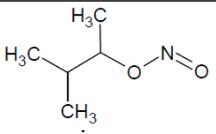
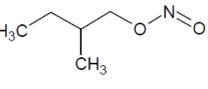
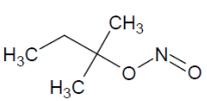
Chemical structures of analogues of butyl nitrite and pentylnitrite unregulated as the designated substances			
 2-butyl nitrite	 <i>n</i> -pentyl nitrite	 2-pentyl nitrite	 3-pentyl nitrite
 <i>Neo</i> -pentyl nitrite	 <i>sec-iso</i> -pentyl nitrite	 2-methyl-1-butyl nitrite	 <i>tert</i> -pentyl nitrite

Fig. II-10 Chemical structures of alkyl nitrites regulated and analogues of butyl nitrites and pentyl nitrite unregulated as the designated substances.

測定の結果，得られた亜硝酸エステル各マススペクトルを Fig. II-11 に示す．

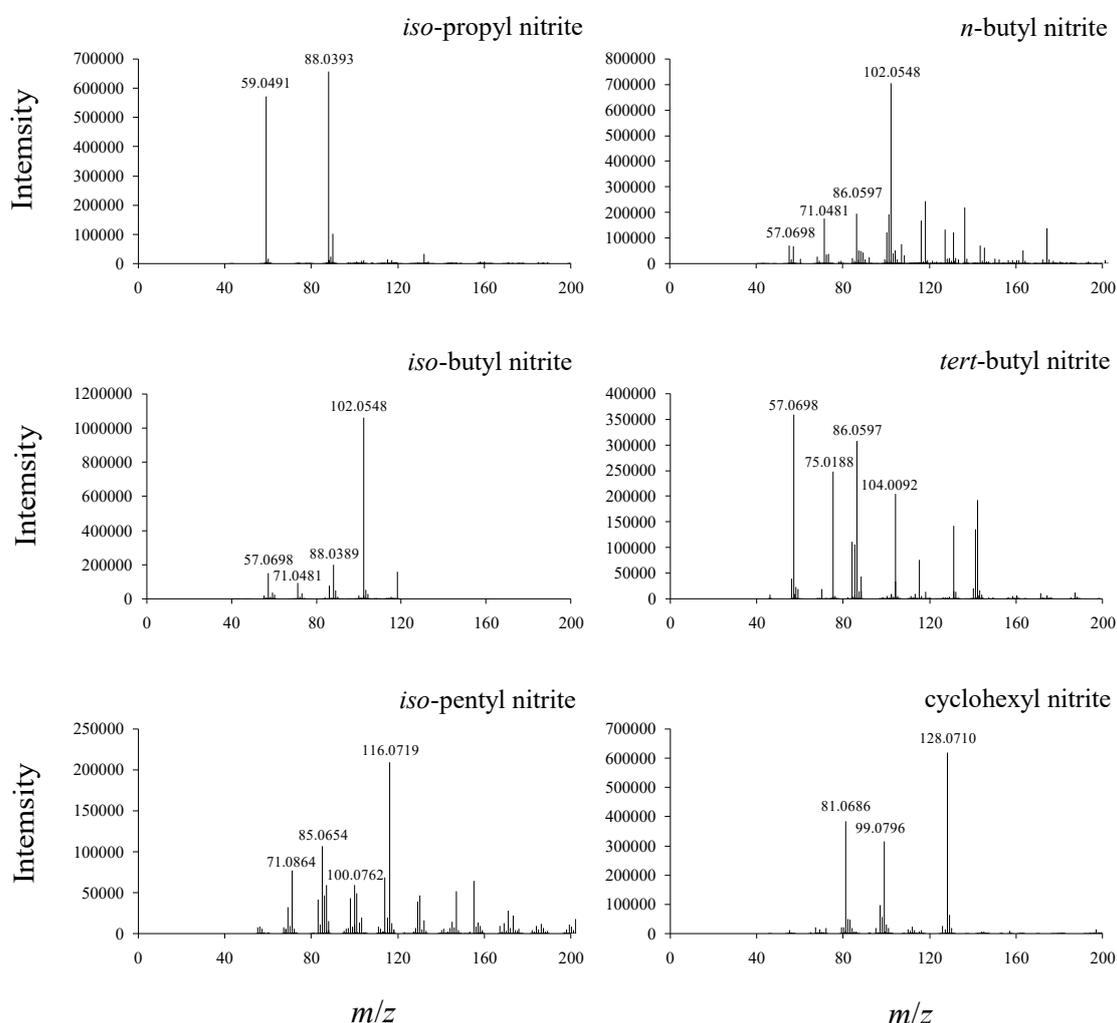


Fig.II-11 Mass spectra of alkyl nitrites measured by DART-TOF-MS.

tert-butyl nitrite を除いた全ての亜硝酸エステルにおいて，各亜硝酸エステルのプロトン付加分子より 2 水素原子少ない元素組成を有するフラグメントイオン (*iso*-propyl nitrite では $[C_3H_6NO_2]^+$ (m/z 88.0393)，*n*-butyl nitrite および *iso*-butyl nitrite では $[C_4H_8NO_2]^+$ (m/z 102.0548)，*iso*-pentyl nitrite では $[C_5H_{10}NO_2]^+$ (m/z 116.0719)，cyclohexyl nitrite では $[C_6H_{10}NO_2]^+$ (m/z 128.0710)) が高い強度で検出された．これらイオンはベースピークとして検出されていることから，感度の低い亜硝酸エステルのプロトン付加分子よりも同イオンをターゲットとする方が有効であると考えられた．更に，各亜硝酸エステルの DART-TOF-MS 測定において，多数のフラグメントイオンも検出されてお

り、各亜硝酸エステルのマスペクトルに差がみられ、それぞれ識別することが可能であることが確認された。特に、識別が困難であると予想された *n*-butyl nitrite, *iso*-butyl nitrite, *tert*-butyl nitrite の 3 種類の構造異性体について、*tert*-butyl nitrite で特徴的に検出される m/z 75.0188 および 104.0092 のマスペクトルをターゲットにすることで *n*-butyl nitrite および *iso*-butyl nitrite との識別が可能であった。また、*n*-butyl nitrite と *iso*-butyl nitrite の識別では、*iso*-butyl nitrite は m/z 88.0389, *n*-butyl nitrite は m/z 86.0597 のフラグメントイオンをターゲットとすることで両者の識別が可能であることが示唆された。

また、*n*-butyl nitrite, *iso*-butyl nitrite および *tert*-butyl nitrite の構造異性体である 2-butyl nitrite, *iso*-pentyl nitrite の構造異性体である *n*-pentyl nitrite, 2-pentyl nitrite, 3-pentyl nitrite, *Neo*-pentyl nitrite, *Sec*-*iso*-pentyl nitrite, 2-methyl-1-butyl nitrite, *tert*-pentyl nitrite について DART-TOF-MS で測定し、識別が可能であるか検証した。測定の結果得られた各種構造異性体のマスペクトルを Fig.II-12 に示す。*tert*-butyl nitrite と 2-butyl nitrite では *tert*-butyl nitrite で特有に検出される m/z 75.0188 および 104.0092 のフラグメントイオン, *n*-butyl nitrite 並びに *iso*-butyl nitrite と 2-butyl nitrite の識別には、2-butyl nitrite で強く検出される m/z 73.0643 が有効であった。*iso*-pentyl nitrite と構造異性体について、2-pentyl nitrite, 3-pentyl nitrite, *Neo*-pentyl nitrite, および *Sec*-*iso*-pentyl nitrite との識別にはこれら構造異性体で強く検出される m/z 87.0791, *tert*-pentyl nitrite との識別では *iso*-pentyl nitrite で強く検出される m/z 116.0719 をターゲットとすること, 更に、各マスペクトルを比較することで容易にそれぞれを同定可能であった。また、*n*-pentyl nitrite および 2-methyl-1-butyl nitrite では、両者で強く検出される m/z 103.0760 に着目することで識別することが可能であった。DART-TOF-MS はソフトイオン化法であることから、一般的には化合物のプロトン付加分子を検出し、その精密質量から化合物のスクリーニングを行うが、構造異性体では精密質量が同じであるため、プロトン付加分子の情報だけでは化合物の同定は困難である。そのため、インソース CID を用いてフラグメントイオンを発生させ化合物を同定する報告もされている^{63, 69-71)}。今回測定対象とした亜硝酸エステルの場合

合、イオン源において複雑なフラグメンテーションが引き起こされていることが推察された。このフラグメンテーションにより亜硝酸エステルのプロトン付加分子の検出は困難であったが、各亜硝酸エステルにおいて検出されるイオンの種類やマススペクトルに差が見られ、そのイオンに着目およびマススペクトルを比較することで構造異性体であっても識別することは可能であった。また、GC/MS による亜硝酸エステルの分析においてもフラグメンテーションは引き起こされており、DART-TOF-MS 測定で検出されたイオンより m/z が低いイオンが検出される特徴がある⁴⁰⁾。そのため、DART-TOF-MS と GC/MS の電子イオン化法 (EI) で引き起こされるフラグメンテーションはそれぞれ異なる機序で進行するものと推察された。

司法における鑑定試験においては、化合物同定の際に 2 つ以上の異なる試験が必要となることから、フラグメンテーション機序の異なる GC/MS と DART-TOF-MS を併用することで、より正確な同定が可能となり、更に、スクリーニングとして DART-TOF-MS を用いることで、試験時間の大幅な短縮ができるものと考えられた。

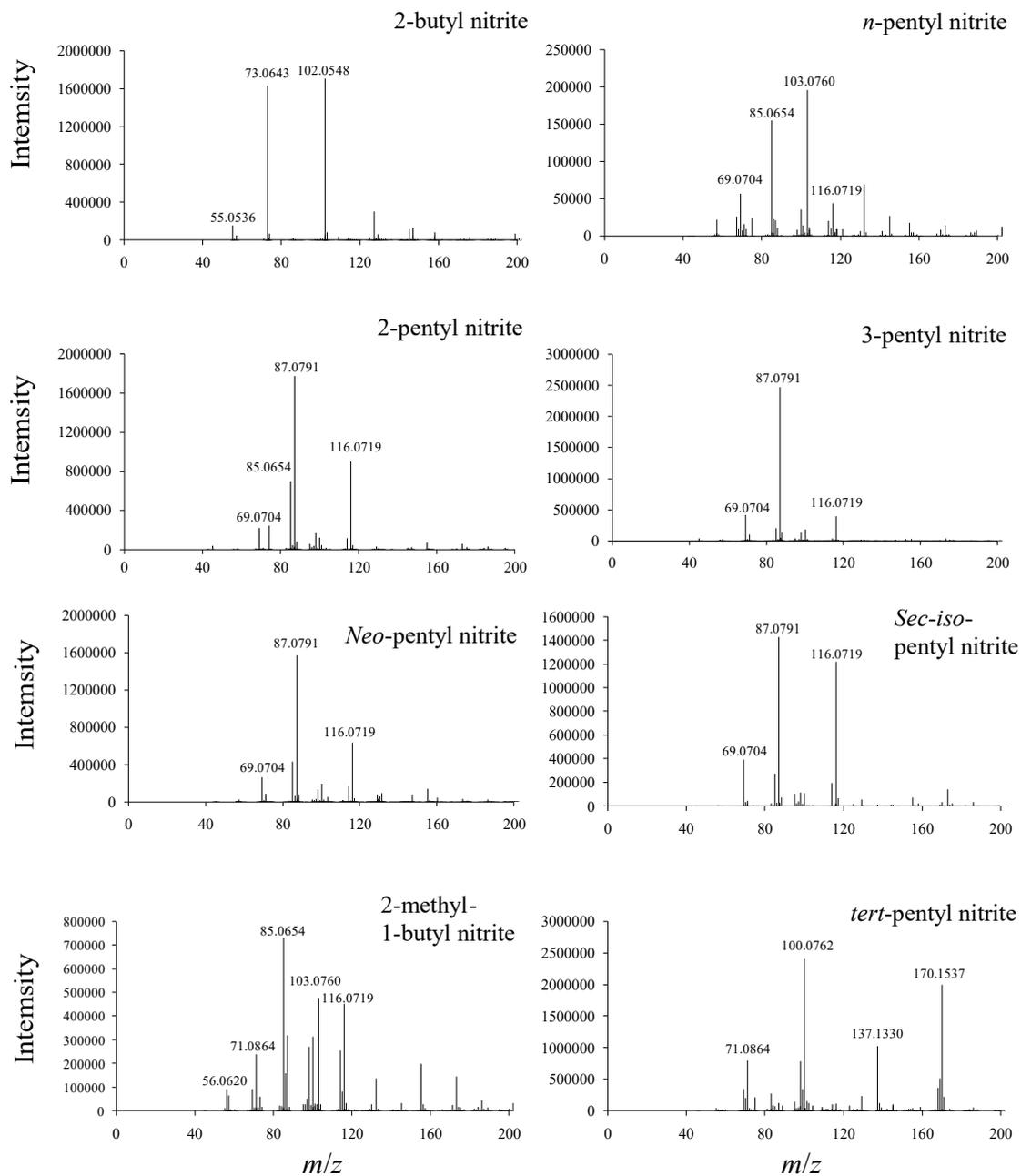


Fig.II-12 Mass spectra of analogues of butyl nitrite and pentyl nitrite measured by DART-TOF-MS.

第3項 閾値の設定

本分析法では、気化試料を一度にイオン化するため、亜硝酸エステルの一部がアルコールに分解していた場合、両者が同時に検出されるため亜硝酸エステルの同定が困難となる可能性がある。そこで、本法による亜硝酸エステルのスクリーニングについて、亜硝酸エステルのプロトン付加分子とフラグメントイオンが確実に検出可能である閾値を設定することとした。これまでの結果から、亜硝酸エステルのプロトン付加分子はフラグメントイオンと比較して検出されにくいことから、プロトン付加分子が検出されればフラグメントイオンも検出可能であると考えられた。そのため、亜硝酸エステルのプロトン付加分子が検出限界 ($S/N=3$) となる濃度を同法で測定する上での閾値として設定することが妥当であるか検討した。各亜硝酸エステルを対応するアルコールで希釈したものを試料液とし、DART-TOF-MS で測定した。その結果、各亜硝酸エステルのプロトン付加分子が検出限界となる濃度は *isopropyl nitrite* 5%, *n-, iso-*および *tert-butyl nitrite* 1%, *iso-pentyl nitrite* 5%, *cyclohexyl nitrite* 1% となり、同濃度において、フラグメントイオンも検出された。以上のことから、本法における各亜硝酸エステルの閾値を前記濃度に設定することとした。

第4節 小括

近年、発覚した覚せい剤密輸の新たな手口である *t-Boc* 基を付加し化学的にマスキングされた *t-Boc-MP* および多くの構造異性体が存在する高揮発性の亜硝酸エステルについて DART-TOF-MS を用いた分析法を検討した。

その結果、*t-Boc-MP* を測定するためには DART-TOF-MS が最適であることが判明した。その際、メタノールを溶媒としたマイクロシリンジ試料導入法を用い、イオン源温度を 200°C に設定し、試料濃度を 10 $\mu\text{g/mL}$ 程度に調整することで、*t-Boc-MP* の迅速測定が可能であった。なお、比較検討した GC/MS では、測定条件によって注入口内で *t-Boc-MP* の熱分解が起きることが確認され、それにより、*t-Boc-MP* から MP が生成され、鑑定結果の誤判定

を引き起こすことが危惧された。また、LC/TOF-MS 測定においては、マクラファティ転位によるフラグメントイオンが検出されたが、*t*-Boc-MP プロトン付加分子は検出されなかった。他方、DART-TOF-MS では、酢酸エチルを試料液とした場合でのみ熱分解が引き起こされたが、メタノールなど他の溶媒に変更することで、熱分解を回避することが可能であった。また、LC/TOF-MS と同様にマクラファティ転位による *t*-Boc-MP を同定する際の有益なフラグメントイオンが検出され、更に DART-TOF-MS 測定でのみ *t*-Boc-MP のプロトン付加分子を検出することが可能であった。以上のことから、DART-TOF-MS を用いることで、GC/MS の様な熱分解による試験結果の誤判定を回避し、フラグメントイオンだけでなくプロトン付加分子も検出できることから、*t*-Boc-MP の正確かつ迅速なスクリーニング法として DART-TOF-MS が有用であることが示唆された。

他方、亜硝酸エステルの分析については、試料注入方法としてガスタイトシリンジ-HS 法を用い、ドライブロックバス温度を 60°C、質量分析部のオリフィス 1 電圧を 30 V、DART イオン源温度 300°C に設定することで指定薬物の亜硝酸エステルを迅速にスクリーニングすることが可能であった。更に、本法を用いて構造異性体も識別することが可能であること、現場で押収された製品が数%まで分解していてもスクリーニングが可能であることが示唆された。

実際に鑑定囑託される物件は開封済みで亜硝酸エステルが一부분解しているものもあるが、高純度の亜硝酸エステルを含有した製品が多く、本法で設定した閾値で十分対応できる。更に、HS の平衡化時間を除けば、DART-TOF-MS の測定時間は 1 試料あたり数秒であり、本法は GC/MS よりも迅速に分析結果を取得し、鑑定試験の時間を短縮することが可能であった。

以上、本研究においては、新規化合物である *t*-Boc-MP および亜硝酸エステルの DART-TOF-MS を用いた分析法を確立し、危険ドラッグ鑑定への汎用性を向上させた。

第Ⅲ章 DART-TOF-MS を用いた液体危険ドラッグ中 α -PVP の 定量分析法の構築

第 1 節 序論

DART-TOF-MS は違法薬物のみならず食品中の残留農薬のスクリーニングなど様々な分野で応用されている。しかしながら，DART-TOF-MS は定量精度が低く，定量分析には向かない分析機器と言われており，その原因としてガラス棒による DART イオン源への試料位置の再現性が悪いことが挙げられている。マニュアルでの試料導入では，イオン源における上下左右の微妙な試料導入位置のずれが測定の再現性に影響を及ぼすと考えられる。そのため，試料導入位置の誤差を低減し高い再現性を得るために，Auto DART HTC PAL (Leap technologies, USA) などのオートサンプラーが開発され，更に，多検体処理に対応したロボットアームを用いた定量分析法が開発されてきた^{72,73}。しかしオートサンプラーは高価なアタッチメントであるため，あまり普及しておらず，入手が容易かつ簡易的な操作で高精度な試料導入ができるデバイスによる定量分析法の開発が望まれる。特に，危険ドラッグは，製品中に含有される成分やその濃度が不明であるため，健康被害を未然に防ぐといった観点から定性分析だけでなく定量分析も重要である。指定薬物の中でもカチノン系薬物は合成カンナビノイドと共に世界的に乱用されており，危険ドラッグ製品の実態調査をする上で迅速な定量分析が必要と考えられた。

そこで，本研究では第 I 章で考案したマイクロシリンジ試料導入法を用いた DART-TOF-MS による液体危険ドラッグ定量分析法の構築を試みた。その際のモデル化合物として，カチノン系薬物に分類され麻薬に指定されている α -PVP を用いた。

第2節 定量分析条件の検討および考察

第1項 内部標準物質の検討

第I章、第2項の実験から、危険ドラッグ液体試料の DART-TOF-MS 測定において、試料導入にマイクロシリンジを用いることで高感度な分析が実施可能であるが、試料導入精度はまだ不十分であり、導入位置の補正が必要であることが示唆された。そこで、DART-TOF-MS による食品中化学物質の定量分析に利用されている内部標準法^{36, 74)}を用いて試料導入位置の補正を試みた。しかし、内部標準物質には対象化合物と沸点が近い物質を用いなければ、両者のイオン化が同調せず、分析結果に差が生じるとの報告もある⁷²⁾。そこで本研究では、 α -PVP と類似した構造を持つ化合物で、側鎖炭素数が異なる α -Pyrolidinobuthiophenone (α -PBP), α -Pyrolidinohexanophenone (α -PHP), α -Pyrolidinoheptanophenone (PV-8) および α -Pyrolidinooctanophenone (PV-9), 並びにベンゼン環に置換基として電子吸引性基を持つ 4-Fluoro- α -PVP および電子供与性基を持つ 4-Methoxy- α -PVP を内部標準物質の候補物質として選択し、ピーク面積比の再現性について検討した。各化合物の化学構造式 (Fig. III-1) 並びに分子式および精密質量 (Table III-1) を示す。なお、 α -PVP は麻薬に指定されており、その重水素化された安定同位体を入手することは困難であることから、 α -PVP の安定同位体については内部標準物質の候補にしなかった。

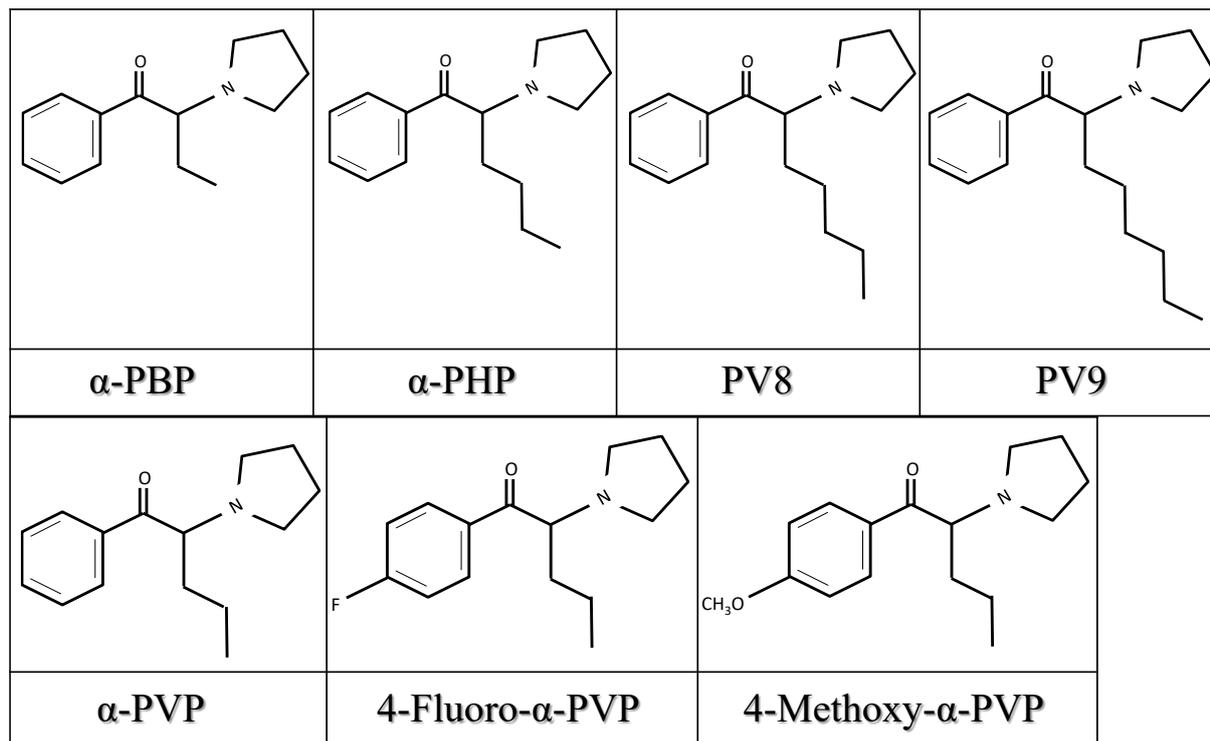


Fig.III-1 Chemical structures of α -PVP, and its related analogs.

Table III-1 Elemental compositions and exact masses of α -PVP, and its related analogs measured by DART-TOF-MS.

Compound	Elemental compositions (protonated)	Measured exact mass
α -PVP	$C_{15}H_{21}NO$	232.1624
α -PBP	$C_{14}H_{19}NO$	218.1544
α -PHP	$C_{16}H_{23}NO$	246.1818
PV-8	$C_{17}H_{25}NO$	260.1975
PV-9	$C_{18}H_{27}NO$	274.2142
4-Fluoro- α -PVP	$C_{15}H_{20}FNO$	250.1543
4-Methoxy- α -PVP	$C_{16}H_{23}NO_2$	262.1816

各内部標準物質は 50 $\mu\text{g/mL}$ のメタノール溶液として調製し， 2.5 $\mu\text{g/mL}$ α -PVP メタノール溶液 190 μL に各内部標準物質 10 μL を添加したものを試料液とし， DART-TOF-MS へ注入した．

その結果， 4-Methoxy- α -PVP 以外の物質でピーク面積比の Relative Standard Deviation (RSD) が 20% 未満となり， 良好な結果が得られた． その中でも α -PBP を内部標準物質として用いた際に最も再現性が良好となったことから， 内部標準物質として α -PBP を選択することとした (Fig.III-2)．

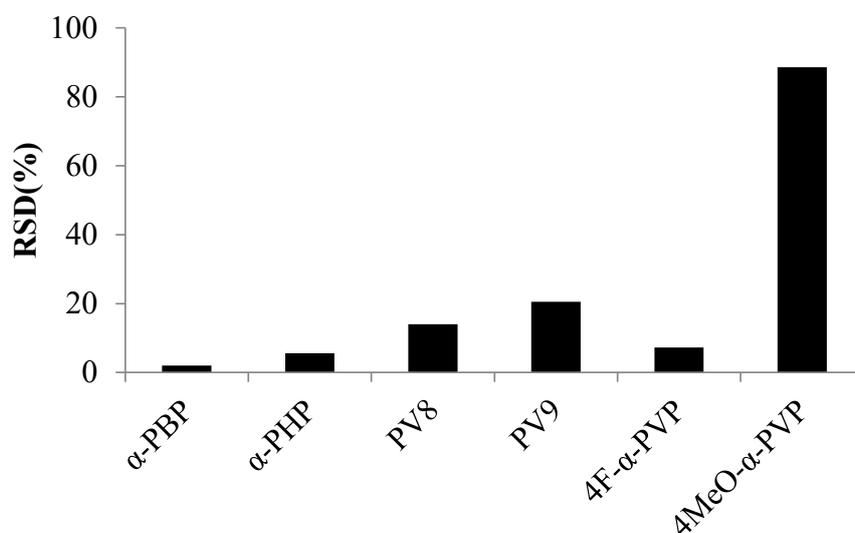


Fig.III-2 Comparisons of RSDs of peak area ratios of α -PVP and each internal standard measured by DART-TOF-MS ($n = 5$).

本研究で用いた α -PVP およびその類似化合物の沸点については参考とするデータが見受けられず， それぞれの数値を提示することはできなかった． α -PBP は α -PVP よりアルキル鎖炭素数が 1 つ少ない化合物であることから， α -PVP と沸点が比較的近く， 両化合物のイオン化が同調したため α -PBP を内部標準物質として用いた際に最もエリア比の再現性が良くなったものと考えられた． アルキル鎖炭素が 1 つ多い α -PHP については， α -PVP との沸点の差が α -PBP のそれよりも大きかったため， α -PBP より若干再現性が悪くなったと推察された． また， 各内部標準物質の化学構造とエリア比の再現性の傾向について， 以下のとおり考察した． 一般に化合物は分子量が増加するにつれて電子分極能が高くなり， van der Waals 力も大きくなるため化合物の沸点が上昇すること， また， 芳香族化合物においては電子供与性基によるベンゼ

ン環の電子密度上昇に伴って分子間相互作用が強くなることにより沸点が上昇することが知られている。本実験の測定結果においても、 α -PBP、 α -PHP、PV-8 および PV-9 については分子量が増加するにしたがってピーク面積比の RSD が上昇する傾向が確認された。また、共に α -PVP と側鎖炭素数が同じである 4-Fluoro- α -PVP と 4-Methoxy- α -PVP を比べると、ベンゼン環の電子密度が高いと思われる 4-Methoxy- α -PVP において、RSD は最も高い値が示された。他方、フッ素原子を有する 4-Fluoro- α -PVP では、フッ素原子が強い電気陰性度を持つためベンゼン環の電子密度の低下と共に電子分極能も低下し、沸点は比較的lowめに抑えられて α -PVP に近くなり、RSD も低くなったと推察された。

以上のことから、本研究でモデル化合物として選択した α -PVP においても、その沸点と近い内部標準物質を選択することで、再現性の良い分析結果を得られることが示唆された。

第2項 希釈溶媒の検討

DART-TOF-MS 測定における溶媒の影響が検討されており、水溶液よりもメタノール溶液の方が良好な感度が得られるとの報告がある⁴⁵⁾。また、定量分析において感度および精度の良いデータ得るためには、適切な揮発性と粘性を持つ溶媒を選択する必要があると言われている⁷⁵⁾。このことから、揮発性や粘性の異なる希釈溶媒としてメタノール、水、アセトン、アセトニトリル、エタノールおよびイソプロパノールを選択し、 α -PVP の分析において最適な感度と再現性を示す溶媒について検討した。その際、 α -PVP 各種標準液 190 μ L に対して、内部標準物質として 50 μ g/mL の α -PBP メタノール溶液 10 μ L を添加したものを試料液とし、DART-TOF-MS で測定した。

その結果、検出感度については、メタノール、アセトン、水、エタノール、アセトニトリル、イソプロパノールの順で良好な感度が得られた (Fig. III-3)。また、内部標準物質とのピーク面積比の再現性は、水以外の溶媒で良好な結果となり、メタノール溶液で最も良くなった (Fig. III-4)。以上のことから、希釈溶媒としてメタノールを用いることとした。

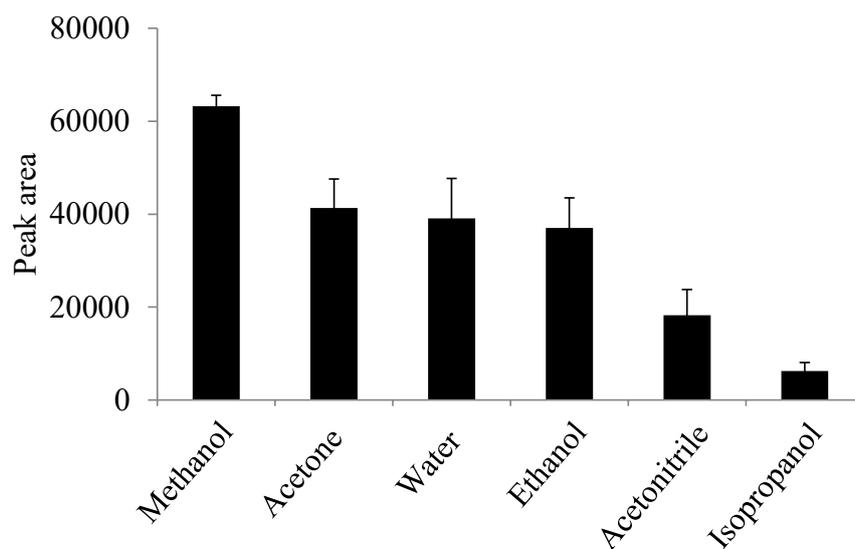


Fig.III-3 Comparisons of average peak areas of α -PVP dissolved in various solvents measured by DART-TOF-MS ($n=5$).

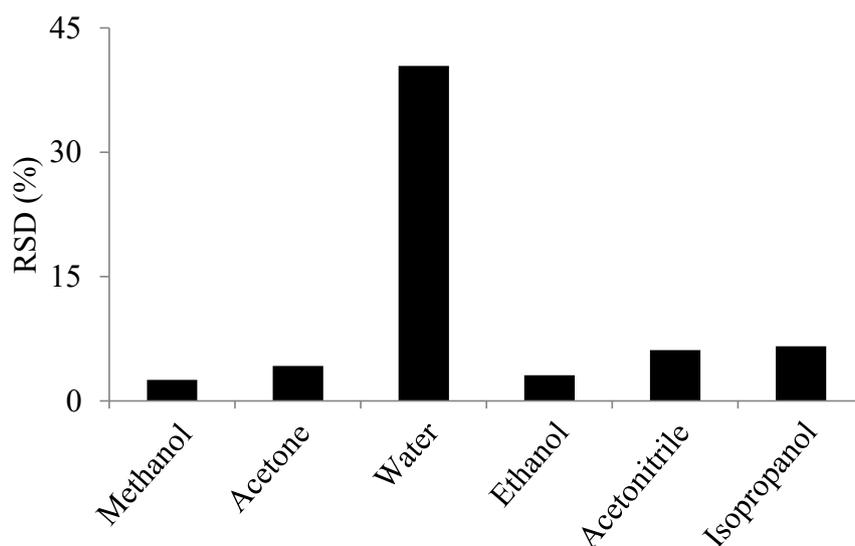


Fig.III-4 Comparisons of RSDs of peak area ratios of α -PVP and α -PBP dissolved in various solvents measured by DART-TOF-MS ($n=5$).

本研究で用いた溶媒は沸点の低い順に並べると、アセトン、メタノール、エタノール、アセトニトリル、イソプロパノール、水の順になる。 α -PVPの検出感度は、水およびアセトン以外の有機溶媒では沸点の低い順に感度が上昇していた。アセトン以外の有機溶媒について、シリンジ先端に形成させた液滴を DART イオン源に注入するまで維持することが可能であった。また、沸点が低い溶媒ほど試料導入時の溶媒揮発時間は短くなり、スムーズに試料

導入を実施することができた。アセトンは沸点が最も低い有機溶媒であるが、メタノールよりも感度が低いという結果になった。アセトンは高い揮発性を持つ有機溶媒であるが、シリンジ先端に形成させたアセトンの液滴は DART イオン源へ注入する前にそのほとんどが揮発してしまった。その揮発の際に溶解していた α -PVP が濃縮され、その一部はシリンジへ吸着するものと推察された。イオン源への試料導入におけるイオン化の流れとして、まずシリンジ先端のアセトンの液滴にヘリウムガスが当たり、アセトンに溶解している α -PVP が瞬時にイオン化され、次にシリンジへ吸着した α -PVP にヘリウムガスが当たりイオン化されると考えられる。このように、液滴に溶解またはシリンジに吸着した α -PVP のイオン化にはタイムラグがあり、本研究では液滴が揮発した時点でイオン源からシリンジを離し試料導入終了としており、シリンジに吸着した α -PVP のイオン化にロスがあったため、アセトンにおいて感度が低下したものと推察された。

また、DART イオン源によるイオン化の原理は、励起状態のヘリウムガスによりクラスター化した水イオンが形成され、その水イオンから化合物へプロトンが付加されることで試料がイオン化される⁷⁶⁾。水の沸点は選択した溶媒の中で最も高く揮発しにくいため、感度が最も低くなると予想されたが、DART のイオン化の原理から溶媒の水自体もプロトンの供給源となり、メタノールほどではないが感度が良くなったと考えられた。

また、水は揮発性が低いことから、形成した液滴がなかなか揮発せず、他の有機溶媒と比べて長い間イオン源にかざしてなければならなかった。そのため、試料をイオン源にかざしている際に手ぶれが起きてしまい、質量分析部への試料導入が安定しなかった。以上のことが、水でのピーク面積比の再現性が他の有機溶媒に比べて悪くなった原因として挙げられた。本研究の結果では、溶媒の沸点と粘性についてそれぞれ感度と再現性について相関性は見られなかった。しかし、DART-TOF-MS を用いて内部標準法により定量分析を行う際には、シリンジの先端で液滴を形成できる程度の粘性とイオン源に液滴をかざした際に即座に揮発するような溶媒を用いることで感度および再現性のよいデータを得ることが可能であることが示唆された。

第3項 DART イオン源温度の検討

DART イオン源の温度設定を 100~500°C の範囲で設定し, α -PVP の検出感度および α -PBP とのピーク面積比の再現性について検討した. 100 $\mu\text{g/mL}$ の α -PVP メタノール溶液 190 μL に対して, 内部標準物質として 50 $\mu\text{g/mL}$ の α -PBP メタノール溶液 10 μL を添加したものを試料液とし, DART-TOF-MS で測定した. その結果, 200°C 以降の温度でほぼ同程度の検出感度となった (Fig.III-5). また, α -PBP とのピーク面積比の RSD は, 100~250°C の範囲で 15%未満となった (Fig.III-6).

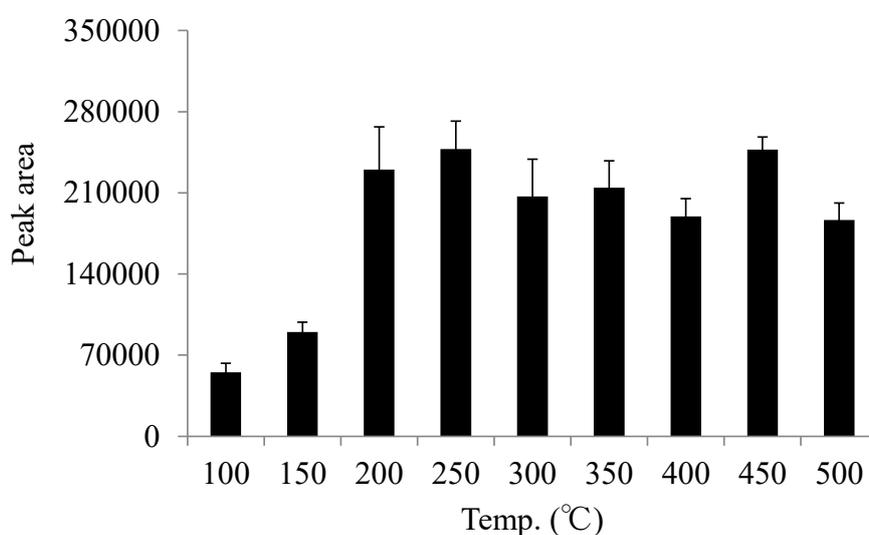


Fig.III-5 Comparisons of average peak areas of α -PVP at various DART ion source temperatures measured by DART-TOF-MS ($n=5$).

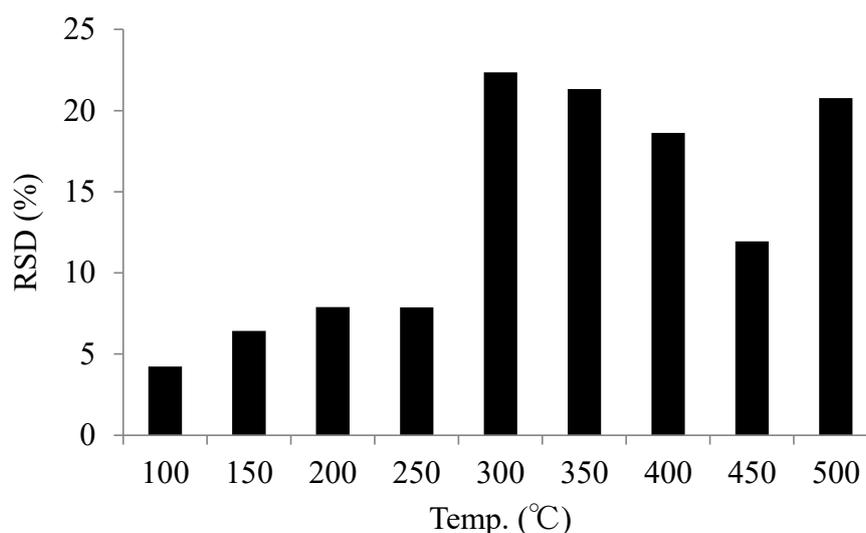


Fig.III-6 Comparisons of RSDs of peak area ratios of α -PVP and α -PBP at various DART ion source temperatures measured by DART-TOF-MS ($n=5$).

次に， DART イオン源温度を 100～250°C に設定し， メタノールで 0.1, 2.5, 25, 50 および 100 $\mu\text{g/mL}$ の $\alpha\text{-PVP}$ 標準液を調製し， $\alpha\text{-PBP}$ とのピーク面積比の RSD について検討した． その結果， イオン源温度を 200°C に設定することにより， 全濃度の試料液でピーク面積比の RSD が 15%未満となった (Fig.III-7)． 以上のことから， DART イオン源温度を 200°C に設定することとした．

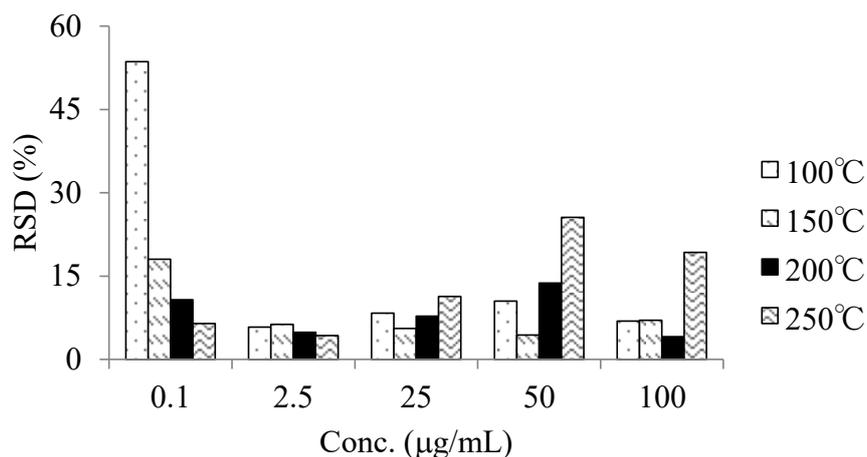


Fig. III-7 Comparisons of RSDs of peak area ratios of $\alpha\text{-PVP}$ and $\alpha\text{-PBP}$ at various concentrations and DART ion source temperatures measured by DART-TOF-MS ($n=5$).

第4項 希釈倍率およびマトリックス効果の検討

液体危険ドラッグ中 $\alpha\text{-PVP}$ の定量分析において， 実試料をメタノールで希釈する際の希釈倍率について検討した． LC/MS では， イオン化法として ESI 法が汎用されており， 測定感度に影響を及ぼす現象として試料中に含有される夾雑物によるマトリックス効果が知られている⁷⁷⁾． この現象は DART イオン化法においても報告されており^{73,74)}， 試料中に含有される目的化合物と夾雑物が同時にイオン化される同法ではその影響は無視できない． 本研究で用いる液体危険ドラッグにおいても様々な夾雑物が含有されていることが予想されたためマトリックス効果による影響についても検討した．

$\alpha\text{-PVP}$ 含有液体危険ドラッグ実試料をメタノールで 10, 10², 10³, 10⁴, 10⁵ および 10⁶ 倍希釈した． その希釈液 190 μL に対して 50 $\mu\text{g/mL}$ の $\alpha\text{-PBP}$ 内部標準液 10 μL を添加したものを試料液とし， DART-TOF-MS で測定した．

10 倍および 10² 倍希釈した場合 $\alpha\text{-PVP}$ は検出されたが， $\alpha\text{-PBP}$ はほとんど

検出されなかった。これらの希釈倍率では試料液中夾雑物の濃度が高く、夾雑物によるイオンサプレッションが α -PBP のイオン化に強く影響を及ぼしたためと考えられた。次に $10^4 \sim 10^6$ 倍希釈した場合、 α -PBP は十分検出可能であったが、 α -PVP の感度は非常に悪かった。 $10^4 \sim 10^6$ 倍希釈では夾雑物の濃度は低下し、 α -PBP に対するイオンサプレッションの影響も低下して α -PBP は検出可能であったが、含有されている α -PVP にとっては過剰な希釈となり、検出が困難になったものと考えられた。他方、 10^3 倍希釈した場合、 α -PVP および α -PBP は十分検出可能であった。

以上のことから、液体危険ドラッグ中 α -PVP の DART-TOF-MS による定量分析において、実試料をメタノールで 10^3 倍希釈することで、 α -PVP と α -PBP の両化合物を同時に検出可能であることが示唆された。

第3節 分析法バリデーションおよび考察

第1項 検出限界，定量下限値および検量線

検出限界は $0.03 \mu\text{g/mL}$ となり，定量下限値は $0.1 \mu\text{g/mL}$ となった。検量線は， $0.1 \sim 50 \mu\text{g/mL}$ の範囲で調製したところ，相関係数は 0.999 と良好な相関関係が得られた。

第2項 真度および精度

再現性試験の結果，得られた真度および精度を Table III-2 に示す。真度は $\pm 4\%$ 未満，精度は 9% 未満と良好な結果が得られた。

Table III-2. Accuracy and precision of measured values of α -PVP at various concentrations by DART-TOF-MS using a microsyringe injection method.

Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	Accuracy (%)	Precision (%)	
		Intra assay precision	Intermediate precision
0.2	1.29	6.37	8.81
25	-2.91	5.13	7.5
40	-3.47	4.31	4.16

第4節 実資料の液体危険ドラッグ中 α -PVP 定量分析および考察

DART-TOF-MS と GC/MS を用いて、液体危険ドラッグ中 α -PVP を定量分析したところ、DART-TOF-MS での定量値は 1026 $\mu\text{g/mL}$ であり、GC/MS では 1069 $\mu\text{g/mL}$ となった。1 例だけではあるが、本法により DART-TOF-MS でも信頼性のある定量分析が可能であることが示唆された。また、分析時間については、GC/MS 法では約 10 時間かかったのに対して、DART-TOF-MS では約 14 分と迅速に定量値を算出することができた。

第5節 小括

世界的に被害事例が多く、現在麻薬として規制されている α -PVP について、DART-TOF-MS を用いた迅速定量分析法を検討し、液体危険ドラッグの実試料を用いて分析法の実用性を評価した。

DART-TOF-MS は一般的に定量精度が低い分析機器と言われているが、試料導入法としてマイクロシリンジを用い、希釈溶媒としてメタノール、内部標準物質に α -PBP を選択し、イオン源温度を 200°C に設定することで、液体

危険ドラッグ中 α -PVP を精度良く定量分析することが可能であった。従来の GC/MS 法と比較しても定量値はほぼ一致しており、分析時間も大幅に短縮することが可能であったことから、本研究により、DART-TOF-MS を用いた液体危険ドラッグ中の α -PVP の迅速かつ高精度な定量分析法を構築した。

総括および結論

危険ドラッグは依然として麻薬や覚せい剤などと同様に水面下での乱用が続いており、その分析には主に GC/MS が用いられている。しかしながら、分析結果を得るまでに多大な時間がかかり、大気圧下において直接試料を測定できる DART-TOF-MS は速やかな鑑定試験の遂行に有効であると考えられる。DART-TOF-MS への試料導入法としてはガラス棒が汎用されているが、DART イオン源からのヘリウムガス流路の妨害などの欠点があり、DART-TOF-MS を危険ドラッグ分析に応用するには、試料導入法について未だ検討の余地がある。本研究では DART-TOF-MS 測定に適した試料導入法を考案するとともに、DART-TOF-MS による危険ドラッグ分析の汎用性向上および定量分析法の検討を実施し、以下に述べる成果を得ることができた。

危険ドラッグ分析における DART-TOF-MS への最適な試料導入法の確立

DART-TOF-MS への試料導入法としては、従来ガラス棒に試料液を付着させたものを DART イオン源にかざす方法が用いられてきた。しかしながら、ガラス棒では DART イオン源からのヘリウムガス流路妨害による感度低下や高揮発性の亜硝酸エステルの測定には向かないといったデメリットがあった。そこで本研究では危険ドラッグの試料液および亜硝酸エステルの DART-TOF-MS 測定に適した試料導入法について検討した。その結果、メタノールで調製された試料液についてはマイクロシリンジ試料導入法により、ガラス棒よりも効率よく DART-TOF-MS へ試料導入でき、より高感度な測定が可能となった。また、亜硝酸エステルについては製品に混入される不揮発性成分の影響を軽減できると推察されたことから、ガスタイトシリンジを用いた HS 法が亜硝酸エステルの DART-TOF-MS 測定に最適であった。

t-Boc-MP の DART-TOF-MS を用いた分析法の確立

t-Boc-MP は近年、覚せい剤の新たな密輸手口として合成された化合物である。本研究において、GC/MS では注入口での熱分解による MP の検出によ

る誤判定の危険性があり，他方，LC/MS では *t*-Boc-MP のプロトン付加分子が検出困難であるなどの欠点を確認された．これに対し，マイクロシリンジ試料導入法を用いた DART-TOF-MS 測定においては，*t*-Boc-MP のプロトン付加分子のみならず，マクラファティ転位によるフラグメントイオンも検出され，構造解析による詳細な化合物同定も可能であった．以上のことから，*t*-Boc-MP の分析において DART-TOF-MS は有用であり，DART-TOF-MS を用いた迅速かつ正確な分析法を確立した．

亜硝酸エステルの DART-TOF-MS を用いた分析法の確立

亜硝酸エステルについて，従来の GC/MS による分析報告はあるが，DART-TOF-MS を用いた分析法は確立されていない．そこで，指定薬物の亜硝酸エステルのみならず未規制の構造異性体を DART-TOF-MS で測定し，それぞれを識別可能であるか検討した．その際，試料導入法にガスタイトシリンジ-HS 法を用いた．その結果，DART-TOF-MS 測定において，各亜硝酸エステルでフラグメンテーションが確認され，各亜硝酸エステルで検出される特徴的なフラグメントイオンやマススペクトルを比較することで DART-TOF-MS 測定でも亜硝酸エステルの構造異性体を識別することが可能であった．更に，構築した分析法は捜査現場で押収される高純度の亜硝酸エステル製品に対応可能であり，法科学における速やかな鑑定試験に貢献できるものと考えられた．

DART-TOF-MS を用いた液体危険ドラッグ中 α -PVP の定量分析法の確立

DART-TOF-MS は定量精度の低い分析機器と言われているが，定量分析への応用が可能となれば鑑定時間の大幅な短縮が期待できる．本研究では麻薬として規制され，世界的にも被害事例が多い α -PVP をモデル化合物として，DART-TOF-MS を用いた定量分析法について検討した．その結果，マイクロシリンジ試料導入法と内部標準物質を併用することで，DART-TOF-MS を用いた液体危険ドラッグ中 α -PVP の迅速かつ高精度な定量分析法を構築した．

以上，本研究では，DART-TOF-MS への試料導入効率が良好なマイクロシ

リング試料導入法，および高揮発性の亜硝酸エステルの最適な試料導入法としてガスタイトシリンジ-HS法を考案した．これにより，*t*-Boc-MP および亜硝酸エステルの分析法を確立し，危険ドラッグ分析における DART-TOF-MS の汎用性を向上させた．更に，内部標準物質を用いたマイクロシリンジ試料導入法により試料導入の再現性を改善し，DART-TOF-MS を用いた液体危険ドラッグ中 α -PVP の定量分析法を構築した．

本研究で考案した試料導入法は DART-TOF-MS を用いた日常の分析業務に取り入れやすく，かつ定性・定量分析において大幅な分析時間の短縮に貢献できると考えられた．本研究は危険ドラッグ鑑定における DART-TOF-MS の新たな有用性を導き出す，有意義な分析方法を提示できたものとする．

謝辞

本研究に際し，始終ご懇篤なるご指導とご鞭撻を賜りました星薬科大学薬品分析化学研究室 教授 斉藤貢一先生に厚く御礼申し上げ，深く感謝いたします。

本研究の実験に際し，種々有益な助言，協力を頂いた共同研究者の阿久津守 四国厚生支局麻薬取締部長，他，関東信越厚生局麻薬取締部鑑定課職員一同に心から感謝の意を表します。

終わりに臨み，博士論文を書き上げられたことに対して，これまでお世話になった全ての方々に改めて謝意を表します。

実験の部

1 試料および試薬

1-1 試料

α -PVP を含有する液体危険ドラッグは国庫帰属品を用い、ブランク試料として使用した α -PVP を含有しない液体危険ドラッグは無価物品を使用した。(第 I 章および第 III 章)

1-2 試薬

α -PVP, α -PBP, α -PHP, PV-8, PV-9, 4-Fluoro- α -PVP および 4-Methoxy- α -PVP は Cayman Chemical 社 (Ann Arbor, Michigan, USA) から購入した。(第 I 章および第 III 章)

Methamphetamine 塩酸塩は国庫帰属品を用いた。二炭酸ジ-*tert*-ブチルは東京化成工業 (株) (Tokyo, Japan) から購入した。*t*-Boc-MP の合成は Davis らが報告した *t*-Boc-アミンの合成法⁵⁶⁾を参考に実施した。(第 II 章)

指定薬物である *n*-butyl nitrite, *iso*-butyl nitrite, *tert*-butyl nitrite, *iso*-pentyl nitrite および cyclohexyl nitrite はシグマアルドリッチ (St. Louis, Missouri, USA) から購入し, *iso*-propyl nitrite は合成したものをを使用した³⁹⁾。また, 未規制である構造異性体の亜硝酸エステル 8 種類も合成した³⁹⁾。合成したものは NMR を用いて構造解析を行った。(第 II 章)

その他の試薬は特級品を関東化学 (株) (Tokyo, Japan) から購入した。(全章)

2 器具および装置

2-1 器具

オートサンプラー用マイクロシリンジ (容量: 10 μ L, ゲージ: 23S-26S) およびガスタイトシリンジ (容量: 0.5 mL, ゲージ: 22S) はハミルトン製 (Reno, Nevada, USA) のものを使用した。

2-2 装置

ドライブブロックバス: アズワン(株) (Osaka, Japan) (第 I 章および第 II 章)

GC/MS: Agilent 社製 (Santa Clara, California, USA)

7890A GC/5975C MSD system (第 II 章および第 III 章)

LC/TOF-MS: LC 部 Waters 社製 (Milford, Massachusetts, USA)

ACQUITY UPLC instrument

TOF-MS 部 Waters 社製 Xevo G2 QToF mass spectrometer

(第 II 章)

DART-TOF-MS:

イオン源: イオンセンス社製 (Saugus, Massachusetts, USA)

DART-SVPTM (全章)

質量分析部: 日本電子社製 (Tokyo, Japan) AccuTOF LC-plus JMS-T100LP

(第 II 章および第 III 章)

日本電子社製 AccuTOF LC-plus 4G (第 I, II 章)

3 実験方法

3-1 DART-TOF-MS への試料導入法

3-1-1 マイクロシリンジ試料導入法

マイクロシリンジで試料液を 0.4 μ L 採取し, プランジャーをゆっくり押し出しマイクロシリンジ先端に液滴を形成し保持させた. その状態を維持しつつ, DART イオン源電離域の中間付近に向かって真横からシリンジの先端を導入し, 液滴が揮発するのを確認後にすぐに DART イオン源からマイクロシリンジを離れた. (全章)

3-1-2 ガスタイトシリンジ-HS 法

亜硝酸エステル 0.1 mL を容量 1.5 mL のガラスバイアルに入れ, シリコン製のセプタムが付いた蓋で密閉後, 60°C に設定したドライブブロックバスで 10 分間加熱した. その後ガラスバイアル内の気体をガスタイトシリンジで 0.1 mL 採取し, 採取した気体を DART イオン源の電離域に向かって注入

することで DART-TOF-MS 測定を実施した。(第 I 章および第 II 章)

3-2 第 III 章の液体危険ドラッグ中 α -PVP の定量分析に関する実験

3-2-1 分析法バリデーション

α -PVP を含有しない液体危険ドラッグをメタノールで 10^3 倍希釈したものをブランク試料として使用した。ブランク試料を用いて、 $0.1 \sim 50 \mu\text{g/mL}$ の α -PVP 検量線用標準液を調製した。各標準液 $190 \mu\text{L}$ に対して $50 \mu\text{g/mL}$ の内部標準物質を $10 \mu\text{L}$ 添加して試料液とし、DART-TOF-MS で 5 回繰り返し測定を行った。 α -PVP と内部標準物質のピーク面積からピーク面積比を算出して測定値とし検量線を作成した。検出限界および定量下限は検出限界 = $3.3 \sigma/\text{slope}$ 、定量下限値 = $10 \sigma/\text{slope}$ の式を用いて算出した。 σ はブランク試料測定値の標準偏差、 slope は検量線の傾きを示す。

真度および精度の測定では、ブランク試料を用いて、低濃度 ($0.2 \mu\text{g/mL}$)、中濃度 ($25 \mu\text{g/mL}$) および高濃度 ($40 \mu\text{g/mL}$) の α -PVP 含有標準液を調製し、各標準液 $190 \mu\text{g/mL}$ に対して $50 \mu\text{g/mL}$ の内部標準物質を $10 \mu\text{L}$ 添加して試料液とし DART-TOF-MS で測定した。各濃度とも 1 日 5 回の繰り返し測定を 5 日間実施し、真度は各濃度における測定値の平均値と各設定濃度の誤差とし、精度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) を算出することにより評価した。

3-2-2 定量分析

液体危険ドラッグ中 α -PVP の定量分析において、DART-TOF-MS 測定では、液体危険ドラッグをメタノールで 10^3 倍希釈し、希釈液 $190 \mu\text{L}$ に対して $50 \mu\text{g/mL}$ の内部標準物質 $10 \mu\text{L}$ を添加し試料液とし、DART-TOF-MS で 4 回繰り返し測定した。また、GC/MS を用いた定量値との比較も行った。GC/MS 分析では、液体危険ドラッグをメタノールで 100 倍希釈し、希釈液 $150 \mu\text{L}$ に対して $50 \mu\text{g/mL}$ の内部標準物質 $50 \mu\text{L}$ を添加して試料液とし、4 回繰り返し測定した。

3-3 各分析機器測定条件

3-3-1 DART-TOF-MS 測定条件

質量分析計は AccuTOF LC-plus JMS-T100LP, または AccuTOF LC-plus 4G を用い, とともに DART イオン源 (イオンセンス社製) が連結されたものを測定装置として使用した. 測定条件は以下のとおりであり, 質量校正にはポリエチレングリコール 200 (PEG 200) を使用した.

全章における α -PVP および t -Boc-MP の DART-TOF-MS 測定条件

DART 条件

測定モード : ポジティブイオンモード

ヘリウムガス流速 : 3.5 mL/min

イオン源温度 : 100-500°C

ニードル : 3200 kV

TOF-MS 条件

オリフィス 1 電圧 : 10 V

オリフィス 1 温度 : 180°C

オリフィス 2 電圧 : 5 V

リングレンズ電圧 : 5 V

イオンガイド電圧 : 300 V

リフレクトロン : 980 V

測定範囲 : 0-1000 (u)

第 I 章および第 II 章における亜硝酸エステルの DART-TOF-MS 測定条件

DART 条件

測定モード : ポジティブイオンモード

ヘリウムガス流速 : 3.5 L/min

イオン源温度 : 300°C

ニードル : 3200 kV

TOF-MS 条件

オリフィス 1 電圧 : 30 V

オリフィス 1 温度 : 80°C
オリフィス 2 電圧 : 5 V
リングレンズ電圧 : 5 V
イオンガイド電圧 : 300 V
リフレクトロン : 980 V
測定質量範囲 : 10-500 (u)

3-3-2 GC/MS 測定条件

第 II 章における *t*-Boc-MP の GC/MS 測定条件

GC/MS 装置 : 7890A GC/5975C MSD system (Agilent 社製)
分析カラム : DB-5MS (30 m × 0.25 mm i.d., 膜厚 0.25 μm) (Agilent 社製)
注入口温度 : 200°C
カラム温度 : 60°C (1 min 保持) - 10°C /min 昇温 - 300°C (5 min 保持)
トランスファーライン温度 : 280°C
試料注入量 : 1 μL
試料注入方法 : スプリット (20 : 1) およびスプリットレス
キャリアーガス : ヘリウムガス (1.2 mL/min)
イオン化法 : 電子イオン化 (EI)
イオン化電圧 : 70 eV
イオン源温度 : 280°C
四重極温度 : 150°C
測定モード : SCAN (*m/z* 40 - 500)

第 III 章における α-PVP の GC/MS 測定条件

GC/MS 装置 : 7890A GC/5975C MSD system (Agilent 社製)
分析カラム : DB-5MS (30 m × 0.25 mm i.d., 膜厚 0.25 μm) (Agilent 社製)
注入口温度 : 250°C
カラム温度 : 60°C (1 min 保持) - 10°C /min 昇温 - 300°C (5 min 保持)
トランスファーライン温度 : 280°C
試料注入量 : 1 μL

試料注入方法：スプリット（20：1）
キャリアーガス：ヘリウムガス（1.2 mL/min）
イオン化法：電子イオン化（EI）
イオン化電圧：70 eV
イオン源温度：280°C
四重極温度：150°C
測定モード：SCAN (m/z 40-500)

3-3-3 LC/TOF-MS 測定条件

第II章における *t*-Boc-MP の LC/TOF-MS 測定条件

t-Boc-MP の LC/TOF-MS 測定において、低コリジョンエネルギーと高コリジョンエネルギーでプリカーサーイオンとプロダクトイオン情報を一回のインジェクションで取得できる MS^Eモードを用いた。

LC 部：ACQUITY UPLC instrument（Waters 社製）

カラム：ACQUITY UPLC HSS C18 column

（150 mm × 2.1 mm i.d., 粒子径 1.8 μm, Waters 社製）

移動相 A：5 mM ギ酸アンモニウム水溶液（pH 3）

移動相 B：0.1%（v/v）ギ酸含有アセトニトリル

流速：0.4 mL/min

グラジエント：80% A 液 / 20% B 液（2 min 保持）→

20% A 液 / 80% B 液（2 min-15 min, 8 min 保持）→

80% A 液 / 20% B 液（23 min-24 min, 6 min 保持）

注入量：1 μL

カラム温度：50°C

TOF-MS 部：Xevo G2 QToF Mass Spectrometer（Waters 社製）

イオン化法：Electrospray ionization（ESI）

極性：ポジティブ

イオン源温度：150°C

キャピラリー電圧：0.83 kV

コーン電圧：40 V

コリジョンエネルギー：ファンクション 1：6 V,

ファンクション 2：10-40 V

スキャン範囲： m/z 50-1000

積算時間：0.2 s

質量校正：ロイシン エンケファリン (m/z 556.2771)

引用文献

- 1) 厚生労働省医薬生活衛生局監視指導・麻薬対策課，麻薬・覚醒剤行政の概況（2018），p.211.
- 2) 花尻（木倉）瑠理，危険ドラッグの規制と流通実態について，薬剤学，**75**（2），121-127（2013）.
- 3) 花尻（木倉）瑠理，危険ドラッグの法規制と流通実態変化，日本薬理学雑誌，**150**，129-134（2017）.
- 4) 花尻（木倉）瑠理，内山奈穂子，川村麻衣子，緒方潤，合田幸広，違法ドラッグを取り巻く国内外における現状と規制について，薬学雑誌，**133**（1），31-40（2015）.
- 5) 阿久津守，薬物問題の現状と薬物鑑定，薬学雑誌，**139**（5），693-697（2019）.
- 6) United Nations Office on Drug and Crime, UNODC Early Warning Advisory on New psychoactive substance, <<https://www.unodc.org/LSS/Home/NPS>>, cited 24 November, 2019.
- 7) Adamowicz P., Fatal intoxication with synthetic cannabinoid MDMB-CHMICA, *Forensic Sci. Int.*, **261**, 5-10 (2016).
- 8) Wetin A. A., Frost J., Brede W. R., Gundersen P. O. M., Einvik S., Aarset H., Slordal Lars., Sudden Cardiac Death Following Use of the Synthetic Cannabinoid MDMB-CHMICA, *J. Anal. Toxicol.*, **40**, 86-87 (2016).
- 9) Breindahl T., Kimergard A., Andreassen M. F., Pedersen D. S., Identification of a new psychoactive substance in seized material: the synthetic opioid N-phenyl-N-[1-(2-phenetyl) piperidin-4-yl] prop-2-enamide (Acrylfentanyl), *Drug Test. Anal.*, **9** (3), 415-422 (2017).
- 10) Misailidi N., Papoutsis I., Nikolaou P., Katselou M., Spiliopoulou C., Athanaselis S., Furanyl fentanyl: another fentanyl analogue, another hazard for public health, *Forensic Toxicol.*, **36** (1), 1-11 (2018).
- 11) Amanda L. A. M., Melissa F., Donna P., Sherri L. K., David B., Barry K. L., Analysis of Novel Synthetic Opioid U-47700, U-50488 and Furanyl Fentanyl by LC-MS/MS in Postmortem Casework, *J. Anal. Toxicol.*, **9**, 709-717 (2016).

- 12) Shevyrin V., Melkozerov V., Nevero A., Elsov O., Shafran Y., Morzherin Y., Lebedev A. T., Identification and analytical characteristics of synthetic cannabinoids with an indazole-3-carboxamide structure bearing a-N-1-methylcarbonylalkyl group, *Anal. Bioanal. Chem.*, **407**(21), 6301-6315 (2015).
- 13) Uchiyama N., Matsuda S., Kawamura M., Kikura-Hanajiri R., Goda Y., Two new-type cannabimimetic quinolinyl carboxylates, QUPIC and QUCHIC, two new cannabimimetic carboxamide derivatives, ADB-FUBINACA and ADBICA, and five synthetic cannabinoids detected with a thiophene derivative α -PVT and an opioid receptor agonist AH-7921 identified in illegal products, *Forensic Toxicol.*, **31**, 223-240 (2013).
- 14) Liu C., Jia W., Hua Z., Qian Z., Identification and analytical characterization of six synthetic cannabinoids NNL-3, 5F-NPB-22-7N, 5F-AKB-48-7N, 5F-EDMB-PINACA, EMB-FUBINACA, and EG-018, *Drug Test. Anal.*, **9**(8), 1251-1261 (2017).
- 15) Langer N., Lindigkeit R., Schiebel H-M., Ernst L., Beuerle T., Identification and quantification of synthetic cannabinoids in “spice-like” herbal mixtures: A snapshot of the German situation in the autumn of 2012, *Drug Test. Anal.*, **6**(1-2), 59-71, 2014.
- 16) Uchiyama N., Shimokawa Y., Kawamura M., Hanajiri K. R., Hakamatsuka T., Chemical analysis of a benzofuran derivative, 2-(2-ethylaminopropyl) benzofuran (2-EAPB), eight synthetic cannabinoids, five cathinone derivatives, and five other designer drugs newly detected in illegal products, *Forensic Toxicol.*, **32**(2), 266-281 (2014).
- 17) Cody R. B., Laramée J. A., Durst H. D., Versatile New Ion Source for the Analysis of Materials in Open Air under Ambient Condition, *Anal. Chem.*, **77**, 2297-2302 (2005).
- 18) Jagerdeo E., Abdel-Rehim M., Screening of Cocaine and Its Metabolites in Human Urine Samples by Direct Analysis in Real-Time Source Coupled to Time-of-Flight Mass Spectrometry After Online Preconcentration Utilizing Microextraction by Packed Sorbent, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **20**

- (5), 891-899 (2009).
- 19) Ifa D. R., Jackson A. U., Paglia G., R. Cooks R. G., Forensic application of ambient ionization mass spectrometry, *Anal. Bioanal. Chem.*, **394**, 1995-2008 (2009).
- 20) 河村麻衣子, 花尻 (木倉) 瑠理, 合田幸広, Direct Analysis in Real Time (DART)-TOFMS を用いた尿中覚せい剤及び 3,4-methylenedioxy methamphetamine (MDMA) 迅速スクリーニング法の検討, *薬学雑誌*, **131**(5), 827-833 (2011).
- 21) Guo T., Fang P., Jiang J., Zhang F., Yong W., Liu J., Dong Y., Rapid screening and quantification of residual pesticides and illegal adulterants in red wine by direct analysis in real time mass, *J. Chromatogr. A*, **1471**, 27-33 (2016).
- 22) 樋口美代子, 斉藤貢一, リアルタイム直接分析(DART)-TOF-MS を用いる合成カンナビノイド系及び合成カチノン系薬物の迅速スクリーニング法, *分析化学*, **61**, 705-711 (2012).
- 23) 内山奈穂子, 宮澤法政, 河村麻衣子, 花尻 (木倉) 瑠理, 合田幸広, 2008 年度買い上げ違法ドラッグ製品から検出された新規流通デザイナードラッグの同定, *薬学雑誌*, **130**(2), 263-270 (2010).
- 24) Lesiak A. D., Cody R. B., Dane A. J., Musah R. A., Rapid detection by direct analysis in real time-mass spectrometry (DART-MS) of psychoactive plant drugs of abuse: The case of *Mitragyna speciosa* aka “Kraton”, *Forensic Sci. Int.*, **242**, 210-218 (2014).
- 25) Moore K.M., Garvin D., Thomas B. F., Grabenauer M., Identification of Eight Synthetic Cannabinoids, Including 5F-AKB48 in Seized Herbal Products Using DART-TOF-MS and LC-QTOF-MS as Nontargeted Screening Methods, *J. Forensic Sci.*, **62**(5), 1151-1158 (2017).
- 26) Lesiak A. D., Musah R. A., Cody R. B., Domin M. A., Dane A. J., Shepard J. R. E., Direct analysis in real time mass spectrometry (DART-MS) of “bath salt” cathinone drug mixtures, *Analyst*, **138**, 3424-3432 (2013).
- 27) Uchiyama N., Matsuda S., Kawamura N., Kikura-Hanajiri R., Goda Y., Identification of two new-type designer drugs, piperazine derivative MT-45 (I-

- C6) and synthetic peptide Noopept (GVS-111), with synthetic cannabinoid A-834735, cathinone derivative 4-methoxy- α -PVP, and phenethylamine derivative 4-methylbuphedrone from illegal products, *Forensic Toxicol.*, **32**, 9-18 (2014).
- 28) Boumba V. A., Rago M. D., Peka M. Drummer O. H., Derostamoulos D., The analysis of 132 novel psychoactive substances in human hair using a single step extraction by tandem LC/MS, *Forensic Sci. Int.*, **279**, 192-202 (2017).
- 29) Uchiyama N., Shimokawa Y., Kikura-Hanajiri R., Demizu Y., Goda Y., Hakamatsuka T., A synthetic cannabinoid FDU-NNEI, two 2*H*-indazole isomers of synthetic cannabinoids AB-CHMINACA and NNEI indazole analog (MN-18), a phenethylamine derive *N*-OH-EDMA, and cathinone derive dimethyl- α -PVP, newly identified in illegal products, *Forensic toxicol.*, **33**(2), 244-259 (2015).
- 30) Lee J. H., Park H. N., Leem T. S., Jeon J., Cho S., Lee J., Baek S. Y., Identification of new synthetic cannabinoid analogue APINAC (adamantan-1-yl-1-pentyl-1*H*-indazole-3-carboxylate) with other synthetic cannabinoid MDMB (N)-Bz-F in illegal products, *Forensic toxicol.*, **35**(1), 45-55 (2017).
- 31) Blakey K., Boyd S., Atkinson S., Wolf J., Slottje P. M., Goodchild K., McGowan J., Identification of the novel synthetic cannabimimetic 8-quinolinyl-4- methyl-3-(1-piperidinylsulfonyl) benzoate (QMPSB) and other designer drugs in herbal incense, *Forensic Sci. Int.*, **260**, 40-53 (2016).
- 32) Haunschmidt M., Klampfl C. W., Buchberger W., Hertsens R., Rapid identification of stabilizers in polypropylene using time-of flight mass spectrometry and DART as ion source, *Analyst*, **135**, 80-85 (2010).
- 33) 河村麻衣子, 花尻 (木倉) 瑠理, 合田幸広, 植物系違法ドラッグ及び法規制植物試料の Direct Analysis in Real Time (DART)-TOFMS を用いた迅速スクリーニング法の検討, *薬学雑誌*, **129**(6), 719-725 (2009).
- 34) Hajslova J., Cajka T., Vaclavik L., Challenging applications offered by direct analysis in real time (DART) in food quality and safety analysis, *Trends Anal. Chem.*, **30**(2), 204-218 (2011).
- 35) Wang C., Zhu H., Cai Z., Song F., Liu Z., Liu S., Newborn screening of

- phenylketonuria using direct analysis in real time (DART) mass spectrometry, *Anal. Bioanal. Chem.*, **405**, 3159-3164 (2013).
- 36) Schurek J., Vaclavik L., Hooijerink H., Lacina O., Poustka J., Sharman M., Caldwell M., Nielen M. W. F., Hajslova J., Control of strobilurin fungicides in wheat using direct analysis in real time accurate time-of-flight and desorption electrospray ionization linear ion trap mass spectrometry, *Anal. Chem.*, **1471**, 9567-9575 (2008).
- 37) 佐川岳人, 工藤由貴, 西口隆夫, 川向孝知, 板倉幹始, 塩田晃久, 星大海, 松本恵子, 渡辺淳, Direct Analysis in Real Time Mass Spectrometry を用いた食品フレーバーリリースのリアルタイム連続分析システムの開発, 日本食品科学工学会誌, **62**(7), 335-340 (2015).
- 38) Maleknia S. D., Vail T. M., Cody R. B., Sparkman D. O., Bell T. L., Adams M. A., Temperature-dependent release of volatile organic compounds of eucalypts by direct analysis in real time (DART) mass spectrometry, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **23**, 2241-2246 (2009).
- 39) Ripani L., Nichetti D., Rossi A., Schiavone S., IN-DEPTH HEADSPACE GC/MS ANALYSIS OF ALKYL NITRITES, *Can. Soc. Forens. Sci. J.*, **32**(4), 141-153 (1999).
- 40) 花尻 (木倉) 瑠理, 河村麻衣子, 内山奈穂子, 緒方潤, 鎌倉浩之, 最所和宏, 合田幸広, 指定薬物の分析 Part I : GC-MS 及び LC-MS, 薬学雑誌, **128**(6), 971-979 (2008).
- 41) 鈴木仁, 高橋美佐子, 瀬戸隆子, 長嶋真知子, 奥本千代美, 安田一郎, ラッシュ系ドラッグの薬物鑑定法, 東京健安研セ年報, **57**, 115-120 (2006).
- 42) Seto Y., Kataoka M., Tsuge K., Takaesu H., Pitfalls in the Toxicological Analysis of an Isobutyl Nitrite-Adulterated Coffee Drink, *Anal. Chem.*, **72**, 5187-5192 (2000).
- 43) Tytgat J., Daenens P., Solvent-free sample preparation by headspace solid-phase microextraction applied to the tracing of n-butyl nitrite abuse, *Int. J. Legal Med.*, **109**, 150-154 (1996).
- 44) 清野信子, 金子祐司, 中島秀, 内山一美, インクジェットを用いる迅速

- 平衡ヘッドスペース法の開発と水中揮発性有機化合物分析への応用, 分析化学, **58**(7), 619-625 (2010).
- 45) Vaclavik L. Rosmus J., Popping B., Hajslova J., Rapid determination of melamine and cyanuric acid in milk powder using direct analysis in real time-time-of-flight mass spectrometry, *J. Chromatogr. A*, **1217**, 4204-4211 (2010).
- 46) Inoue H., Iwata Y., Kuwayama K., Characterization and profiling of Methamphetamine seizures, *J. Health Sci.*, **54**(6), 615-622(2008).
- 47) Ramona M. S., Identification of N-Methylbenzylamine Hydrochloride, N-Ethylbenzylamine Hydrochloride, and N-Isopropylbenzylamine Hydrochloride, *Microgram J.*, **6**, 36-45(2008).
- 48) Collins M., Heagney A., Cordaro F., Odgers D., Tarrant G., Stewart S., Methyl 3-[3',4'-(methylenedioxy) phenyl]-2-methyl glycidate: An Ecstasy Precursor Seized in Sydney, Australia, *J. Forensic Sci.*, **52**, 898-903 (2007).
- 49) Collins M., Donnelly C., Cameron S., Tahtouh M., Salouros H., Identification and characterization of *N-tert*-butoxycarbonyl-MDMA: a new MDMA precursor, *Drug test. Analysis*, **9**, 399-404 (2017).
- 50) Westphal F., Grreser U., Holz K., Erkens M., Strukturaufklärung und analytische Daten eines ungewöhnlichen MDMA-Derivates, *Toxichem Krimtech*, **83**, 92-102 (2016).
- 51) NZ Herald, Masked meth: First time method used, as four men charged with importing \$100 m of the substance, <[http://www. Nzherald. co. nz/nz/news/article. cfm?c_id=1&objectid=11818866](http://www.nzherald.co.nz/nz/news/article.cfm?c_id=1&objectid=11818866)>, cited 15 March, 2017.
- 52) 掛橋秀直, 鎌田寛恵, 石川亜香里, 浅井龍太郎, 新田篤志, 和田美暁, 中野史保子, 松田駿太郎, 佐々木啓子, 志摩典明, 鎌田徹, 西岡裕, 三木昭宏, 片木宗弘, メタンフェタミン前駆化合物 *N-tert*-butoxycarbonyl-methamphetamine (t-BOCMA)の分析およびその胃酸モデル中挙動, 法科学技術, **24**(1), 73-78 (2019).
- 53) Houghten R. A., General method for the rapid solid-phase synthesis of large number of peptides: Specificity of antigen-antibody interaction at the level of individual amino acids, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **82**, 5131-5135 (1985).

- 54) Heydari A., Hosseini S. E., Lithium Perchlorate-Catalyzed Boc Protection of Amines and Amine Derivatives, *Adv. Synth. Catal.*, **347**, 1929-1932 (2005).
- 55) Munch H., Hansen J. S., Pittelkow M., Christensen J. B., Boas U., A new efficient synthesis of isothiocyanates from amines using di-*tert*-butyl decarbonate, *Tetrahedron letters*, **49**(19), 3117-3119 (2008).
- 56) Davis F. A., Yang B., Deng J., Asymmetric Synthesis of *cis*-5-*tert*-Butylproline with Metal Carbenoid NH Insertion, *J. Org. Chem.*, **68**, 5147-5152 (2003).
- 57) Bhawal S. S., Patil R. A., Armstrong D. W., Rapid, effective deprotection of *tert*-butoxycarbonyl (Boc) amino acids and peptides at high temperatures using a thermally stable Ionic Liquid, *RSC Adv.*, **5**(116), 95854-95856 (2015).
- 58) Lejeune V., Martinez J., Cavelier F., Towards a selective Boc deprotection on acid cleavable Wang resin, *Tetrahedron letters*, **44**, 4757-4759 (2003).
- 59) Zinelaabidine C., Souad O., Zoubir J., Malika B., Nour-Eddine A., A Simple and Efficient Green Method for the Deprotection of *N*-Boc in Various Structurally Diverse Amines under Water-mediated Catalyst-free Conditions, *Int. J. Chem.*, **4**, 73-79 (2012)
- 60) 三島有二, 丸山はる美, 樋野賢治, 津越敬寿, 齋藤直昭, 西本右子, 三井利幸, ソフトイオン化質量分析法と多変量解析法を用いる植物油脂の定性分析, *分析化学*, **60**(5), 409-418 (2011).
- 61) 平岡賢三, ペニングイオン化を源流とする気体イオン化法, *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.*, **65**(3), 107-113 (2017).
- 62) 関本奏子, リアルタイム直接分析 (DART) 法のイオン化特性とコロナ放電による高感度化, *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.*, **65**(3), 102-106 (2017).
- 63) Musah R.A., Domin M. A., Cody R. B., Lesiak A. D., Dane A. J., Shepard J. R. E., Direct analysis in real time mass spectrometry with collision induced dissociation for structural analysis of synthetic cannabinoids, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **26**, 2335-2342 (2012).
- 64) Lesiak A. D., Adams K. J., Domin M. A., Henck C., Shepard J. R. E., DART-MS for rapid, preliminary screening of urine for DMAA, *Drug Test. Anal.*, **6** (7-8), 788-796 (2013).

- 65) Lesiak A. D., Shepard J. R. E., Recent advances in forensic drug analysis by DART-MS, *Bioanalysis*, **6**(6), 819-842 (2014).
- 66) Sisco E., Verkouteren J., Staymates J., Lawrence J., Rapid detection of fentanyl, fentanyl analogues, and opioids for on-site or laboratory based drug seizure screening using thermal desorption DART-MS and ion mobility spectrometry, *Forensic Chemistry*, **4**, 108-115 (2017).
- 67) Wolf C., Villalobos C. N., Cummings P. G., Kennedy-Gabb S., Olsen M. A., Trescher G., Elucidation of the Presence and Location of t-Boc protecting Groupe in Amines and Dipeptides Using On-Columun H/D Exchange HPLC/ESIMS, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **16**, 553-564 (2005).
- 68) Harris G. A., Hostetler D. M., Hampton C. T., Facundo M. Fernandez F. M., Comparison of the Internal Energy Deposition of Direct Analysis in Real Time and Electrospray Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **21**, 855-863 (2010).
- 69) Musah R. A., Cody R. B., Domin M. A., Lesiak A. D., Dane A. J., Shepard J. R. E., DART-MS in-source collision induced dissociation and high mass accuracy for new psychoactive substance determination, *Forensic Sci. Int.*, **244**, 42-49 (2014).
- 70) Musah R. A., Domin M. A., Walling M. A., Shepard J. R. E., Rapid identification of synthetic cannabinoids in herbal samples via direct analysis in real time mass spectrometry, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **26**, 1109-1114 (2012).
- 71) Samms W. C., Jiang Y. J., Dixon M. D., Houck S.S., Mozayani A., Analysis of Alprazolam by DART-TOF Mass Spectrometry in Counterfeit and Routine Drug Identification Cases, *J. Forensic Sci.*, **56**(4), 993-998 (2011).
- 72) Chernetsova E. S., Morlock G. E., Revelsky I. A., DART mass spectrometry and its applications in chemical analysis, *Russ. Chem. Rev.*, **80**, 235-255 (2011).
- 73) Yu S., Crawford E., Tice J., Musselman B., Wu J. T., Bioanalysis without Sample Cleanup or Chromatography: The Evaluation and Initial Implementation of Direct Analysis in Real Time Ionization Mass Spectrometry

- for the Quantification of Drugs in Biological Matrixes, *Anal. Chem.*, **81**, 193-202 (2009).
- 74) Vaclavik L., Zachariasova M., Hrbek V., Hajslova J., Analysis of multiple mycotoxins in cereals under ambient conditions using direct analysis in real time (DART) ionization coupled to high resolution mass spectrometry, *Talanta*, **82**, 1950-1957 (2010).
- 75) Zhao Y., Lam M., Wu D., Mak R., Quantification of small molecules in plasma with direct analysis in real time tandem mass spectrometry, without sample preparation and liquid chromatographic separation, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **22**, 3217-3224 (2008).
- 76) Cody R. B., Laramée J. A., Nilles J. M., Durst H. D., Direct Analysis in Real Time (DARTTM) Mass Spectrometry, *JEOL News*, **40**, 8-12 (2005).
- 77) 望月直樹, 食の安全における LC-MS/MS 分析の問題点, 薬学雑誌, **131**(7), 1019-1025 (2011).