

氏名	地 中 啓
生年月日	
本籍	石川県
学位の種類	博士(工学)
学位記番号	博乙第233号
学位授与の日付	平成13年9月28日
学位授与の要件	論文博士(学位規則第4条第2項)
学位授与の題目	違法薬物と毒物の分析システムの構築と法科学的応用に関する研究
論文審査委員(主査)	上田 一正(工学部・教授)
論文審査委員(副査)	上田 穰一(教育学部・教授) 元井 正敏(工学部・教授) 宮岸 重好(工学部・教授) 長谷川 浩(工学部・講師)

## 学 位 論 文 要 旨

### Abstract

In these studies, new sensitive and selective analytical systems have been developed and applied to forensic analyses. The targets were illicit drugs, methamphetamine (MA), its related compounds and cannabinoids, which were the most abused drugs in Japan, and a strong poison, cyanide. The developed systems for illicit drugs were as follows: an HPLC using post-column Simon's reaction for the determination of MA, an HPLC using a post-column reaction with Fast Blue B salt for the determination of cannabinoids, a capillary electrophoresis (CE) for the simultaneous chiral analysis of nine illicit drugs (18 enantiomers). The sensitivity of the two post-column reaction HPLC systems were over 100 times greater than thin-layer chromatographic methods using the same colorimetric reactions, which were the routine drug analysis methods of the Japanese Police. The chiral CE system could separate all 18 enantiomers with the detection limits of 0.1 ng/mL, and was applicable to urine analysis. The developed systems for cyanide were three systems using pre-column fluorescence derivatization with 2,3-naphthalenedialdehyde and taurine. The systems were as follows: an HPLC with fluorescence detection, an ion chromatography (IC) with fluorescence and UV detection, and a CE with fluorescence detection. The detection limits of cyanide were 0.1 ng/mL for all the systems, and the IC system could determine cyanide and its metabolite of thiocyanate simultaneously. The systems were applicable to blood analysis.

### 1. 緒言

覚せい剤や大麻、麻薬等の違法薬物の乱用は、世界的にみても大きな社会問題となっている。乱用薬物には、コカイン、ヘロイン等の麻薬が最も多いが、我が国においては、覚せい剤のmethamphetamine (MA)が最も多く、次いで大麻、麻薬の順になる。覚せい剤の乱用は、一時、減少傾向にあったものの、最近、若年層を中心に再び増加傾向がみられ、また、同時に大麻、麻薬の乱用も増加傾向にある。このような違法薬物の分析においては、分析結果が容疑者の有罪・無罪と直結するため、法科学上、選択性を有する複数の分析法によるクロスチェックが必要とされる。通常、選択的呈色反応を用いた薄層クロマトグラフィ(TLC)とガスクロマトグラフ質量分析(GC/MS)を用いる場合が多いが、GC/MSと比較してTLCは10-100倍以上感度が低いという問題点がある。また、MA等の覚せい剤関連化合物は、不斉炭素をもつため、光学異性体分析が必要とされてきているが、実用的な分析法は未だ確立されていない。

一方、近年、殺人・傷害を目的として毒物を食品に混入する事件が多発するようになってきた。このような事件は模倣犯を生み、市民生活に大きな不安を与え、その社会的影響は大きい。毒物混入事件で最も問題となりやすい化合物の一つに、シアン化物がある。シアン化物は非常に毒性が強いにもかかわらず、比較的入手が容易であることから、過去に多くの事件で使用されている。このような事件の犠牲者の死因究明には血液中のシアン分析が必要である。また、最近、火災による犠牲者の死因究明にもシアン分析が必要とされるようになってきた。これは、新建材等に用

#### 4. プレカラム蛍光誘導体化反応を用いた血液中シアン分析システムの構築と法科学への応用

血液中のシアン分析法としては、König 反応を用いた微量拡散吸光度分析法やヘッドスペース GC (HS-GC) が用いられているが、前者は前処理が煩雑で感度が低いという欠点を有し、後者は検出器の安定性や気相のサンプリング技術に熟練を要するため、安定したデータを得にくいという欠点を有する。そこで、2,3-ナフタレンジアルデヒド(NDA)とタウリンによるシアン化物の蛍光誘導体化法をプレカラム反応に用いた分析システムを開発すると共に法科学への応用について検討した。まず、はじめに、汎用的な ODS カラムを用いた蛍光検出 HPLC (HPLC/FL) について検討した。次いで、陰イオン交換カラムを使用しさらに検出器に蛍光検出器と UV 検出器を直列に接続することで、シアン化物とその代謝物であるチオシアン酸の同時定量を可能にした蛍光・UV 検出 IC (IC/FL-UV) について検討した。さらに蛍光検出 CE (CE/FL) についても検討した。

試料の前処理はいずれのシステムにおいても同様であり、次のとおりである。血液 0.1 mL に水 0.5 mL、メタノール 2 mL を加え攪拌したのち、1600×g で 10 min 遠心分離し得た上澄み液 0.5 mL を褐色バイアルに取る。2mM NDA 溶液、50mM タウリン溶液 各 0.1mL を加え攪拌後、室温で暗所に 30 min 放置し蛍光誘導体化反応が完了したのち、分析装置に注入した。

##### a) HPLC/FL システム

装置は Fig. 6 のとおりである。非常に高感度であるため、試薬ブランクからシアン化物濃度に換算して約 0.04 ng/mL に相当するピークが出現したが、極微小であり、さらに、ピーク面積値も常にほぼ一定であった。したがって、検出下限はブランクピークの約 2.5 倍にあたる 0.1 ng/mL とした。検量線は 0.1–200 ng/mL の範囲で良好な直線性を示し、ピーク面積値の再現性(R.S.D.)は日

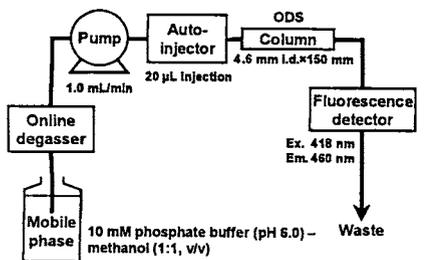


Fig. 6. HPLC/FL system.

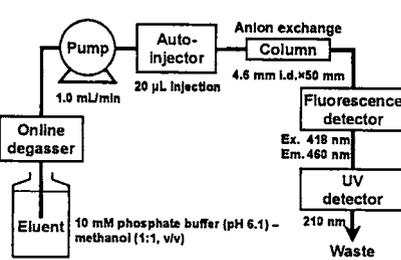


Fig. 7. IC/FL-UV system.

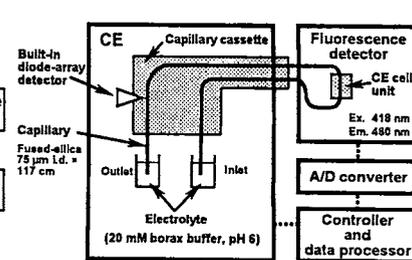


Fig. 8. CE/FL system.

内で 1.5%、日間で 2.5% (いずれも  $n = 5$ ) であった。血液に濃度が 100、1000、3000 ng/mL になるようシアン化物を添加し、回収率の検討を行ったところ、いずれの濃度においても 83%前後の回収率が得られた。焼死体血液について本法を適用したところ、妨害なくシアン化物の定量が可能であった。なお、定量値は HS-GC により求めた結果と良好な相関性 ( $r^2 = 0.974$ ) が認められた。

##### b) IC/FL-UV システム

装置は、Fig. 7 に示すとおりである。分離カラムに陰イオン交換カラムを用いることで、シアン誘導体とチオシアン酸とを分離し、シアン誘導体を蛍光検出器で、チオシアン酸を UV 検出器で検出することにより同時分析することが可能であった。シアン化物に関する感度・定量性は HPLC/FL と同様であった。チオシアン酸については、検出下限が 5 ng/mL であり、検量線は 10–1000 ng/mL の範囲で良好な直線性を示した。血液からのシアン化物、チオシアン酸の回収率はそれぞれ、約 83%、約 100% であった。健康人及び焼死体血液に適用したところ、シアン化物及びチオシアン酸の同時定量が可能であった。焼死体血液のクロマトグラムを Fig. 9 に示す。焼死体血液中のシアン化物濃度については、HS-GC で求めた値と良好な相関 ( $r^2 = 0.978$ ) を示した。チオシアン酸については喫煙者と非喫煙者間で明確な濃度差が認められたものの、焼死体血液中

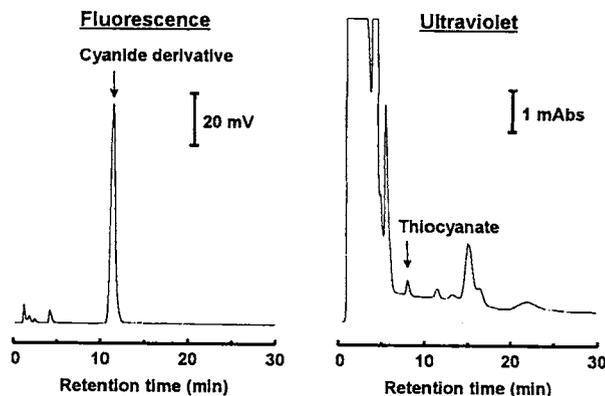


Fig. 9. Chromatograms of blood from a fire victim.

のシアン化物濃度とチオシアン酸濃度間には相関は見られなかった。

### c) CE/FL システム

装置は Fig. 8 に示すとおりであり、印加電圧は+30 kV とした。注入は加圧法で行い、50 mbar × 30 sec とした。シアン化物の検出下限は 0.1 ng/mL (ブランクピークの 2.5 倍) であり、検量線は 0.1–200 ng/mL の範囲で直線性を示し、CE においても HPLC、IC と同様の極めて高い感度を達成した。また、シアン化物ピークの日内再現性は、泳動時間で 0.2% 未満、ピーク面積値で 1.12% 未満と良好な値を示した。血液試料に適用したところ、妨害なしにシアン化物ピークの検出が可能であった。健康人血液及びシアン化物を添加した血液のエレクトロフェログラムを Fig. 10 に示す。

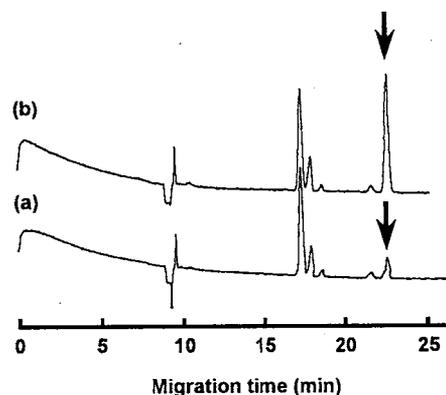


Fig. 10. Electropherograms of (a) healthy person's blood and (b) blood spiked with 100 ng/mL cyanide.

以上、覚せい剤関連化合物や大麻、シアン化物について、既存の分析法の欠点を克服した新たな分析システムを構築した。いずれの方法も高感度で高選択性と良好な再現性を有し、生体試料等への応用性にも優れていることから、法科学、臨床医学など多方面の分野での標準分析法としての適用が待たれる。

## 学位論文審査結果の要旨

各審査委員によって提出学位論文と参考資料を個別に審査し、平成 13 年 8 月 6 日の口頭発表の結果を踏まえて、同日審査委員会を開催し協議した結果、以下の通り判定した。

本論文は、近年、社会問題化している覚せい剤や大麻類などの違法薬物と高い毒性を有するシアン化物について、新たな分析システムを構築すると共に、その法科学的有用性を明らかにしたものである。1) 法科学分野の分析法に用いる TLC のシモン反応と Fast Blue B 塩呈色反応をポストカラム反応 HPLC に適用し、覚せい剤 (メタンフェタミン) 及び大麻成分の高感度、高選択的分析システムを確立した。覚せい剤乱用者尿などに応用して、その信頼性を確認した。2) キャピラリー電気泳動法を用いた覚せい剤関連化合物の光学異性体の一斉分離分析法を開発した。キラルセクターに 2 種のシクロデキストリンを用い、覚せい剤とその原料エフェドリン類、麻薬類などの 9 化合物–18 光学異性体の迅速一斉分析法を確立し、科学捜査における有用性を実証した。3) シアン化合物については、蛍光誘導体化法をプレカラム反応に用い、蛍光検出 HPLC、蛍光・UV 検出 IC、蛍光検出 CE の 3 種の高感度、高選択性を有する分析システムを構築し、健康人から致死レベルまでの血液中のシアン化物とその代謝物の分析に応用した。本論文で開発された分析法は、既存の方法を克服した最先端の分離分析法であり、法科学のみならず臨床医学など多方面への波及が期待される。従って、本論文は博士學位論文に値すると判定した。