

Technical Report

GC-MS/MSを用いたカチノン類の包括検出と構造推定手法

Comprehensive analysis and structural elucidation of synthetic cathinones using GC-MS/MS

坂本 雄紀¹、宮川 治彦¹

Abstract:

2段階の質量分離が可能なガスクロマトグラフ/タンデム質量分析計 (GC/MS/MS) を用いて、カチノン類に特徴的なカルボニル骨格を選択的に検出させるMRMを用いた包括検出と、EIイオン化でカチノン骨格を2つの部分構造に分けて、独立的にプロダクトイオンスキャンさせることにより、修飾する官能基の構造を推定する手法について検討しました。ベンゾイル>フェニルの組み合わせでベンゼン環に修飾する官能基を考慮したMRM (多重反応モニタリング) は、検討したすべてのカチノン類でカルボニル脱離を示すMRMトランジションのピークが検出され、アミンの α 開裂で生じるイオンのプロダクトイオンスキャンは、アミン部の構造異性体においてもマススペクトルパターンで明確な差異を示し、簡単に識別することが可能でした。ベンゾイル基の α 開裂で生じるイオンのプロダクトイオンスキャンは、エチル基、メシキ基、メチレンジオキシ基などの位置異性体については、マススペクトルパターンで識別が可能でしたが、メチル基、臭素などの官能基が修飾した場合、検出されるプロダクトイオンが少ないことから異性体の識別は困難でしたが、官能基の種類については識別可能でした。これらの3種類の分析モードを組み合わせることによって、各分析モードで同一保持時間にピークが検出された場合、カチノン骨格を有することが識別でき、修飾する官能基の推定を行うことが可能でした。

Keywords: カチノン、危険ドラッグ、GC-MS/MS、構造推定

1. はじめに

近年、乱用薬物の規制を逃れるため、麻薬・覚せい剤等の規制薬物の化学構造を一部改変させた危険ドラッグの流通が世界中で大きな社会問題になっています。中でもカチノン類は、インドール系合成カンナビノイド類と共に危険ドラッグ乱用の中心となっています。カチノン類 (Fig. 1) は、 β -ケトフェネチルアミン骨格を有し、覚せい剤のメタンフェタミン (MA) と類似の基本構造であることから、MAと同様の中枢神経興奮作用を示すことが指摘されていますが、ベンゼン環に修飾する官能基の種類と位置、 α 位の炭素に修飾するアルキル基の種類 (いわゆる側鎖)、窒素に修飾するアルキル基の種類の異なるさまざまな新規カチノン類が危険ドラッグとして流通しています。

厚生労働省では、当初、これらの薬物を取り締まるため、薬事法 (現: 医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律) の指定薬物として新規化合物を個別に規制していましたが、指定薬物に指定してもすぐに化学構造を一部改変させた新規危険ドラッグが流通し、その対応に苦慮してきました。これを受けて厚生労働省は、特定の基本骨格を持つ化合物群に対して規定された官能基の種類によって包括的に規制する包括指定を導入し、2013年2月には、(1H-インドール-3-イル) (ナフタレン-1-イル) メタノン骨格 (ナフトイルインドール) を持つ合成カンナビノイド類を、また2013年12月には、2-アミノ-1-フェニル-プロパン-1-オンを基本骨格とするカチノン類を指定薬物として規制してきました。しかし、その後も包括指定を逃れるため、新たな官能基に改変したカチノン類の流通が続いたことから、2015年5月には、包括指定となるカチノン類の側鎖アルキル鎖長がさらに長いC8まで拡張され、指定薬物として規制されるカチノン類が504種類から1,334種類に急増しました。そのため、これら多数の指定薬物を迅速かつ包括的に検出できる分析法の開発が急務となっています。

これら危険ドラッグの同定法としては、主として核磁気共鳴装置 (NMR)、ガスクロマトグラフ/質量分析装置 (GC/MS) あるいは液体クロマトグラフ/タンデム質量分析装置 (LC/MS/MS) を利用した分析法が多数報告されています。NMRは、化合物の構成原子の水

素と炭素の構造上の詳細な情報が得られ、構造解析に非常に有用な手法ですが、単離精製された数ミリグラム単位の目的化合物が必要であり、生体試料等の高感度分析には適用が困難です。

また、LC/MSやLC-MS/MSは分子量の確認や生体試料中の薬物の定量には有用ですが、GC/MSと比較して保持時間の精度が低く、分析条件の違いにより、得られるマススペクトルの差異が大きいため、未知のカチノン類の構造推定には不向きであると言われています。一方、GC/MSは保持時間の精度が高く、また電子イオン化 (EI) により得られるマススペクトル中には、構造を反映したイオンが数多く観察できること、さらには機種によるEIマススペクトルの差がほとんどなく、膨大な量のスペクトルデータベースが利用可能であることから、法科学分野では最も汎用されてきました。

これら危険ドラッグの分析では、標準品を測定して得られた結果と比較して同定を行うことが不可欠です。しかし、化学構造を一部改変させた危険ドラッグの場合、標準品はもちろんのこと、分析データさえ存在しないことがほとんどであり、標準品がなくても検出された化合物がカチノン類であるかの判定が可能で、さらには構造推定にも応用可能な分析手法の確立が強く望まれています。

カチノン類の構造推定には、特にベンゼン環に修飾する官能基の種類とその位置、側鎖および窒素原子に修飾するアルキル基の種類とそれらの構造異性体を推定することが重要になります。汎用されているGC/MSで得られるフェネチルアミン類のEI-マススペクトルは、アミンの α 開裂による相対強度の大きいフラグメントイオンが検出されるだけで、構造を反映したイオンに乏しいと言われています。

本研究では、GC-MS/MSを用いて、EIにより得られた部分構造を反映する特徴的なフラグメントイオンをCIDによりさらに開裂させ、カチノン類の包括的な検出と、多種多様なカチノン類の官能基の種類推定と異性体の識別を簡便に行える構造推定手法について検討を行いました。

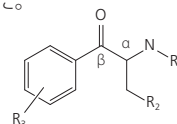


Fig. 1 カチノン類の基本骨格

2. 実験

GC-MS/MSは、トリプル四重極型ガスクロマトグラフ質量分析計GCMS-TQ8040を用いました。詳細な分析条件をTable 1に示します。評価対象のカチノン類は、ベンゼン環に修飾する官能基の種類と位置、側鎖および窒素原子に修飾するアルキル基の種類の異なる62種類を選定しました。評価したカチノン類の官能基の組み合わせをTable 2に示します。分析モードは、EI-スキャンに加えて、1)~3)の3種類のMS/MS測定を組み合わせたスキャン/プロダクトイオンスキャン/MRM同時測定を行いました。本方法の概略図をFig. 2に示します。

- 1) ベンゾイル>フェニルの組み合わせにおいてベンゼン環への包括指定で規定された9種類の官能基の修飾を考慮したMRM測定
- 2) 包括指定で規定された官能基を持つアミンの α 開裂で生じる m/z の異なる20種類のイオンをプリカーサイオンとするプロダクトイオンスキャン測定
- 3) 包括指定で規定された官能基を持つベンゾイル基の α 開裂で生じる m/z の異なる9種類のイオンをプリカーサイオンとするプロダクトイオンスキャン測定

また、ベンゾイルの α 開裂で生じるイオンのMRM測定およびプロダクトイオンスキャン測定の詳細なMS/MS条件をTable 3に示し、アミンの α 開裂で生じるイミニウムイオンのプロダクトイオンスキャン測定の詳細なMS/MS条件をTable 4にそれぞれ示します。

Table 1 GC-MS/MSの分析条件

装置	: GCMS-TQ8040
GC条件	
カラム	: SH-Rxi-5Sil MS (長さ 30 m、内径 0.25 mm、膜厚 0.25 μ m)
注入温度	: 260 °C
カラムオープン温度	: 60 °C (2min) – (15°C/min) – 320 °C (5min)
キャリアガス	: ヘリウム
キャリアガス制御	: 線速度一定 (45.6 cm/sec)
注入モード	: スプリットレス
MS条件	
イオン化法	: EI
イオン源温度	: 200 °C
インターフェイス温度	: 280 °C
分析モード	: スキャン/プロダクトイオンスキャン/ MRM同時測定
コリジョンガス	: アルゴン (200kPa)

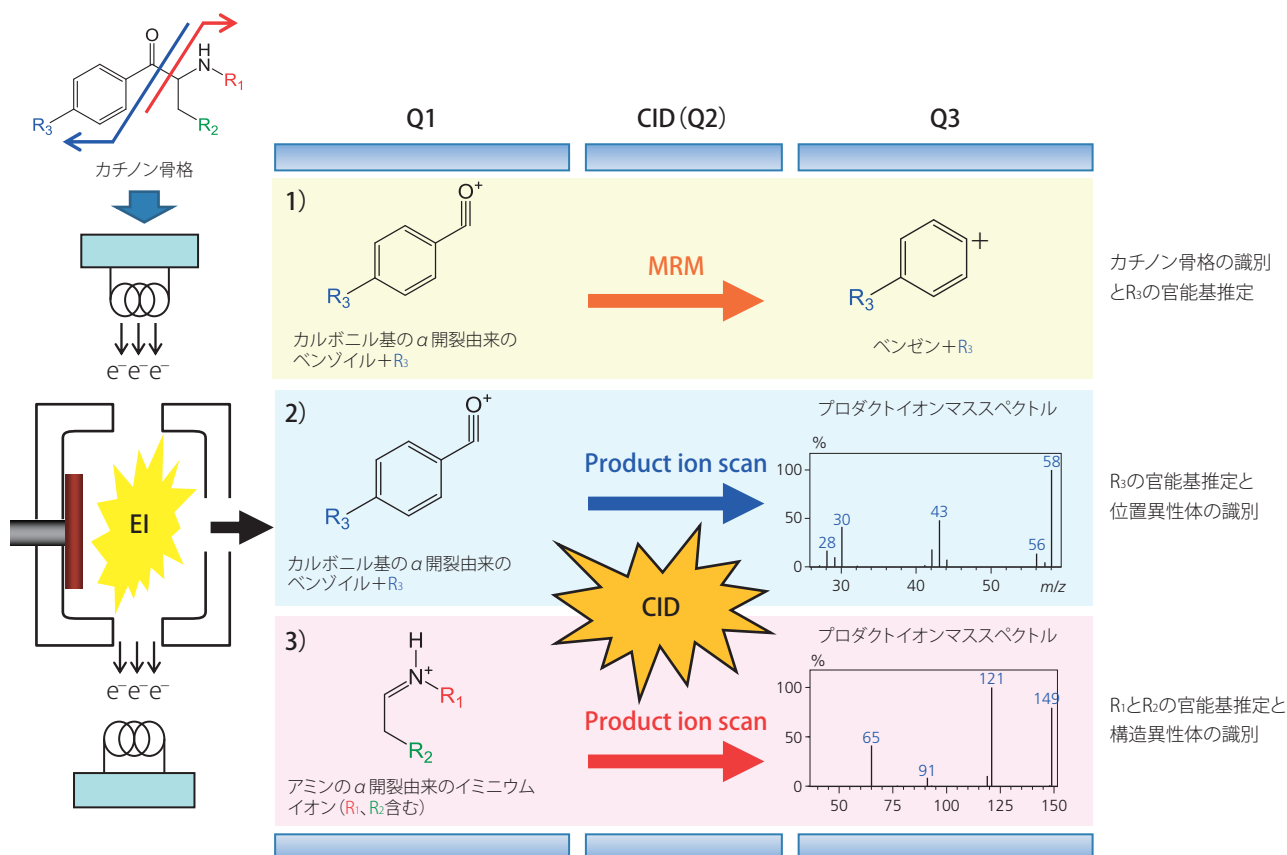


Fig. 2 3種類のMS/MS測定の概略図

Table 2 評価対象のカチノン類と官能基

No.	Compound	R ₁	R ₂	R ₃
1	Methcathinone	Methyl	H	H
2	<i>N</i> -Ethyl- <i>N</i> -methylcathinone	<i>N</i> -Ethyl- <i>N</i> -methyl	H	H
3	Ethcathinone	Ethyl	H	H
4	<i>N,N</i> -Diethylcathinone	<i>N,N</i> -Diethyl	H	H
5	α -PPP	Pyrrolidinyl	H	H
6	Buphedrone	Methyl	Methyl	H
7	<i>N</i> -Ethyl- <i>N</i> -methylbuphedrone	<i>N</i> -Ethyl- <i>N</i> -methyl	Methyl	H
8	<i>N</i> -Ethylbuphedrone (NEB)	Ethyl	Methyl	H
9	<i>N,N</i> -Diethylbuphedrone	<i>N,N</i> -Diethyl	Methyl	H
10	α -PBP	Pyrrolidinyl	Methyl	H
11	Pentredone	Methyl	Ethyl	H
12	<i>N</i> -Ethyl- <i>N</i> -methylpentredone	<i>N</i> -Ethyl- <i>N</i> -methyl	Ethyl	H
13	<i>N</i> -Ethylpentredone	Ethyl	Ethyl	H
14	<i>N,N</i> -Diethylpentredone	<i>N,N</i> -Diethyl	Ethyl	H
15	α -PVP	Pyrrolidinyl	Ethyl	H
16	<i>N</i> -Desmethylohexedrone	H	<i>n</i> -Propyl	H
17	Hexedrone	Methyl	<i>n</i> -Propyl	H
18	<i>N,N</i> -Dimethylhexedrone	<i>N,N</i> -Dimethyl	<i>n</i> -Propyl	H
19	α -PHP	Pyrrolidinyl	<i>n</i> -Propyl	H
20	α -PHPP	Pyrrolidinyl	<i>n</i> -Butyl	H
21	α -POP	Pyrrolidinyl	<i>n</i> -Pentyl	H
22	α -PNP	Pyrrolidinyl	<i>n</i> -Hexyl	H
23	2-Methylmethcathinone	Methyl	H	Methyl (<i>ortho</i>)
24	3-Methylmethcathinone	Methyl	H	Methyl (<i>meta</i>)
25	4-Methylmethcathinone	Methyl	H	Methyl (<i>para</i>)
26	4-Methylethcathinone	Ethyl	H	Methyl (<i>para</i>)
27	MPPP (Desethylpyrovalerone)	Pyrrolidinyl	H	Methyl (<i>para</i>)
28	4-Methylbuphedrone	Methyl	Methyl	Methyl (<i>para</i>)
29	4-Methyl- <i>N</i> -ethylbuphedrone	Ethyl	Methyl	Methyl (<i>para</i>)
30	MPBP	Pyrrolidinyl	Methyl	Methyl (<i>para</i>)
31	4-Methylpentredone	Methyl	Ethyl	Methyl (<i>para</i>)
32	4-Ethyl- <i>N</i> -ethylpentredone	Ethyl	Ethyl	Ethyl (<i>para</i>)
33	MPVP	Pyrrolidinyl	Ethyl	Methyl (<i>para</i>)
34	4-Ethylcathinone	H	H	Ethyl (<i>para</i>)
35	2-Ethylmethcathinone	Methyl	H	Ethyl (<i>ortho</i>)
36	3-Ethylmethcathinone	Methyl	H	Ethyl (<i>meta</i>)
37	4-Ethylmethcathinone	Methyl	H	Ethyl (<i>para</i>)
38	4-Ethyl- <i>N,N</i> -dimethylcathinone	<i>N,N</i> -Dimethyl	H	Ethyl (<i>para</i>)
39	2-Bromomethcathinone	Methyl	H	Br (<i>ortho</i>)
40	3-Bromomethcathinone	Methyl	H	Br (<i>meta</i>)
41	4-Bromomethcathinone	Methyl	H	Br (<i>para</i>)
42	4-Chloromethcathinone	Methyl	H	Cl (<i>para</i>)
43	2-Fluoromethcathinone	Methyl	H	F (<i>ortho</i>)
44	3-Fluoromethcathinone	Methyl	H	F (<i>meta</i>)
45	4-Fluoromethcathinone	Methyl	H	F (<i>para</i>)
46	4-Fluorooctedrone (4F-Octedrone)	Methyl	<i>n</i> -Pentyl	F (<i>para</i>)
47	4-Iodomethcathinone	Methyl	H	I (<i>para</i>)
48	2-Methoxymethcathinone	Methyl	H	Methoxy (<i>ortho</i>)
49	3-Methoxymethcathinone	Methyl	H	Methoxy (<i>meta</i>)
50	4-Methoxymethcathinone	Methyl	H	Methoxy (<i>para</i>)
51	4-Methoxyethcathinone	Ethyl	H	Methoxy (<i>para</i>)
52	MOPPP	Pyrrolidinyl	H	Methoxy (<i>para</i>)
53	2,3-Methylenedioxyethcathinone	Methyl	H	Methylenedioxy (2,3-)
54	Methylone (bk-MDMA)	Methyl	H	Methylenedioxy (3,4-)
55	Ethylone (bk-MDEA)	Ethyl	H	Methylenedioxy (3,4-)
56	MDPPP	Pyrrolidinyl	H	Methylenedioxy (3,4-)
57	bk-BDB	H	Methyl	Methylenedioxy (3,4-)
58	bk-MBDB	Methyl	Methyl	Methylenedioxy (3,4-)
59	3,4-Methylenedioxy- <i>N,N</i> -dimethylbuphedrone	<i>N,N</i> -Dimethyl	Methyl	Methylenedioxy (3,4-)
60	Butylone	H	Ethyl	Methylenedioxy (3,4-)
61	Pentylone	Methyl	Ethyl	Methylenedioxy (3,4-)
62	<i>N,N</i> -Dimethylpentylone	<i>N,N</i> -Dimethyl	Ethyl	Methylenedioxy (3,4-)

Table 3 ベンゾイルの α 開裂で生じるイオンのMRMおよびプロダクトイオンスキャン測定のためのMS/MS条件

Precursor <i>m/z</i>	MRM transition	R ₃	CE (V)
105	105 > 77	H	10
119	119 > 91	Methyl	10
123	123 > 95	F	10
133	133 > 105	Ethyl or Dimethyl (規制対象外)	10
135	135 > 107	Methoxy	10
139	139 > 111	Cl	10
149	149 > 121	Methylenedioxy	10
183	183 > 155	Br	10
231	231 > 203	I	10

Table 4 アミンの α 開裂で生じるイミニウムイオンのプロダクトイオンスキャン測定のためのMS/MS条件

Precursor <i>m/z</i>	R ₁	R ₂	CE (V)
44	H	H	15
58	Methyl	H	15
	H	Methyl	
72	<i>N,N</i> -Dimethyl	H	15
	Ethyl	H	
	Methyl	Methyl	
	H	Ethyl	
86	<i>N</i> -Ethyl- <i>N</i> -methyl	H	15
	<i>N,N</i> -Dimethyl	Methyl	
	Ethyl	Methyl	
	Methyl	Ethyl	
	H	<i>n</i> -Propyl	
98	Pyrrolidinyl	H	15
100	<i>N,N</i> -Diethyl	H	15
	<i>N</i> -Ethyl- <i>N</i> -methyl	Methyl	
	<i>N,N</i> -Dimethyl	Ethyl	
	Ethyl	Ethyl	
	Methyl	<i>n</i> -Propyl	
	H	<i>n</i> -Butyl	
112	Pyrrolidinyl	CH ₃	15
114	<i>N,N</i> -Diethyl	Methyl	15
	<i>N</i> -Ethyl- <i>N</i> -methyl	Ethyl	
	<i>N,N</i> -Dimethyl	<i>n</i> -Propyl	
	Ethyl	<i>n</i> -Propyl	
	Methyl	<i>n</i> -Butyl	
	H	<i>n</i> -Pentyl	
126	Pyrrolidinyl	Ethyl	15
128	<i>N,N</i> -Diethyl	Ethyl	15
	<i>N</i> -Ethyl- <i>N</i> -methyl	<i>n</i> -Propyl	
	<i>N,N</i> -Dimethyl	<i>n</i> -Butyl	
	Ethyl	<i>n</i> -Butyl	
	Methyl	<i>n</i> -Pentyl	
	H	<i>n</i> -Hexyl	
140	Pyrrolidinyl	<i>n</i> -Propyl	15
142	<i>N,N</i> -Diethyl	<i>n</i> -Propyl	15
	<i>N</i> -Ethyl- <i>N</i> -methyl	<i>n</i> -Butyl	
	<i>N,N</i> -Dimethyl	<i>n</i> -Pentyl	
	Ethyl	<i>n</i> -Pentyl	
	Methyl	<i>n</i> -Hexyl	
	H	<i>n</i> -Heptyl	
154	Pyrrolidinyl	<i>n</i> -Butyl	15
156	<i>N,N</i> -Diethyl	<i>n</i> -Butyl	15
	<i>N</i> -Ethyl- <i>N</i> -methyl	<i>n</i> -Pentyl	
	<i>N,N</i> -Dimethyl	<i>n</i> -Hexyl	
	Ethyl	<i>n</i> -Hexyl	
	Methyl	<i>n</i> -Heptyl	
168	Pyrrolidinyl	<i>n</i> -Pentyl	15
170	<i>N,N</i> -Diethyl	<i>n</i> -Pentyl	15
	<i>N</i> -Ethyl- <i>N</i> -methyl	<i>n</i> -Hexyl	
	<i>N,N</i> -Dimethyl	<i>n</i> -Heptyl	
	Ethyl	<i>n</i> -Heptyl	
182	Pyrrolidinyl	<i>n</i> -Hexyl	15
184	<i>N,N</i> -Diethyl	<i>n</i> -Hexyl	15
	<i>N</i> -Ethyl- <i>N</i> -methyl	<i>n</i> -Heptyl	
196	Pyrrolidinyl	<i>n</i> -Heptyl	15
198	<i>N,N</i> -Diethyl	<i>n</i> -Heptyl	15

3. 結果および考察

3-1. MRM測定によるベンゾイル骨格の識別

カチノン類のEI-マスペクトルでは、カルボニル基の α 開裂で生じるベンゾイルカチオンとさらにCO分子が脱離したイオンが観察されることが知られています。アミンの α 開裂に起因するイミニウムイオンに比べてその強度は非常に弱いですが、 β 位カルボニル基の存在の有無はカチノン類とフェネチルアミン類を識別するうえで非常に重要になります。そこで、ベンゾイルカチオンをプリカーサー m/z として選択し、CIDによりそこからCO分子が脱離する反応を、MRMによりモニターすることで、カルボニル基を有するカチノン類を選択的に検出することを試みました。カチノン類の包括指定では、ベンゼン環に結合する異なる9種類の官能基が規定されていますが、その質量を考慮した「ベンゾイル>フェニル」の組み合わせに相当するMRMトランジションを設定しました。

CIDのコリジョンエネルギーは、設定した全てのMRMのうち、できるだけ多くのMRMで最も高感度となる値を検討し、全てのMRMのコリジョンエネルギーを10Vに設定しました。また、検討した62種類のカチノン類すべてで、「ベンゾイル>フェニル」の組み合わせに相当するMRMクロマトグラムのピークが確認されました。カチノン類の確認には、EI-マスペクトルでは、カルボニル基の α 開裂で生じるベンゾイルカチオンとさらにCO分子が脱離したイオンの2種類のイオンの存在を確認する必要がありますが、これらのイオンの相対強度は非常に低いため、マスペクトルの解析に時間を要します。また、生体試料あるいは特に濃度が低い試料では、バックグラウンドノイズに埋もれる場合もあり、誤同定するリスクも高まってきます。

MRM測定では、ベンゾイルカチオンからのCOの脱離を選択的にモニターし、その反応に起因する2種類のイオンの存在をMRMクロマトグラムのピークの有無で確認できるため、容易にカチノン類の特徴であるベンゾイル骨格の識別が可能でした。また、設定したMRMトランジションはベンゼン環に修飾する官能基に対応しているため、検出されたピークのMRMトランジションからベンゼン環に修飾する官能基の種類を識別することが可能でした。

3-2. ベンゾイルの α 開裂で生じるイオンのプロダクトイオンスキャン測定

医薬品医療機器等法におけるカチノン類の包括規制では、ベンゼン環に結合する官能基としてTable 3に記載したような9種類が規定されています。3-1のMRM測定によりカチノン類である可能性が示唆された場合、さらに芳香環の構造を特定することは構造推定を行う上で非常に重要になります。そこで、芳香環に結合する官能基の種類だけでなくその結合位置の特定も併せて可能かどうか検討しました。検討対象化合物として、メトカチノン基本骨格に加えて、芳香環に結合する官能基としてメチル基、エチル基、メトキシ基、メチレンジオキシ基、臭素およびフッ素を選定し、各化合物の位置異性体として o -, m -, p -位置置換体およびメチレンジオキシ基置換体については2,3-メチレンジオキシおよび3,4-メチレンジオキシ基を選定しました。

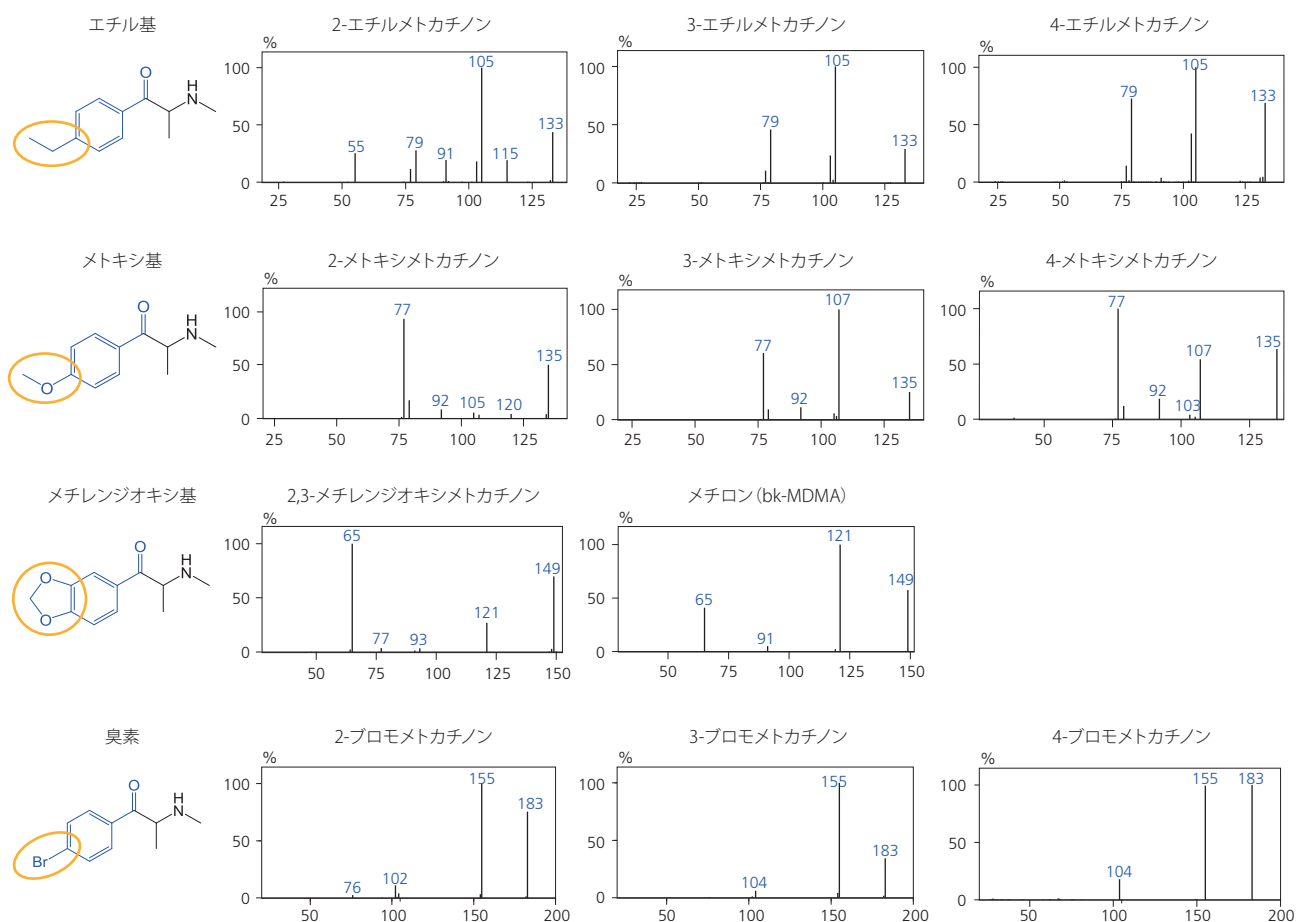


Fig. 3 ベンゾイルの α 開裂で生じるイオンをプリカーサー m/z のプロダクトイオンスキャンのマスペクトル

各化合物について、ベンゾイルカチオンをプリカーサー m/z とし、CIDにおけるコリジョンエネルギーを変化させ、プロダクトイオンスキャン測定しました。その結果、ベンゼン環にメチル基やエチル基が結合している場合、コリジョンエネルギーを高くすると、ベンゾイルカチオンからのCO分子の脱離よりもベンゼン環に結合するメチル基およびエチル基の脱離が優位となり、芳香環側の構造を反映するイオン強度が弱くなることから、コリジョンエネルギーを10eVに設定しました。得られた代表的なプロダクトイオンスキャンのマススペクトルをFig. 3に示します。

ベンゼン環にエチル基、メトキシ基、メチレンジオキシ基が置換した場合、各プロダクトイオンスペクトルにおいて相対強度が大きい特徴的なイオンが3種類以上観察されました。また、同じ置換基の場合でも、置換位置の違いにより相対イオン強度比が明確に異なるほか、それぞれに特徴的なイオンが観察され、位置異性体の識別が可能でした。一方、ベンゼン環にメチル基、臭素、フッ素が置換した場合、各プリカーサーイオンとプリカーサーイオンからCO分子が脱離したイオンの2種類のみが観察されるだけであり、位置異性体間でのそれらイオンの相対強度比には、ほとんど差異は見られませんでした。そのため、置換基の種類は特定できるものの位置異性体の識別は困難であると考えました。

3-3. アミンの α 開裂で生じるイオンのプロダクトイオンスキャン測定

カチノン類のEI-マススペクトルでは、アミンの α 開裂に由来するイミニウムイオンが非常に強い強度で検出されることが知られています。一方、 α 開裂で生じるイミニウムイオンを形成するアミン骨格は多くの構造異性体を有しますが、EI-マススペクトルのみではアミン骨格の構造異性体の識別が困難です。そこで、アミンの α 開裂で生じたイミニウムイオンをさらにCIDにより開裂させ、得られるプロダクトイオンスペクトルから、アミン骨格の同定を試みました。CIDでは、得られるプロダクトイオンスペクトルは、コリジョンエネルギーに大きく依存します。そこで構造異性体の識別が可能な最適コリジョンエネルギーを検討した結果、プロダクトイオンスペクトルにおいてアミン構造の違いを反映するプロダクトイオンが比較的強い強度で観察される15Vが最適でした。アミンの α 開裂で生じるイミニウムイオンをプリカーサーイオンとしたプロダクトイオンスペクトルのパターンをFig. 4 (プリカーサー m/z 86) およびFig. 5 (プリカーサー m/z 100) に示します。アミンの α 開裂によって生じるイミニウムイオンをプリカーサーとしたプロダクトイオンスペクトルでは、同じ m/z のプリカーサーイオンを選択した場合でも、アミンの級数と窒素原子に結合するアルキル基の種類によって、ベースピークの m/z が異なるなど、マススペクトルパターンが明確に異なり、構造異性体の識別も容易でした。

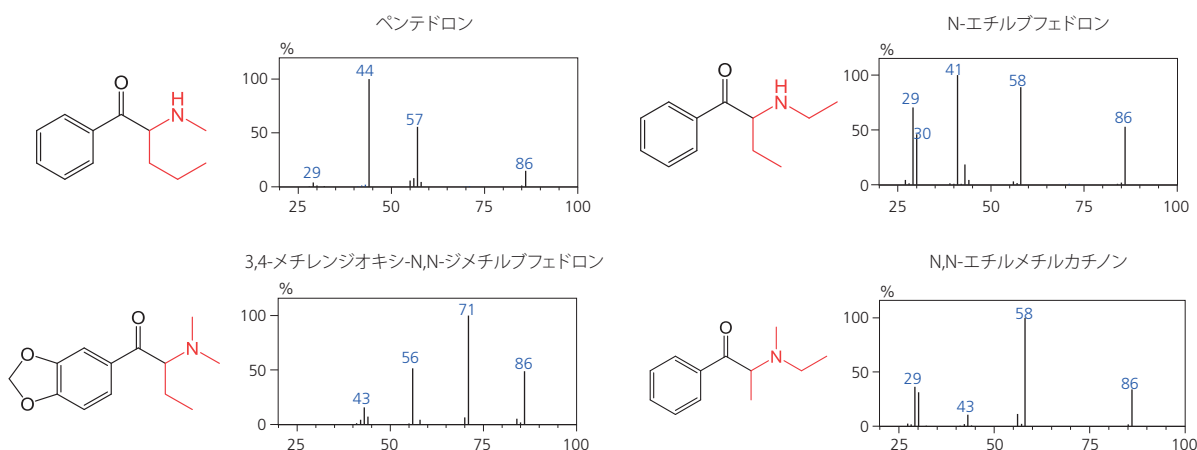


Fig. 4 アミンの α 開裂で生じるイミニウムイオン m/z 86をプリカーサーとしたプロダクトイオンスキャンのマススペクトル

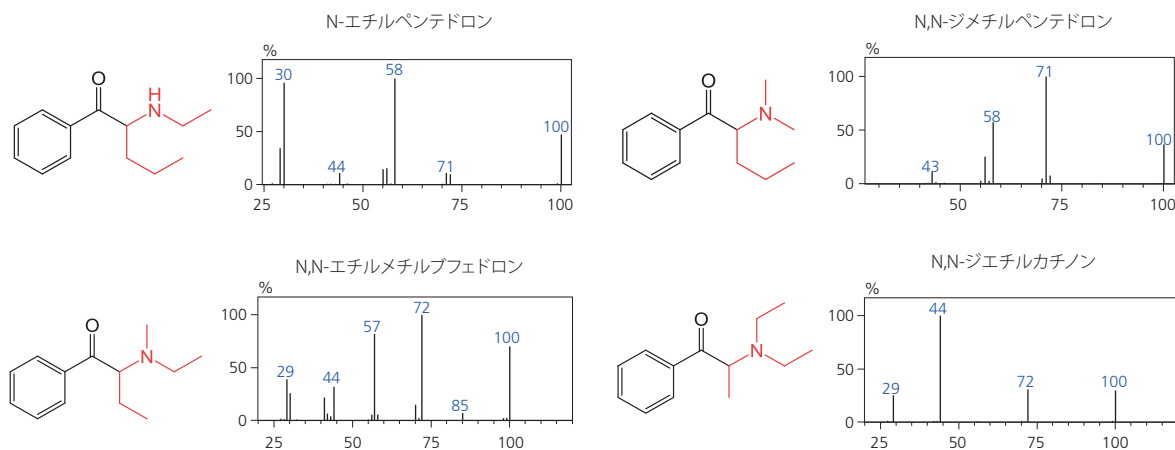


Fig. 5 アミンの α 開裂で生じるイミニウムイオン m/z 100をプリカーサーとしたプロダクトイオンスキャンのマススペクトル

3-4. 本手法を用いた包括検出と構造推定例

上記の3種類のMS/MS測定を組み合わせることにより、カチノン類の包括検出と検出されたカチノン類の構造推定が理論上可能となります。すなわち、包括指定されたカチノン類を分析した場合、3種類のMS/MS測定からそれぞれ得られたクロマトグラムのピークが同一保持時間で検出されます。MRMクロマトグラムのピークのトランジションから、カチノン類に特徴的なカルボニル骨格を有することおよびベンゼン環に修飾する官能基が9種類のうちのどの官能基に相当するかが推定することができます。また、ベンゾイルの α 開裂で生じるイオンのプロダクトイオンスキャンの結果から、トータルイオンカレントクロマトグラムが得られると同時に、あらかじめ登録したプロダクトイオンスペクトルのデータベースで自動検索することにより、ベンゼン環に修飾する官能基を特定することができます。この際、官能基の種類によっては環上の置換位置の特定も可能になります。さらに、アミンの α 開裂で生じるイミニウムイオンをプリカーサーとしたプロダクトイオンスキャンの結果から、トータルイオンカレントクロマトグラムが得られると同時に、プロダクトイオンスペクトルのデータベースで自動検索することにより、アミン骨格の同定が可能となります。得られたこれらの結果を組み合わせることで分析対象となった化合物が、包括規制に該当するカチノン類か否かの判定、さらには該当する場合はそのカチノン類の構造推定も可能になります。

本手法を用いてデータ解析した例をFig. 6に示します。包括指定に該当するカチノン類が検出された場合、3種類のMS/MS測定からそれぞれクロマトグラムのピークが同一保持時間で検出されます。同定されたMRMクロマトグラム(1)のピークのトランジション(m/z 133>105)からカチノン類に特徴的なカルボニル骨格を有すること、およびベンゼン環に修飾する官能基がメチル基またはエチル基であることが確認できます。また、ベンゾイルの α 開裂で生じる m/z 133をプリカーサーイオンとするプロダクトイオンスキャンで検出されたトータルイオンカレントクロマトグラムのプロダクトイオンスペクトルを自動検索することにより、メタ位にエチル基が修飾していることが確認できました(2)。さらに、アミンの α 開裂で生じる m/z 58をプリカーサーイオンとするプロダクトイオンスキャンの結果から、 $R_1=CH_3$ 、 $R_2=H$ の官能基を有することが確認できました(3)。これらの結果から、検出されたピークは3-エチルメトカチノンと推測することができ、標準品を測定して確認したところ保持時間が一致し、検出されたピークは3-エチルメトカチノンであることが同定されました。

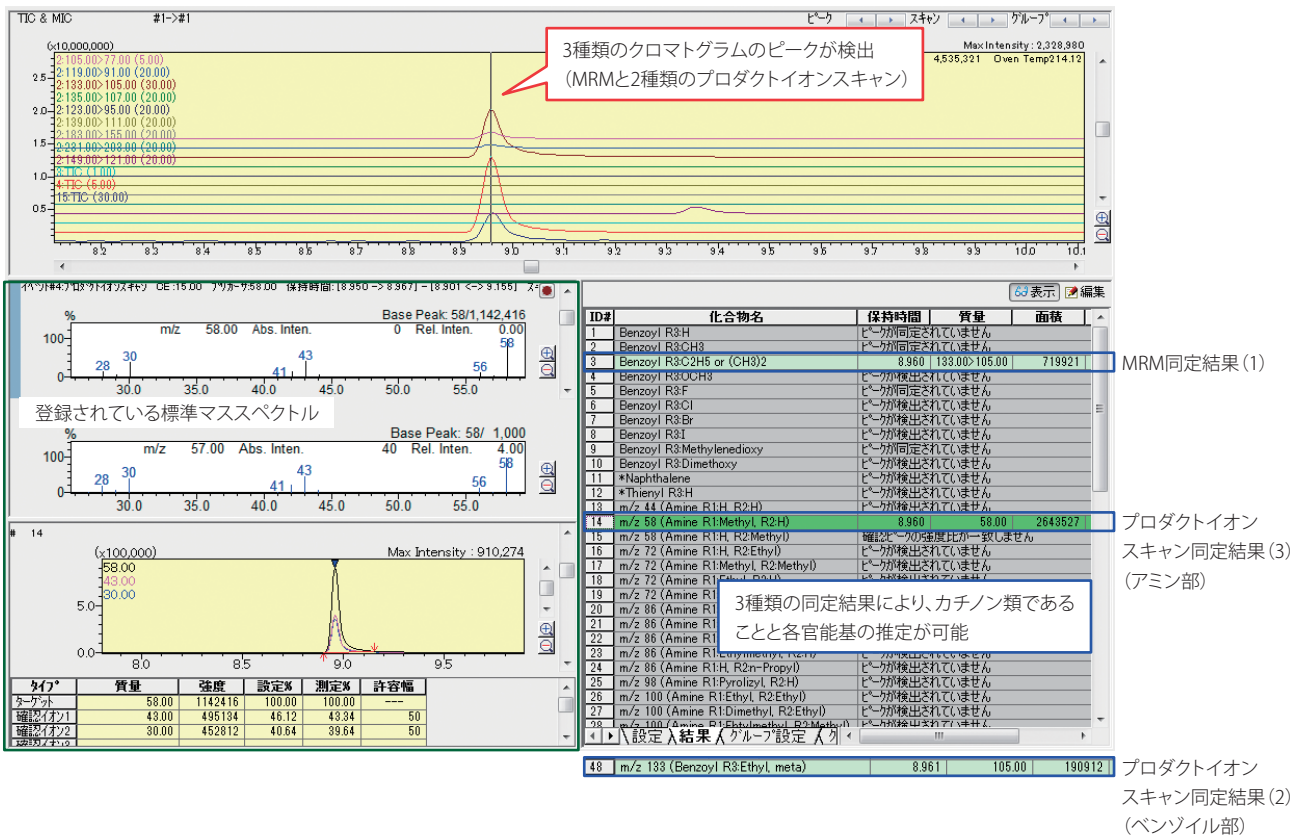


Fig. 6 本手法を用いたデータ解析例

4. 結論

GC-MS/MSのMRMとプロダクトイオンスキャン法を用いたカチノン類の包括検出と構造推定手法について検討を行いました。EI法で生じる α 開裂したアミンおよびベンゾイルの構造に起因するイオンをプリカーサーイオンとしたプロダクトイオンスキャン、およびベンゾイル骨格の識別のためのMRMを組み合わせた分析モードで測定することにより、すべてのカチノン類で包括指定に該当するカチノン類を選択的に検出することが可能でした。

アミンの α 開裂で生じるイミニウムイオンをプリカーサーイオンとしたプロダクトイオンスキャン測定は、プロダクトイオンスペクトルのベースピークおよび各フラグメントイオンの相対強度比で明確な差異が得られ、GC/MSでは識別困難な構造異性体の識別が可能でした。ベンゾイル基の α 開裂で生じるイオンをプリカーサーイオンとしたプロダクトイオン測定では、一部のベンゾイル基に修飾する官能基の位置異性体については識別が困難でしたが、エチル、メトキシ、メチレンジオキシ基の位置異性体は識別が可能でした。

GC-MS/MSでは、EIイオン化によって開裂したイオンを任意で選択して、CIDによりさらに開裂させることができるため、カチノン類の主要骨格をアミンとベンゾイルのように2つの部分構造に分けて、それぞれ独立的に解析を行い、構造推定を行うことが可能です。本手法では、包括指定で規制されるカチノン類を80種類のプロダクトイオンスペクトルで表現することができるため、あらかじめ80種類のプロダクトイオンスペクトルをデータベースとして登録しておけば、従来の個別対象成分ごとにEI-スキャンのマスマスペクトルを採取する方法よりも標準品の入手や測定に必要な労力を大幅に減らすことができます。

近年、ベンゾイル基の代わりにチエンル基が修飾した α -PVTなどの新規のカチノン類が出回っており、今後も包括規制の対象外の官能基が修飾されたカチノン類の流通が予測されます。これらの部分構造を反映したMRMトランジションやプロダクトイオンスキャンマスマスペクトル情報を蓄積することにより、派生する新規カチノン類の構造推定に大いに役立つと期待されます。

参考文献

- [1] J. P. Kelly, Cathinone derivatives: A review of their chemistry, pharmacology and toxicology. *Drug Test. Ana.*, 3, 439–453, 2011.
- [2] M. Coppola, R. Mondola, Synthetic cathinones: Chemistry, pharmacology and toxicology of a new class of designer drugs of abuse marketed as “bath salts” or “plant food”. *Toxicol. Lett.*, 211, 144–149, 2012.
- [3] S. D. Brandt, H. R. Sumnall, F. Measham, J. Cole, Analyses of second-generation ‘legal highs’ in the UK: initial findings, *Drug Test. Anal.*, 2, (8), 377–382, 2010.
- [4] H. A. Spiller, M. L. Ryan, R. G. Weston, Clinical experience with and analytical confirmation of “bath salts” and “legal highs” (synthetic cathinones) in the United States. *Clin. Toxicol.* 49, 499–505, 2011.
- [5] P. Kalix, Cathinone, an alkaloid from khat leaves with an amphetamine-like releasing effect, *Psychopharmacology*, 74, (3), 269–270, 1981.
- [6] J. M. Prosser, L. S. Nelson, The Toxicology of Bath Salts: A Review of Synthetic Cathinones *J. Med. Toxicol.*, 8, 33–42, 2012
- [7] L. K. Sorensen. Determination of cathinones and related ephedrine in forensic whole-blood samples by liquid-chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. B*, 879, 727–736, 2011.
- [8] C. Bell, C. George, A. T. Kicman, A. Traynor. Development of a rapid LC-MS/MS method for direct urinalysis of designer drugs. *Drug Tes. Anal.*, 3, 496–504, 2011.
- [9] 井上博之, 小栗一太, 土橋均, 山田英之, 麻薬試験法, 日本薬学会 (編) 薬毒物試験法と注解 2006 分析・毒性・対処法. 131–173, 東京化学同人, 東京, 2006.
- [10] 小栗一太, 片木宗弘, 岸徹, 高山成明, 土橋均, 三木昭宏, 覚せい剤試験法, 日本薬学会 (編) 薬毒物試験法と注解 2006 分析・毒性・対処法. 187–213, 東京化学同人, 東京, 2006.
- [11] 松田駿太郎, 片木宗弘, 西岡裕, 鎌田寛恵, 佐々木啓子, 志摩典明, 鎌田徹, 三木昭宏, 辰野道昭, 財津桂, 坪井健人, 土橋均, 鈴木廣一, EIマスマスペクトル解析によるカチノン類の構造推定, 法科学技術, 19, 77–89. 2014.
- [12] W. Folker, J. Thomas, Ring positional differentiation of isomeric N-alkylated fluorocathinones by gas chromatography/tandem mass spectrometry. *Forensic Sci. Int.*, 223, 97–105, 2012.
- [13] D. Zuba, Identification of cathinones and other active components of ‘legal highs’ by mass spectrometric methods. *Tren. In Anal. Chem.*, 32, 15–30, 2012.

本アプリケーションは、大阪府警察本部科学捜査研究所と共同で開発しました。

トリプル四重極型 ガスクロマトグラフ質量分析計 GCMS-TQ8040

日常の分析を飛躍させるSmart性能



多種多様な試料に含まれるさまざまな化学物質を微量まで測定する場合、GC-MS/MSによる測定が有効ですが、多くのパラメータ設定や適切なメソッドの作成が必要になります。GCMS-TQ8040では、煩雑なメソッドの作成作業を自動化し、高感度な多成分一斉分析を可能にしたことで、生産性を飛躍的に向上させます。

Smart Productivity

- 新しいファームウェア・プロトコルを搭載
- より多くの化合物を高感度・高精度に一斉分析
- Twin Line MSシステムによりカラム交換作業を軽減

Smart Operation

- Smart MRMによる最適なメソッドを自動作成
- 最適なトランジションを自動探索
- AART機能による保持時間自動修正

Smart Performance

- 特許技術の高感度イオン源により、更なる高感度化を実現
- OFF-AXISイオン光学系によりノイズを低減
- シングルGC-MSとしても高感度分析可能

複数分析モードの同時測定

高速スキャン制御技術 (Advanced Scanning Speed Protocol : ASSP™) および高いCID効率とイオンの高速搬送を実現する高効率コリジョンセル UFsweeper®により、最高スキャンスピード20,000u/secを実現しました。また、スキャン/MRM同時分析だけでなく、本アプリケーションで利用したスキャン/MRM/プロダクトイオンスキャンの3モード同時測定も行うことができます。プロダクトイオンスキャンも最高スキャンスピード20,000u/secで利用することが可能なため、一度に数十種類以上のプリカーサー m/zを設定したプロダクトイオンスキャンも簡単に行えます。

	化合物名	開始時間 (分)	終了時間 (分)	測定モード	イベント時間(秒)	スキャン速度	開始 m/z	終了 m/z	プリカーサー m/z	CE
1-1		2.30	43.00	Q3 スキャン	0.050	10000	43.00	500.00		
1-2		2.30	43.00	MRM	0.050					
1-3	Amine m/z44	2.30	43.00	プロダクトイオンスキャン	0.005	20000	20.00	45.00	44.00	15.00
1-4	Amine m/z58	2.30	43.00	プロダクトイオンスキャン	0.005	20000	20.00	59.00	58.00	15.00
1-5	Amine m/z72	2.30	43.00	プロダクトイオンスキャン	0.008	20000	20.00	73.00	72.00	15.00
1-6	Amine m/z86	2.30	43.00	プロダクトイオンスキャン	0.008	20000	20.00	87.00	86.00	15.00
1-7	Amine m/z98	2.30	43.00	プロダクトイオンスキャン	0.010	20000	20.00	99.00	98.00	15.00
1-8	Amine m/z100	2.30	43.00	プロダクトイオンスキャン	0.010	20000	20.00	101.00	100.00	15.00
1-9	Amine m/z112	2.30	43.00	プロダクトイオンスキャン	0.010	20000	20.00	113.00	112.00	15.00
1-10	Amine m/z114	2.30	43.00	プロダクトイオンスキャン	0.010	20000	20.00	115.00	114.00	15.00
1-11	Amine m/z126	2.30	43.00	プロダクトイオンスキャン	0.010	20000	20.00	127.00	126.00	15.00
1-12	Amine m/z128	2.30	43.00	プロダクトイオンスキャン	0.010	20000	20.00	129.00	128.00	15.00
1-13	Amine m/z140	2.30	43.00	プロダクトイオンスキャン	0.010	20000	20.00	141.00	140.00	15.00
1-14	Amine m/z142	2.30	43.00	プロダクトイオンスキャン	0.015	20000	20.00	143.00	142.00	15.00
1-15	Amine m/z154	2.30	43.00	プロダクトイオンスキャン	0.015	20000	20.00	155.00	154.00	15.00
1-16	Amine m/z156	2.30	43.00	プロダクトイオンスキャン	0.015	20000	20.00	157.00	156.00	15.00
1-17	Amine m/z168	2.30	43.00	プロダクトイオンスキャン	0.015	20000	20.00	169.00	168.00	15.00
1-18	Amine m/z170	2.30	43.00	プロダクトイオンスキャン	0.015	20000	20.00	171.00	170.00	15.00
1-19	Amine m/z182	2.30	43.00	プロダクトイオンスキャン	0.015	20000	20.00	183.00	182.00	15.00
1-20	Amine m/z184	2.30	43.00	プロダクトイオンスキャン	0.015	20000	20.00	185.00	184.00	15.00
1-21	Amine m/z196	2.30	43.00	プロダクトイオンスキャン	0.015	20000	20.00	197.00	196.00	15.00
1-22	Amine m/z198	2.30	43.00	プロダクトイオンスキャン	0.015	20000	20.00	199.00	198.00	15.00
1-23	Benzoyl R3:H	2.30	43.00	プロダクトイオンスキャン	0.012	10000	20.00	106.00	105.00	10.00
1-24	Benzoyl R3:Methyl	2.30	43.00	プロダクトイオンスキャン	0.015	10000	20.00	120.00	119.00	10.00
1-25	Benzoyl R3:Ethyl or Dimet	2.30	43.00	プロダクトイオンスキャン	0.015	10000	20.00	134.00	133.00	10.00
1-26	Benzoyl R3:Methoxy	2.30	43.00	プロダクトイオンスキャン	0.015	10000	20.00	136.00	135.00	10.00
1-27	Benzoyl R3:F	2.30	43.00	プロダクトイオンスキャン	0.015	10000	20.00	124.00	123.00	10.00
1-28	Benzoyl R3:Cl	2.30	43.00	プロダクトイオンスキャン	0.015	10000	20.00	140.00	139.00	10.00
1-29	Benzoyl R3:Br	2.30	43.00	プロダクトイオンスキャン	0.020	10000	20.00	184.00	183.00	10.00
1-30	Benzoyl R3:I	2.30	43.00	プロダクトイオンスキャン	0.025	10000	20.00	232.00	231.00	10.00
1-31	Benzoyl R3:Methylenedio	2.30	43.00	プロダクトイオンスキャン	0.020	10000	20.00	150.00	149.00	10.00
1-32	Thienyl R3:H	2.30	43.00	プロダクトイオンスキャン	0.012	10000	20.00	112.00	111.00	10.00
1-33	Benzoyl R3:Dimethoxy	2.30	43.00	プロダクトイオンスキャン	0.020	10000	20.00	166.00	165.00	10.00
1-34	Naphthalene R3:H	2.30	43.00	プロダクトイオンスキャン	0.020	10000	20.00	156.00	155.00	10.00

本アプリケーションで利用した MS/MS 分析条件

株式会社 島津製作所
分析計測事業部 <http://www.an.shimadzu.co.jp/>

本資料の掲載情報に関する著作権は当社または原著者に帰属しており、権利者の事前の書面による許可なく、本資料を複製、転用、改ざん、販売等することはできません。掲載情報については十分検討を行っていますが、当社はその正確性や完全性を保証するものではありません。また、本資料の使用により生じたいかなる損害に対しても当社は一切責任を負いません。本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。

初版発行：2016年10月
© Shimadzu Corporation, 2016