

報 文

ガスクロマトグラフィー/質量分析法による毛髪試料中のヘロイン代謝物の定量とヘロイン使用証明への応用

中原 雄二^{®*}, 高橋 一徳*, 木倉 瑠理*

(1995年5月18日受付)

(1995年6月30日審査終了)

ヘロイン投与のラットを用いて、ヘロイン代謝物(6-アセチルモルヒネとモルヒネ)の血しょう(plasma)から毛髪への取り込みについて、GC/MS-選択イオンモニタリング(SIM)法により究明し、更にヘロインの使用証明のための生体試料としての毛髪の有用性を血しょう及び尿試料と比較した。有色毛を有するラット(DA系, 5週齢)にヘロイン2.5及び5.0 mg/kgを1日1回10日間腹くう内投与し、血しょう、尿及び毛髪中の6-アセチルモルヒネとモルヒネをトリメチルシリル(TMS)誘導体化してGC/MSにより定量した。得られた血しょう中濃度-時間曲線下面積(AUC_∞)と28日間で新たに生えた背部の毛髪中薬物濃度を比較して、血しょうから毛髪への二つの代謝物の取込率を比較した。その結果、6-アセチルモルヒネの毛髪への取込率は、モルヒネのそれより7倍以上であった。これは6-アセチルモルヒネがモルヒネより毛髪に取り込まれやすく、蓄積しやすいことを示している。次いで、ヘロイン使用証明用生体試料としての毛髪の有用性を血液や尿試料と比較した。6-アセチルモルヒネの検出可能な時間に関しては、血液や尿試料ではそれぞれ3又は48時間以下であるのに反し、毛髪試料では28日後に採取した試料から明確に確認できた。更に、ヘロイン乱用者の毛髪からは1.4年前に相当する毛髪の部位からも6-アセチルモルヒネを確認した。このことは6-アセチルモルヒネが尿や血液中で不安定であるのに比べ、毛髪中ではかなり安定であることを示している。毛髪試料が他の生体試料に比べ、6-アセチルモルヒネの存在量の多さと1年以上の過去にさかのぼって検出可能であるという点に関し、ヘロインの使用証明を行う上で、非常に有用な試料であることが明らかになった。最後に、本法を用いて、ヘロイン常用者の過去の薬物歴と毛髪中の薬物分布を比較した。

1 緒 言

ジアセチルモルヒネ(ヘロイン)は体内で急速に代謝を受け、6-アセチルモルヒネ(6 MAM)を経て、モルヒネ及びそのグルクロン酸抱合体となって尿中に排せつされる。モルヒネは直接、あるいは加水分解後生体試料中に比較的容易に検出することができるが、尿中にモルヒネを検出しても、モルヒネ、アヘン、コデイン及びけしの種を含む食品などの使用とヘロイン使用と区別できない。モルヒネ及びコデインは現在医療用にも広く用いられており、不法使用との混同も考慮に入れなければならないし、犯罪の悪質性と薬物乱用拡大防止の観点から考えると、ヘロイン使用の証明は重要な課題である。

ヘロイン使用を証明するには、生体試料からヘロインか6 MAMを検出しなければならない。生体試料中の

ヘロインは非常に不安定で、すぐに分解するため、ヘロイン使用証明のよい標的化合物とは言えない。それゆえ、ヘロイン使用証明には、比較的安定な6 MAMの検出が必要となる。一般に、ヘロイン使用者の血中や尿中の6 MAMは濃度も低く、その存在期間はいずれも非常に短く、現在のところこれら生体試料からヘロイン使用を証明することは容易でない。近年、Coneら^{1)~3)}と著者らのグループ⁴⁾⁵⁾は、前後してヘロイン使用者又はヘロイン投与の動物の毛髪中からの6 MAMの検出を報告しており、ヘロイン使用を証明できる生体試料として注目されている。

ヘロイン使用証明に毛髪を利用するためには、基礎的データとしてヘロイン代謝物の血中から毛髪中への移行性を詳細に調べておく必要がある。血しょう(plasma)から毛髪への薬物の移行性を客観的に表すために、著者らは血しょう中濃度-時間曲線下面積(AUC)に対する毛髪中薬物濃度([H])の比([H]/AUC)を薬物取込率(incorporation rate into hair)として提案している⁶⁾。

* 厚生省国立衛生試験所: 158 東京都世田谷区上用賀 1-18-1

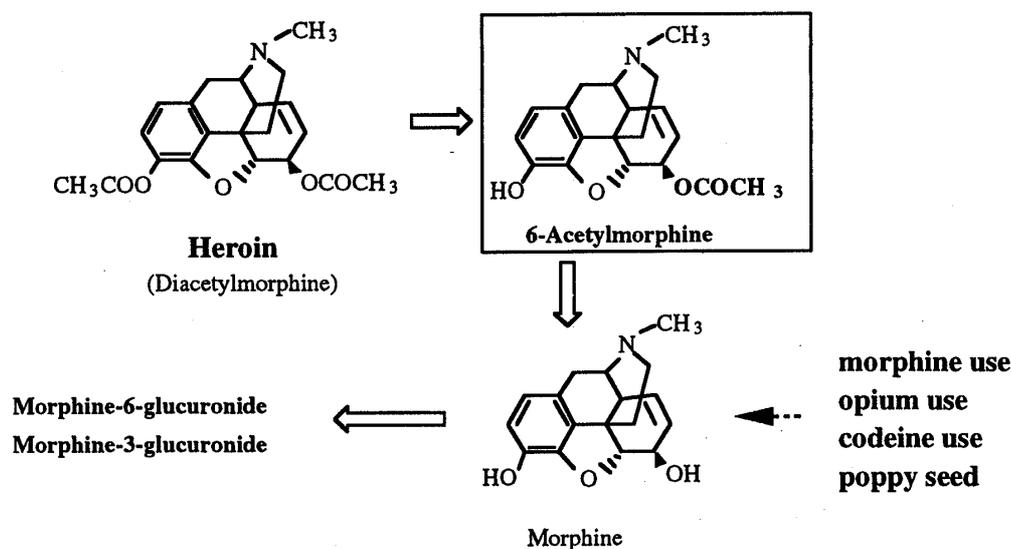


Fig. 1 Structures of heroin (diacetylmorphine) and its major metabolites

本稿はガスクロマトグラフ (GC)/質量分析 (MS)-選択イオンモニタリング (SIM) 法により生体試料中の 6 MAM と遊離のモルヒネを定量し、ヘロイン投与のラット血しょうから毛髪への 6 MAM とモルヒネの取込率を求めるとともに、ヘロイン使用証明に、尿や血液試料と毛髪試料のいずれが有利であるかを比較した。更に、ヘロイン常用者の過去の乱用歴と毛髪分析の結果を対比した。

2 実 験

2.1 材 料

薬品: 塩酸モルヒネは武田薬品製を購入した。6 MAM はヘロインから Fehn らの方法⁷⁾により合成した。パラホルムアルデヒド-d₂ (99.8 atom% D) とギ酸-d₂ (95% in D₂O, 98.4 atom% D) は MSD Isotope Co. Ltd. (Montreal, Canada) から購入した。モルヒネ-d₃ と 6 MAM-d₃ はパラホルムアルデヒド-d₂ とギ酸-d₂ を用いて、ノルモルヒネから前法で述べた方法⁵⁾により合成した。Bond Elut Certify は Varian Sample Preparation Products (Harbor City, USA) から購入した。その他の化学物質は試薬特級を用いた。

2.2 毛髪試料

ラット毛髪試料: 3 匹の Dark-Agouti ラット (雄性, 5 週齢, 90~120 g) にそれぞれヘロインを 2.5 及び 5.0 mg/kg, 1 日 1 回, 10 日間投与した。薬物投与前に、動物の背部の毛を動物用電気かみそりで刈り取り、これ

をコントロール試料とした。初回投与と 4 週間後に、新たに生えてきた背部の毛を刈り取った。

ヒトの毛髪試料: ヘロイン乱用者, ST-2 (男性, 27 歳), ST-5 (男性, 30 歳), ST-12 (女性, 32 歳), の毛髪試料は頭の後部頭頂部から頭皮の近くで切断し, 採取した。毛髪試料の根元側を輪ゴムで縛り, アルミはくで包んで郵送された。合わせて, 精神科医により得られた患者の薬物使用歴が試料とともに送られてきた。

2.3 薬物添加毛髪試料の標準調製法

10 ml のガラス管に入った洗浄済みの細切した正常なヒト毛髪 10 mg に 0.01~10 µg/ml の 6 MAM 及びモルヒネのメタノール溶液 0.1 ml を 0.1 から 50 ng/mg となるように添加し, ときどきボルテックスミキサーでかき混ぜながら, 溶媒を自然に蒸発させ均一な標準試料を作製した。

2.4 標準分析法

毛髪試料を 10 ml 試験管に入れ, 0.1% ラウリル硫酸ナトリウム (SDS) 10 ml を加え, 1 分間超音波洗浄を 3 回繰り返した後, 蒸留水 10 ml で同様に 3 回洗浄, 乾燥後, はさみで細かく切る。この毛髪試料 (5~10 mg) を精ひょうし 10 ml スピッツ試験管に入れ, メタノール-トリフルオロ酢酸 (TFA) (20:1) 2 ml と内標準 (400 ng/ml の 6 MAM-d₃ 及びモルヒネ-d₃ を含む) 溶液 100 µl を加えて 1 時間超音波処理した後, 室温で一夜放置する。毛髪を濾去後, 濾液を窒素気流にて蒸発

Table 1 Recoveries of 6-acetylmorphine (6 MAM) and morphine from spiked samples

	6 MAM	6 MAM+Morphine		Morphine
Amount added to hair	40 ng	40 ng	40 ng	40 ng
Recoverd amounts/ng	38.16±2.03 [†]	37.89±1.98,	40.62±0.49	38.76±0.60
Relative standard deviation, %	5.32	5.23,	1.21	1.55
Recovery, %	95.40	94.72,	101.55	96.90

$n=6$; [†] 1.27 ng of morphine was produced.

乾固した後、残留物に 0.1 M リン酸緩衝液 (pH 6.0) 2 ml 加え、よく混和した後、以下の手順に従って、固相抽出を行う。Bond Elut Certify (あらかじめメタノールと水で活性化した) に注ぎ、1 ml/min 程度の速度で吸引溶出する。カラムは水 5 ml で洗浄した後、水流ポンプ減圧下に 5 分間乾燥する。更に、メタノール 3 ml で洗浄した後、カラムはアスピレーター減圧下に 5 分間乾燥する。最後に、塩化メチレン-インプロピルアルコール-28% アンモニア水 (80:20:2) の 3 ml をカラムに加えて、目的物を吸引溶出し、溶出液は窒素気流にて留去する。残留物はビス(トリメチルシリル) アセトアミド (BSA) 50 μ l に溶解し、80°C で 20 分間シリル (TMS) 化し、その 2 μ l を GC/MS に注入する。

2.5 毛髪からの薬物抽出溶媒の検討

著者らが今回用いたメタノール-TFA (9:1) と比較するため、毛髪中のモルヒネ類の抽出に既に報告されている 3 種の代表的な溶媒、メタノール³⁾、10% 塩酸⁸⁾ 及びヘリカーゼ⁹⁾を用いて、文献に従い、以下に示す方法で抽出操作を行った。

メタノール: 毛髪 10 mg を小試験管に採り、メタノール 2 ml を加えて、40°C で 14 時間ボルテックスミキサーで振り混ぜる。終了時に内標準溶液 100 μ l を混和し、毛髪を汫去した後、溶媒を窒素気流で留去して得られた残留物にリン酸緩衝液 (pH 6.0) 2 ml 加え、前述 (2.7) の固相抽出を行う。

10% 塩酸: 毛髪 10 mg を小試験管に採り、10% 塩酸 2 ml を加えて、45°C で 14 時間ボルテックスミキサーで振り混ぜる。終了時に内標準溶液 100 μ l を混和し、毛髪を汫去した後、塩酸溶液をエーテルで振り混ぜ洗浄後、炭酸水素ナトリウムでアルカリ性としてクロロホルム-エタノール (3:1) で抽出し、得られた有機相を分離し、溶媒を窒素気流で留去する。残留物にリン酸緩衝液 (pH 6.0) 2 ml を加え、前述の固相抽出を行う。

ヘリカーゼ: 毛髪 10 mg を小試験管に採り、0.1 M リ

ン酸緩衝液 (pH 6.0) 2 ml とヘリカーゼ溶液 β -グルクロニダーゼ (50 U/ml)、アリルスルファターゼ (500 U/ml) を含むリン酸緩衝液 75 μ l を加えて、40°C で 2 時間振り混ぜる。終了時に内標準溶液 100 μ l を混和し、毛髪を汫去した後、上記に示した固相抽出を行う。

メタノール-TFA (9:1): 内標準溶液は抽出前の添加を抽出終了時に変えて、上記の標準分析法に基づき行う。

2.6 GC/MS の測定条件

GC/MS 装置はヒューレットパッカード製 Model 5890/MSD5971 を用いた。測定条件は次のような条件下で行った: TC-1 キャピラリーカラム (ジーエルサイエンス製、内径 0.25 mm、長さ 15 m、膜厚 0.25 μ m)、注入口温度; 200°C (スプリットレスモード)、カラム温度; 60°C (0.5 分保持) から 280°C へ毎分 20°C で昇温、キャリアガス; ヘリウム (4.5 psi)、質量分析計は SIM モードで測定し、TMS-6 MAM は m/z 399.15, 340.00, 287.00, TMS-6 MAM- d_3 は m/z 402.10, TMS₂-モルヒネは m/z 429.15, 414.00, 287.00 及び TMS₂-モルヒネ- d_3 は m/z 432.15 でそれぞれモニターした。

3 結果と考察

3.1 毛髪からの 6 MAM の回収率と安定性

400 μ g/ml の 6 MAM のメタノール溶液をコントロール毛髪試料に添加して、40 ng/10 mg の標準試料を作製し、この 10 mg を試験管に採り、内標準を抽出後に加える以外は標準分析法に従い抽出・定量を行い、回収率を調べた (Table 1)。メタノール-TFA (9:1) 抽出中に 6 MAM の 3~5% がモルヒネに分解し、回収率は 6 MAM では 95% 前後、モルヒネでは 96~97% であった。両者が共存する場合は、6 MAM がモルヒネに分解する量だけ見掛け上モルヒネの濃度が高い値となった。一方、内標準を抽出前に加える標準方法では、それぞれ

Table 2 Comparison of extraction efficiency of 6 MAM and morphine from rat hair

Drug administered	Drug detected			
	MeOH	10% HCl	Helicase	MeOH/TFA (9 : 1)
Rat-1 ^{a)}				
6 MAM	0.98±0.04	—	5.89±0.52	7.57±0.21
MO	TR	12.59±0.22	3.22±0.35	3.99±0.11
Sum ^{b)}	0.98 (7.8%)	(100%)	9.11 (72%)	11.56 (92%)
Rat-2 ^{a)}				
6 MAM	0.80±0.03	—	5.67±0.48	6.56±0.18
MO	TR	10.45±0.51	3.38±0.41	3.90±0.20
Sum ^{b)}	0.80 (7.7%)	(100%)	9.05 (87%)	10.46 (100%)

a) Rat-1 and Rat-2 mean each hair sample of two rats independently administered heroin. b) Sum means the total amount of 6 MAM and morphine. The values in the table are averages of the results from 3 portions of each rat hair sample.

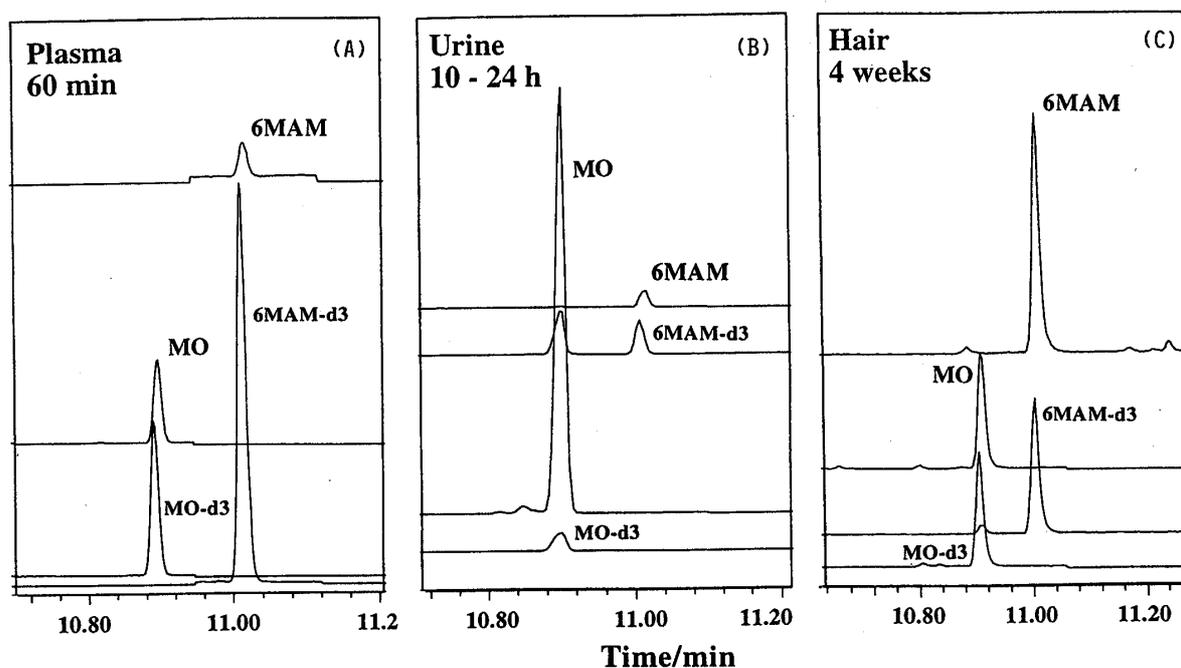


Fig. 2 GC/MS-SIM chromatograms of TMS-derivatized 6 MAM and morphine (MO) from plasma (A), urine (B) and hair (C) of rats administered heroin. Chromatograms were obtained by monitoring m/z 399 for TMS-6 MAM, m/z 402 for TMS-6 MAM- d_3 , m/z 429 for TMS₂-MO and m/z 432 for TMS₂-MO- d_3 .

の重水素標識体 (6 MAM- d_3 , モルヒネ- d_3) は、抽出中の挙動はほぼ同じであると考えられ、両化合物とも精度よく (RSD<6%) 定量できた。

ヘロイン投与のラット毛髪を用いて、4種の抽出溶媒による6 MAMとモルヒネの抽出効率を比較した。Table 2に示すように、メタノールでは6 MAMの抽出

のみで、7~8%にとどまった。10%塩酸では加水分解を伴い、モルヒネのみとなって抽出されるが、最も強力な抽出条件であるので、便宜上毛髪中のトータルモルヒネ (ラット-1: 12.59 ng/mg, ラット-2: 10.45 ng/mg) として考える。ヘリカーゼ処理では毛髪からのトータルモルヒネの回収率は72~87%であり、それに比べ、メ

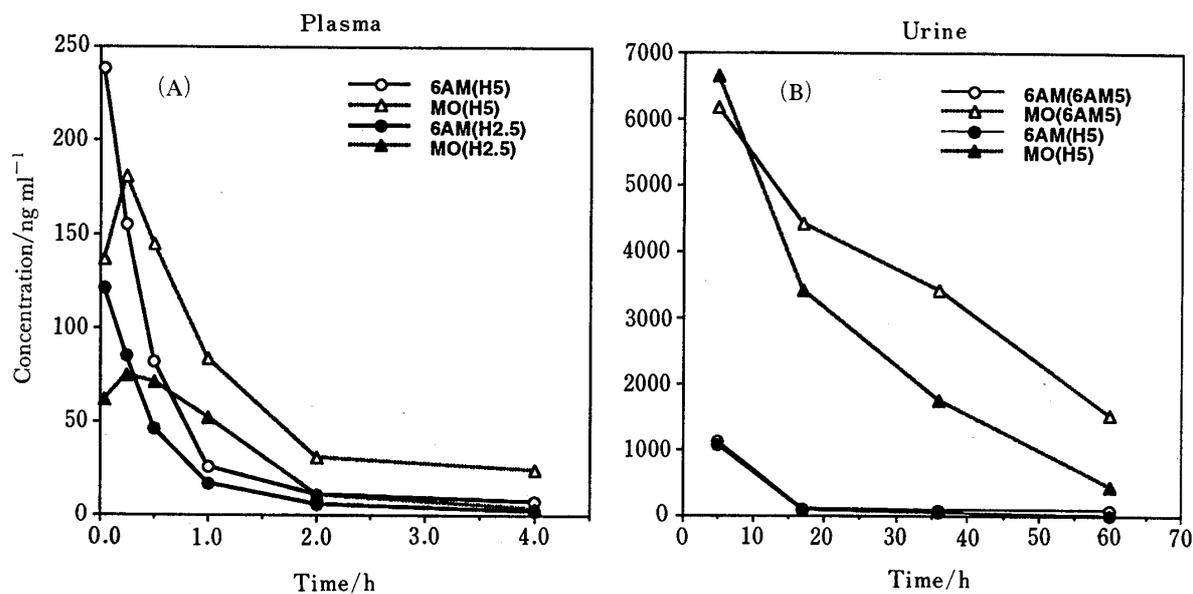


Fig. 3 Time courses of 6 MAM and morphine concentrations in plasma and urine of rats administered heroin or 6 MAM at 5 and 2.5 mg/kg

Abbreviation: H5; 5 mg/kg dose of heroin; H2.5; 2.5 mg/kg dose of heroin

タノール-TFA (9:1) ではトータルモルヒネの回収率は 92~100% であり, 明らかにメタノール-TFA (9:1) の抽出効率が優れていた. この 2 種の抽出溶媒での 6 MAM の割合はいずれも 62~65% であり, 抽出中の加水分解を極力抑制していることがうかがえる. この事実, メタノール-TFA (9:1) は毛髪中の 6 MAM の分解を抑えて, 効率よく抽出するとともに, 同時にモルヒネも効率的に抽出できる溶媒であることを示している. 本法は内標準として 6 MAM-d₃ を用いており, 抽出中の少量の分解も相殺できるので, 6 MAM の定量値の精度は高いと言える.

3・2 ヘロイン投与のラット血しょう, 尿及び毛髪からの GC/MS-SIM クロマトグラム

GC/MS の本条件において, モルヒネ及び 6 MAM の TMS 誘導体の保持時間は 10.92 及び 11.09 分であり, 対応する重水素標識体の TMS 誘導体は 10.89 及び 11.07 分であった. 重水素標識体のそれに対する相対保持時間は 1.001 から 1.003 の間であり, 測定条件が変化した場合もピークの同定が容易にできる. Fig. 2 に見られるように, ラットに投与 60 分後モルヒネ及び 6 MAM の血しょう中濃度はそれぞれ 52, 25 ng/ml, 10~24 時間尿はそれぞれ 3500, 100 ng/ml であり, それに対して, 28 日後のそれらの毛髪中濃度は 3.89, 6.74 ng/mg であり, モルヒネと 6 MAM の存在比が逆転し

ていることが分かる.

3・3 ヘロイン投与のラット血しょう及び尿中の 6 MAM の経時変化

ヘロインをラットに腹くう内投与後 5, 15, 30, 60, 120, 240 分に眼か静脈叢からキャピラリーガラス管でヘパリンを含むプラスチックチューブに氷冷下に採取した. 得られた血液試料は 10000 rpm で 3 分間遠心分離後, 分析時まで -20°C で保存した. 血しょう試料 100 μl を採り, 0.1 M リン酸緩衝液 (pH 7.4) 0.5 ml と内標準溶液 50 μl を加えて, 標準分析方法で前処理し, GC/MS で定量した.

Fig. 3A は 240 分までのラット血しょう中の 6 MAM 濃度とモルヒネ濃度の経時変化を示している. 血しょう中 6 MAM の検出可能な時間はヘロインを 5.0 mg/kg 腹くう内投与後, 長くて 2, 3 時間であった.

ヘロインをラットに腹くう内投与後 0~12, 12~24, 24~48 及び 48~72 時間尿を採取した. それぞれ 1 ml 採り, 0.1 M リン酸緩衝液 (pH 7.4) 1 ml と内標準溶液 100 μl を加えて, 標準分析方法で前処理し, GC/MS で定量した.

Fig. 3B は 72 時間までのラット尿中の 6 MAM とモルヒネの排せつを示している. 尿中 6 MAM 及びモルヒネの最大濃度は 12 時間尿であり, その後急速に減少した. 投与後, 48 時間を超える尿中に 6 MAM やモル

ヒネを検出するのは困難であった。

3・4 血中薬物の毛髪への取込率

血しょう中濃度-時間曲線下面積 (AUC_{∞}) の測定: AUC_{∞} は、最終時間での濃度 (C_{last}) と消失速度定数 (β) の積 (βC_{last}) で導き出される外挿法で得た経時変化曲線を用いて、台形則により計算した。

薬物の毛髪への取込率: 薬物の AUC_{∞} ($\text{min} \cdot \mu\text{g}/\text{ml}$) に対する毛髪中薬物濃度 (ng/mg) の比 (無名数) を薬物の血中から毛髪への移行の特性傾向を表す一つの指標 (毛髪取込率) として表す。

6 MAM とモルヒネは投与 28日後に刈り取ったラット毛髪中にそれぞれ 6.56~7.57, 3.90~3.99 mg/kg 検出された。ラット毛髪中の主代謝物は 6 MAM であり, 6 MAM とモルヒネの平均比率は 1.8 : 1 であった。

著者らは既報⁶⁾にて薬物の物理化学的性質の違いにより, 同投与量もしくは同じ AUC 値の薬物でも毛髪へ取り込まれる量が著しく異なることを報告している。その詳細なメカニズムは解明されていないが, その現象を説明するためにも毛髪へ取り込まれやすさを示す指標が必要であると思われる。そこで, 血しょう中の薬物の全量を客観的に表す AUC 値と一定期間に毛髪中に取り込まれた薬物の量を相対的に示す濃度の比を薬物取込傾向を表す指標 (毛髪取込率) として用いることを提案している⁶⁾。

6 MAM 及びモルヒネの毛髪取込率はそれぞれ 0.22 及び 0.03 と計算された。この値から見れば, 6 MAM はモルヒネに比べ, 7 倍以上毛髪への取り込みが速いことを示している。付言すれば, 既に報告した著者らの結果によると, 覚せい剤メタンフェタミンは 0.15±0.05¹⁰⁾, コカインは 2.0±0.4¹¹⁾ であり, 6 MAM はメタンフェタミンと同程度, モルヒネは毛髪への取り込みがかなり低い薬物であると結論できる。

3・5 ヘロイン乱用者の毛髪分析例

ヘロイン乱用者の毛髪試料 (全毛) 約 10 mg を標準分析法で抽出・分析を行った。

3 人のヘロイン乱用者の毛髪中には 6 MAM が主成分で, モルヒネは第 2 成分として検出された。ヒト毛髪中の 6 MAM/モルヒネの平均比率は 4 で, ラット毛髪中のそれ (1.8) より高い値であった (Fig. 4)。この事実はラットよりヒトの毛髪のほうが 6 MAM 検出を行う上では, より有利な生体試料であることを意味している。

Fig. 5 に ST-2 からの抽出物の GC/MS クロマトグ

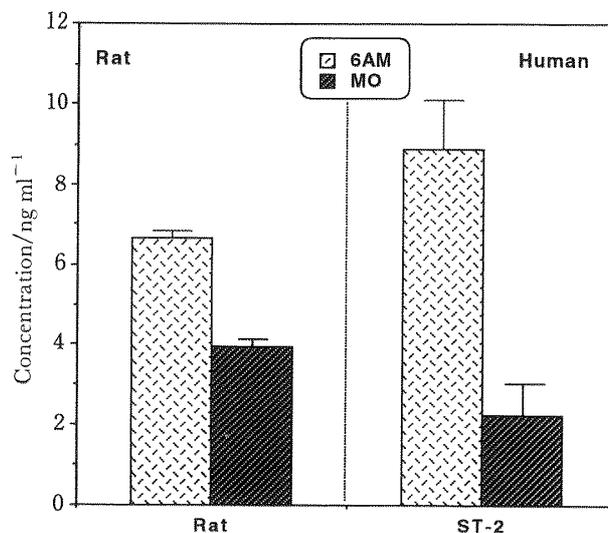


Fig. 4 Comparison between 6 MAM and morphine concentrations ($n=3$) in the hair of the rat and the human following heroin intake

ラムを代表例として示す。ST-2 では 6 MAM が 14.86 ng/mg, モルヒネが 3.23 ng/mg, ST-5 では 6 MAM が 6.16 ng/mg, モルヒネが 1.75 ng/mg, ST-12 では 6 MAM が 12.33 ng/mg, モルヒネが 2.28 ng/mg であった。

3・6 ヘロイン乱用者の薬物歴と毛髪中の薬物分布

約 30 本のヘロイン乱用者の毛髪試料を接着ペーパーに試料の根元をそろえて, 真っ直ぐにはり付け, 根元から 2 cm 間隔で切断した。それぞれの分画の毛髪片は別々にフラスコに入れ, 標準分析法に従い各分画を分析し, 乱用歴の裏付けを試みた。患者 (ST-2) は 1 年前からナイロピやニューヨークでヘロインを最大 1 日 1 g 乱用していた。しばらく, 日本に帰国していた間は薬物を使用しなかったが, その後タイやナイロピに渡り, ヘロインを連日使用した。毛髪中の 6 MAM の分布は Fig. 6 に示すように, 根元から先端へ時間のスケールを 1.2 cm/月に合わせたとき, 患者のヘロイン乱用歴とよく一致した。

Fig. 7 に示すように, ST-5 と ST-12 の毛髪分析の結果は乱用歴と毛髪中の 6 MAM 分布がよく符合しており, ST-12 の毛髪の根元から 22~24 cm (1.4 年前に相当) の分画に 6 MAM が 3.8 ng/mg 検出されたことを示している。この事実は毛髪分析により, 1 年以上前の過去のヘロイン使用状況を知ることができることを示しており, 更に, 成長期の毛髪中の 6 MAM は, その

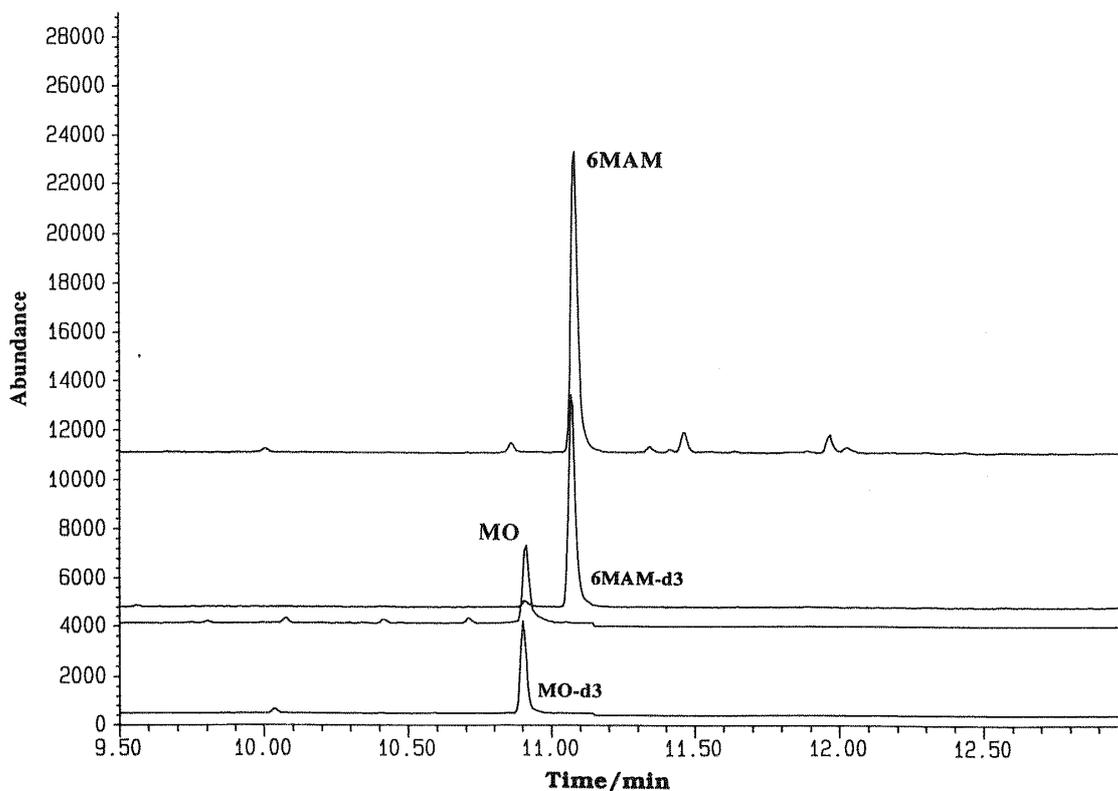


Fig. 5 GC/MS-SIM chromatograms of the TMS-derivatized 6 MAM and morphine from heroin abusers' hair

Chromatograms were obtained by monitoring m/z 399 for TMS-6 MAM, m/z 402 for TMS-6 MAM- d_3 , m/z 429 for TMS₂-MO and m/z 432 for TMS₂-MO- d_3 .

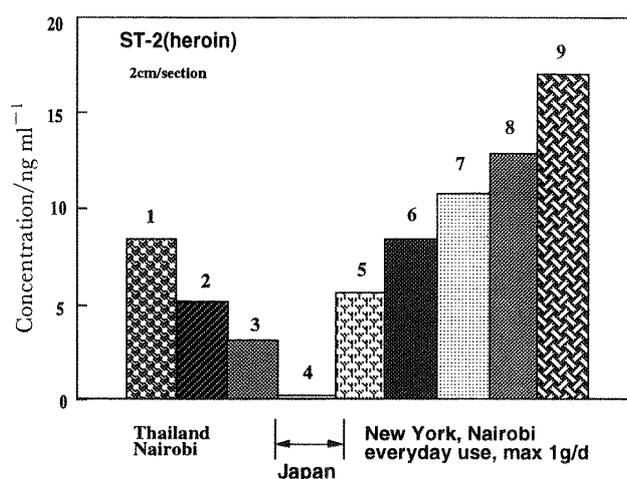


Fig. 6 Distribution of 6 MAM concentrations along hair shaft (2 cm/section) of a heroin abuser (ST-2) and his drug histories

かなりの割合が長期間加水分解を受けることなしに, 安定に保たれていたことを表している。

3・7 ヘロイン使用証明の毛髪試料の有用性—尿, 血液試料との比較

前述のように, ヘロイン投与のラットモデル実験において, 血しょう試料では 6 MAM の検出可能な時間は投与後 2~3 時間まで, 尿試料では最長 48 時間までであった。一方, 6 MAM は一度毛髪に入ると, かなり安定化され, 1 年以上経過しても検出可能であることを確かめた。それ以外の毛髪の長所としては, 試料採取が容易で, 面前でできるため確実であり, 貯蔵が長期間可能で, スペースを取らないし, 親化合物又はそれに準じた化合物の検出に有利である。欠点としては, 検査が他の試料に比べ煩雑であり, 時間を要することである。しかし, 血液や尿試料では得られない薬物使用情報が蓄積されており, ヘロイン使用証明ではその有用性が明確に示された。

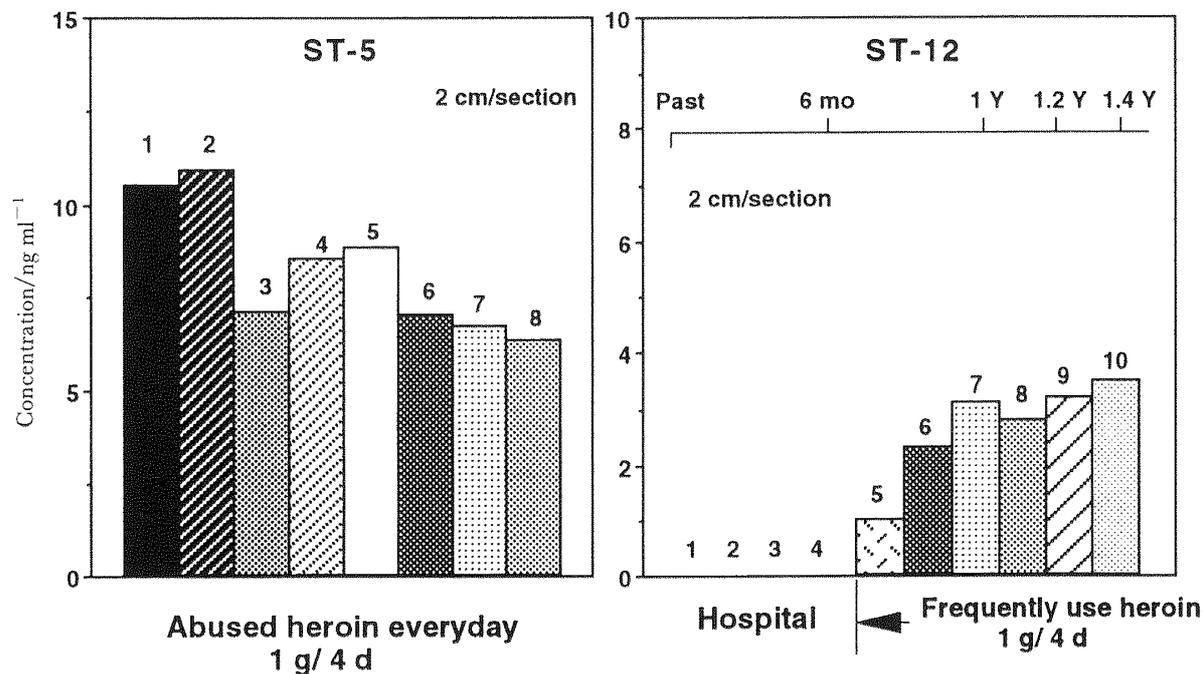


Fig. 7 Distributions of 6 MAM concentrations along hair shaft (2 cm/section) of heroin abusers (ST-5, ST-12) and their drug histories

毛髪中の 6 MAM とモルヒネの正確な濃度を知るためには加水分解を起こさず、効率よい抽出能力を持つ溶媒を選ばねばならない。毛髪からの 6 MAM の抽出の検討の結果、メタノール-TFA (9:1) が良好な抽出効率、妨害物質の抽出抑制、6 MAM の分解が極小で操作が簡便である点で優れた抽出溶媒であることが明らかになった。

効果的抽出法に加え、重水素標識の 6 MAM とモルヒネを内標準に用いて、GC/MS の選択イオンモニタリング法を採用することにより、毛髪中の 6 MAM とモルヒネの同時高感度、高精度分析法が開発できた。本法を用いて、血中から毛髪への移行性を血しょう AUC に対する毛髪中薬物濃度の比で見た場合、6 MAM はモルヒネの 7 倍以上血中から毛髪へ移行しやすいことが明らかになった。更に、毛髪に入った 6 MAM は比較的安定で、1 年以上過去の部位にも容易に検出可能であることを証明した。最後に、ヘロイン使用者の毛髪を分析し、1 年以上過去にさかのぼって、使用歴と毛髪中薬物分布が良く一致していることを実証できた。

文 献

- 1) E. J. Cone: *J. Anal. Toxicol.*, **14**, 1 (1990).
- 2) E. J. Cone, P. Welch, J. M. Mithchell, B. D. Pall: *J. Anal. Toxicol.*, **15**, 1 (1991).
- 3) B. A. Goldberger, Y. H. Caplan, T. Maguire, E. J. Cone: *J. Anal. Toxicol.*, **15**, 226 (1991).
- 4) Y. Nakahara, K. Takahashi, M. Shimamine, A. Saitoh: *Arch. Toxicol.*, **66**, 669 (1992).
- 5) Y. Nakahara, R. Kikura, K. Takahashi: *J. Chromatogr. B*, **657**, 93 (1994).
- 6) Y. Nakahara, K. Takahashi, R. Kikura: *Biol. Pharm. Bull.*, **18**, 1223 (1995).
- 7) J. Fehn, G. Megges: *J. Anal. Toxicol.*, **9**, 134 (1985).
- 8) M. Marigo, F. Tagliaro, C. Poiesi, S. Lafisca, C. Neri: *J. Anal. Toxicol.*, **10**, 158 (1986).
- 9) M. R. Moeller, C. Mueller: *Forensic Sci. Intern.*, **70**, 125 (1995).
- 10) R. Kikura, Y. Nakahara: *Biol. Pharm. Bull.*, **18**, 267 (1995).
- 11) Y. Nakahara, R. Kikura: *Arch. Toxicol.*, **66**, 446 (1992).



Determination of heroin metabolites in hair specimens by GC/MS method and its application to confirmation of heroin use. Yuji NAKAHARA, Kazunori TAKAHASHI and Ruri KIKURA (National Institute of Health Sciences, Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158)

The incorporation of heroin (diacetylmorphine) metabolites, 6-acetylmorphine (6 MAM) and morphine, from plasma into hair using rats administered heroin was investigated by the GC/MS-selected ion monitoring method. Following intraperitoneal administration of heroin to DA rats (5 weeks old) once a day for successive days at doses of 2.5 and 5.0 mg/kg, 6 MAM and morphine in plasma, urine and hair were determined as TMS derivatives by GC/MS. Their incorporation rates defined as the respective ratios of the concentrations in back hair newly grown for 28 days ($[H]$) to the area under the plasma concentration *vs.* time curves (AUC_S) were compared. The incorporation rate ($[H]/AUC$) of 6 MAM into hair was 7 times higher than that of morphine, suggesting that 6 MAM is more highly incorporated and accumulated in hair. In addition, advantages of hair samples as specimens for confirmation of heroin use were compared with plasma and urine samples. The life times of 6 MAM in the rat plasma and urine specimens were less than 3 and 48 hours following heroin administration, respectively. On the contrary 6 MAM could be detected in rat hair 28 days after the first administration. Moreover, 6 MAM was detected in a corresponding section of 1.4 years ago in heroin abuser's hair. This fact suggests that 6 MAM is more stable in hair than in urine and plasma. It also shows that hair is a very advantageous specimen, having a higher content of 6 MAM and allowing for retrospective detection in terms of years. Finally, the drug histories of three heroin abusers were correlated to the distribution of 6 MAM along the hair shaft.

(Received May 18, 1995)

(Accepted June 30, 1995)

Keywords

diacetylmorphine (heroin); hair analysis; GC/MS; drug abuse.