



# HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Development of Analytical Technology to Improve the Ability to Detect and Identify Toxic Substances Used in Terrorism and Crime [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	山口, 晃巨
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(工学)
Dissertation Number	甲第14920号
Issue Date	2022-03-24
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/85291">https://hdl.handle.net/2115/85291</a>
Rights(URL)	<a href="https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/">https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/</a>
Type	doctoral thesis
File Information	YAMAGUCHI_Akinori_abstract.pdf, 論文内容の要旨



## 学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（工学） 氏名 山口 晃巨

### 学 位 論 文 題 名

#### Development of Analytical Technology to Improve the Ability to Detect and Identify Toxic Substances Used in Terrorism and Crime

(テロや犯罪で使用される有毒物質の検知・同定能力向上のための分析技術の開発)

代表的な毒物であるシアンや神経剤は、その高い毒性や入手性だけでなく、化学的性質に由来する分析難易度から、多くの分析化学者の興味を引き付け、センサーや分析法の報告がなされてきた。しかし、それらの危険性が十分に認識されている今日においても、特に簡便性や検出感度の点で実用的な分析法に乏しいのが現状である。すなわち、シアンについては、簡易検査、ラボ分析ともに、マトリックスを問わず偽陽性を与えずに中毒濃度まで定量可能な分析法は存在していない。さらに、従来行われている微量拡散という前処理は偽陽性を誘発しやすく、また数時間を要するため、迅速・簡便なスクリーニングにおいて障害となっている。神経剤については、まず未知残留物質の同定という初動における決定的な役割を担う簡易検査において、近年複数回の使用が確認されている不揮発性の神経剤（VX、Novichok）の検知が困難であるという致命的な問題があった。また、生体試料などからの緻密な化合物同定作業においても、従来の神経剤分解物についてすら汎用的かつ十分な検出感度を有する分析法は確立されておらず、Novichok においては全く手つかずの状態であった。

本学位論文における一連の研究は、今回著者により新たに見出された DMTMM を用いる新規反応あるいはデバイス設計によりこれらの欠落を克服することで、警察活動を一層盤石なものとし市民の安心、安全に資することを目指したものである。本学位論文は全5章から構成されている。各章の概要を以下に示す。

第1章では、序論であり、本研究の背景および目的について述べた。

第2章では、縮合剤である 4-(4,6-dimethoxy-1,3,5-triazin-2-yl)-4-methylmorpholinium chloride (DMTMM) を転用した血液中シアン化物イオンの誘導体化 GC/MS スクリーニング法の開発について述べた。DMTMM は水を反応溶媒としてカルボン酸の縮合反応を行うことができる試薬であるが、シアン化物イオンと共存した場合には付加・脱離機構で反応しシアン化物イオンのジメトキシトリアジニル (DMT) 誘導体を与えた。この反応は、トリクロロ酢酸で処理した全血試料および塩基性水溶液試料で進行した。日内および日間の繰り返し分析

(0.05, 0.1, 0.25, 1, 5  $\mu\text{g/mL}$ ,  $n = 5$ ) を行った結果、精度と確度は、定量下限値 (LLOQ) でいずれも 20% 以内、その他の濃度で 15% 以内であった。水溶液および血液の LLOQ はそれぞれ 0.05 および 0.1  $\mu\text{g/mL}$  であり、シアン化物中毒の検出に適していた。水溶液と血液の検出限界 (S/N 比 $\geq$ 3) は、それぞれ 0.01 と 0.05  $\mu\text{g/mL}$  であった。他の 13 種の陰イオンによる干渉をテストしたところ、血液の酸処理によってシアン化合物が得られることが知られているチオシアン酸塩、亜硝酸塩、硝酸塩の場合でも、偽陽性反応は得られなかった。

第 3 章では、DMTMM と液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析計 (LC-MS/MS) を用いた Novichok A シリーズ分解物およびアルキルメチルホスホン酸 (RMPA、従来の神経剤加水分解物) の分析法の開発およびそれに伴う新規神経剤 Novichok 類の加水分解物の合成法の確立について述べた。Novichok A シリーズ分解物の DMT 活性化エステルは安定しており、LC-MS/MS で容易に検出できることがわかった。この誘導体化反応を利用して、尿中の Novichok 加水分解物 (0.40–4.0  $\text{ng/mL}$ ) の初の分析法を実現した。RMPA の検出限界 (0.1–0.4  $\text{ng/mL}$ ) は、ペンタフルオロベンジル化や直接 LC-MS/MS を用いた過去の報告と同程度であった。特に、生体試料中の Novichok A シリーズ分解物の高感度かつ実用的な分析は、2021 年以前に報告された他の方法では極めて困難だった。本法は、市販の安価な試薬、汎用の逆相カラム、一般的な LC-MS 装置を用いて実施することができ、リソースの限られた多くの研究室で容易に実施することができる。

第 4 章では、神経剤現場検知用の紙製マイクロ流体デバイスの開発について述べた。このデバイスでは、サンプリング操作のみで試薬が自動的に流路内に運ばれ、酵素阻害反応、酵素基質反応、呈色反応までを行うことができる。この装置はサンプル 2.5  $\mu\text{L}$  の滴下で 0.1  $\mu\text{g/mL}$  の神経剤 VX を検出することができ、神経剤選択性があり、温度、pH、有機溶媒などさまざまな阻害要因に対する頑強性も有していた。また、希釈、拭き取りによるサンプリングも適用できることを確認した。製造方法も簡単で、コストもせいぜい数十円程度だった。

第 5 章では、本論文の総括および本研究の将来性について述べた。DMTMM を用いるシアン化物イオンおよび神経剤分解物の誘導体化分析法の有用性から、誘導体化試薬としての DMTMM およびトリアジン骨格の発展可能性が期待できる。従来の分析法においては、その化合物ごとの物性やマトリックスに対応する個別の抽出法や試薬を用いる必要が多かったが、今回見出した DMTMM の反応性の高さやマトリックスに対する頑強性を利用することで、より多くの毒性化合物を同一の前処理方法・同一の汎用 LC-MS 装置でスクリーニングすることができる方法を開発できると考えている。現場検知用紙製マイクロ流体分析デバイスについては、今回は神経剤の検出機能のみであったが、チャプター 1 で紹介した他の化学剤の検出機能をもつ流路に分岐させることで、現在は高価現場検知機器でのみ可能なあらゆる化学剤の一斉分析用に利用できるチップの開発が可能であると考えている。このような手法の開発により、警察活動やホームランドセキュリティに貢献するだけでなく、我が国の安全・安心な社会の構築に大きく貢献することが期待される。