

GC/MS 를 이용한 모발 중 MDMA(Methylenedioxyamphetamine) 의 분석

박미정[#] · 김은미 · 임미애 · 정희선

국립과학수사연구소 법과학부

(Received April 21, 2003; Revised June 19, 2003)

Analysis of 3,4-Methylenedioxyamphetamine (MDMA) in Human Hair by Gas Chromatography/Mass Spectrometry

Meejung Park[#], Eunmi Kim, Miae Lim and Heesun Chung

National Institute of Scientific Investigation, Dept of Forensic Science, 331-1 Shinwol 7-dong, Yangchon-ku, Seoul 158-097, Korea

Abstract — An analysis method for the determination of methylenedioxyamphetamine (MDMA) and its metabolite methylenedioxyamphetamine (MDA) in hair by gas chromatography/mass spectrometry was proposed. For MDMA and MDA analysis, hair samples were incubated in MeOH (1% HCl), derivatized with trifluoroacetic anhydride and assayed by GC/MS. Hair of 18 subjects for drug abuse was analyzed for MDMA and MDA. Calibration curves for the determination of MDMA and MDA in hair showed a good linearity at a concentration range from 0.5 ng to 250 ng ($r^2=0.999$) The extraction recovery was determined from hair blanks at 50, 100 ng. The percentage of recovery were found to be 96.08~103.48 with CV value of 1.62~3.89. The concentrations of MDMA and MDA ranged 1.14~38.06 ng/mg and 0.07~3.91 ng/mg, respectively in 18 hair samples from MDMA abusers. The ratio of MDMA to MDA ranged from 9.65~28.46 in all specimen. Hair analysis for MDMA is a useful method for identification of long-term drug abuser.

Keywords □ methylenedioxyamphetamine (MDMA), methylenedioxyamphetamine (MDA), hair analysis, GC/MS

메틸렌디옥시메스암페타민(methylenedioxyamphetamine, 이하 MDMA)은 대표적인 암페타민류 각성제로서 중추신경흥분 작용이 있으며, 'Ecstasy', 'XTC', 'Adam', 'Paradise', '도리도리' 등으로 불리우며 젊은 층 사이에서 환각의 목적으로 그 사용이 급격히 증가하고 있는 약물이다. MDMA는 designers drug 또는 party drug의 대표적인 약물로 남용 시 환각, 친밀감, 감상적인 느낌 등이 일어난다고 한다.¹⁾ MDMA는 정제의 형태이기 때문에 복용이 간편하며 다른 암페타민 동족체와 마찬가지로 반복하여 사용 시에는 내성이 증가하여 한번에 5~10정을 복용해야만 그 효과가 나타난다고 알려져 있다.²⁾ MDMA의 육체적인 금단 증상은 거의 알려져 있지 않으나 만성 남용자의 경우 메스암페타민과 같은 정신병증을 유발한다고 알려져 있고, 장기간 복용 시에는 뇌에 손상이 일어나 기억상실증 등이 발생된다고 보고되어 있다.³⁾ MDMA의 작용기전에 대하여는 많은 연구가 진행되어 있는데 그 중 주된 작용기전은 MDMA가 뇌에서 serotonin

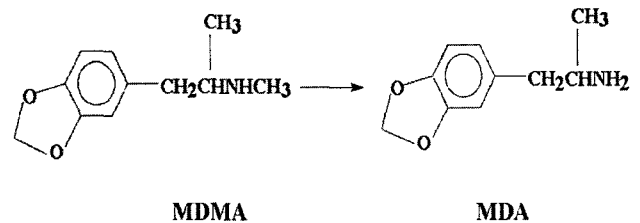


Fig. 1 - Metabolic pathway of MDMA.

을 유리시키고 또한 재흡수를 억제시킴으로서 그 약리 작용을 나타낸다는 보고가 주를 이루고 있다.³⁻⁵⁾ MDMA의 사람에서의 대사과정은 Fig. 1과 같이 N-demethylation에 의해 MDA로 변화되며, MDMA의 복용 후 효과가 나타나는 시간은 20분에서 1시간 후이고 4~6시간 동안 약효가 지속된다고 한다.⁶⁾

MDMA의 복용 여부 판정을 위한 시료로는 소변이 일반적으로 사용되고 있는데 일선에서 사용되는 예비실험인 면역분석법을 이용한 키트는 주로 메스암페타민을 대상으로 하기 때문에 MDMA에 대한 특이성이 떨어진다. 더욱이 소변 시료는 약물 복용 후 3~5일이 경과되면 약물이 체외로 모두 배설되기 때문에 약물을 복용한 경우에도 약물이 소변에서 검출되지 않아 시료로

[#]본 고문에 관한 문의는 저자에게로
(전화) 02-2600-4935 (팩스) 02-2600-4939
(E-mail) meejung@nisi.go.kr

서 한계가 있다. 그런 반면 모발에 침투된 약물은 모발의 단백질인 케라틴에 흡착되어 모발이 성장함에 따라 같이 이동하나 모발을 자르지 않는 한 그대로 보존되어 수 개월전의 약물복용 여부도 판단할 수 있는 장점이 있다.^{7,8)} 당 연구소에서는 모발 중 메스암페타민의 검출시험법⁹⁾을 확립하고 이를 감정에 응용하여 1년 간 약 3000여건의 모발 감정을 수행하고 있다. 따라서 본 실험에서는 최근 남용이 급속하게 확산되는 MDMA에 대해서도 모발에서의 검출방법 확립이 요구되고 있어 실험을 실시하였다. 또한 본 연구에서 확립된 시험법에 따라 MDMA 남용자의 모발 18종에 대해 시험을 실시하여 MDMA 및 그 대사체인 MDA를 검출하였기에 보고하고자 한다.

실험방법

시약 및 재료

Methylenedioxyamphetamine(MDMA), methylenedioxyamphetamine(MDA), methylenedioxyamphetamine-D₅(MDMA-D₅) 및 methylenedioxyamphetamine-D₅(MDA-D₅)는 Radian사, trifluoroacetic anhydride(TFAA)는 Sigma사, 기타 시약들은 특급시약을 사용하였으며, solid phase extraction(SPE) column, fritted reservoir는 Worldwide monitoring사 제품을 사용하였다.

표준용액의 조제

MDMA, MDA, MDMA-D₅ 및 MDA-D₅는 1 mg/ml 메탄올 용액을 표준원액으로 하였으며 이를 희석한 1 µg/ml 메탄올 용액을 표준액으로 사용하였고, 사용하지 않을 때에는 -30°C에서 보관하였다.

시료의 채취

경찰 및 검찰에서 의뢰된 MDMA 투약 의심자의 모발 18종을 시험에 사용하였다.

시료의 세척 및 추출

약 10 mg의 모발을 정취하여 4 ml fritted reservoir에 넣고 모발 표면에 묻은 약물 및 기타 오염물질을 제거하기 위해 증류수로 2회, 메탄올로 1회 세척한 후 stopcock로 막은 후, 메탄올을 모발이 잠길 정도로 넣고 외과용 가위를 넣어 50초 이내에 빠르게 세절한 후 vacuum manifold에 장착한 후 즉시 여과시켰다. 마그네틱바를 각각의 reservoir에 넣고 메탄올 1 ml로 2회 세척한 후 reservoir를 stopcock와 분리한 뒤, 고무마개로 밀 부분을 막은 후 추출용매인 1% 염산성 메탄올 1 ml를 넣고 내부표준물질인 MDMA-D₅ 및 MDA-D₅ 250 ng을 넣은 후 마개로 막고 이를 magnetic stirrer에서 18시간 동안 교반하면서 추출하였다. 추

출액을 시험관에 모으고 메탄올 1 ml로 2회 세척하였는 데 이 때 그 세척액도 합하였으며 48°C에서 질소 농축시킨 후 pH 6의 인산염 완충액 3 ml를 넣어 중성용액으로 만들어 이를 고상추출용 시료로 사용하였다.

시료의 정제 및 유도체화 과정

고상 추출용 컬럼은 메탄올 3 ml, 증류수 3 ml 및 pH 6의 인산염 완충액으로 활성화시킨 후 상압에서 시료를 충전하였다. 증류수 3 ml와 1 N-초산 수용액으로 산성 추출 물질을 제거한 후 3 ml 메탄올을 넣고 감압하면서 5분 정도 건조시켰다. 용출액으로(dichloromethane : isopropyl alcohol : ammonia water = 78 : 20 : 2)의 혼합 용액을 용시조제하여 사용하였다. 용출된 액에 아민류의 휘발을 막기 위해 0.1% HCl성 메탄올 1~2적을 가하고 45°C 이하에서 질소농축하였다. 농축한 잔사에 ethyl acetate와 trifluoroacetic anhydride(TFAA)를 각각 30 µl씩 가하고 65°C에서 15분간 반응시킨 후 상온에서 충분히 식혔다. 그 액을 질소 농축하여 유도체화 시약을 제거하였으며 잔사에 에틸아세테이트 40 µl를 넣어 재현탁시킨 후 이를 가스크로마토그래피/질량분석법을 위한 시료로 사용하였다.

기기 및 분석조건

가스크로마토그래피/질량분석기(GC/MS)는 HP 5973 MSD를 사용하였고 컬럼은 HP-5 MS(30 m×0.25 mm I. D.)를 사용하였으며, 오븐 온도는 100°C에서 1분간 머무르고 270°C까지 분당 20°C씩 올린 후 10분간 유지하였다. Injector의 온도는 250°C이었고 시료 1 µl를 주입하였다. Transfer line의 온도는 270°C이었고 이온화에너지는 70 eV이었다. 검출기는 SIM(selective ion monitoring) mode를 이용하였으며 선택한 이온으로는 MDA-TFA 및 MDA-D₅-TFA는 135, 162, 136, 167 이온을 선택하였고, MDMA-TFA 및 MDMA-D₅-TFA의 경우는 154, 162, 158, 167 이온을 선택하였다.

검량선의 작성

MDMA 및 MDA 표준용액을 각각 0.5, 25, 50, 100 및 250 ng이 되도록 공시료 모발에 첨가하고 여기에 내부표준물질인 MDMA-D₅ 및 MDA-D₅를 넣은 후 전술한 방법으로 추출, 정제 및 유도체화한 후 GC/MS에 주입하여 검출되는 표준물질의 피크면적을 내부표준물질에 대한 피크면적비로서 작성하였다.

실험의 유효성 확립

본 분석법의 유효성을 입증하기 위하여 회수율(recovery), 정밀도(precision) 및 정확도(accuracy)를 측정하였다. 즉, 공시료 모발에 MDMA 및 MDA를 각각 50, 100 ng씩 첨가하여 전술한

방법에 의해 추출, 정제 및 유도체화 과정을 거쳐 분석하였다. 정밀도 및 정확도는 intraassay 및 interassay를 모두 실시하였으며, 0.5, 5, 10 및 25 ng/mg의 농도가 되게 MDMA 및 MDA를 넣고 하루이 모든 시료를 본 실험법에 의하여 실험하여 intraassay를 실시하였고 하루에 한번씩 12일간 실험한 결과는 interassay를 위한 데이터로 활용하였다. 정밀도는 CV(Coefficient of Variation)로, 정확도는 목표치와 실측치와의 차이를 목표치로 나눈 값을 백분율로 나타내었다.

결과 및 고찰

모발시험에서는 여러 가지 중요한 단계를 거치게 되는데 의양성을 각기 위해서는 외면에 묻어 있는 약물의 세척이 중요한 의미를 지닌다. 본 실험에서는 Suzuki^{10,11)} 등의 방법에 의해 모발을 메탄올과 물로 수 회 세척하였고 Cone^{12,13)} 등의 방법에 따라 fritted reservoir에서 1 mm 간격으로 세절한 모발을 다시 메탄올로 2회 세척하였다. 약물을 단백질과 분리하고 추출하기 위하여 메스암페타민염의 검출방법과 같이 1% 염산성 메탄올로 18시간 교반하는 용매 추출을 실시하였다. 이 방법은 다량의 시료를 한꺼번에 처리할 수 있는 장점이 있다.

모발 중 MDMA의 추출 및 정제과정은 유⁹⁾ 등의 방법에 따라 메스암페타민의 시험 방법과 같이 시행하였으며 MDMA 및 그 대사체인 MDA를 TFA 유도체로 만들어 GC/MS로 분석하였다. 내부표준물질로는 그 동위원소 이성체인 MDMA-D₅와 MDA-D₅를 이용하였으며 본 조건에서 MDMA, MDA 및 내부표준물질이 양호하게 분리, 확인되었다. 모발에 표준액을 첨가한 시료 및 실

제의 모발시료를 추출한 결과에 대한 total ion chromatogram은 Fig. 2와 같이 잘 분리되었다. Fig. 3과 같이 MDA-TFA의 주요 이온은 135, 162, 275, 77 등이며 MDMA-TFA의 주요 이온은 154, 162, 135, 289, 110 등이므로 SIM mode에서는 MDA-TFA 및 MDA-D₅-TFA는 135, 136, 162, 167 등의 이온을, MDMA-TFA 및 MDMA-D₅-TFA는 154, 158, 162, 167 등의 이온을 선택하여 확인 및 정량을 실시하였다. MDA 및 MDMA와 이들의 내부표준물질에 대한 비율을 구하기 위하여 MDA의 경우 162 대 167 이온의 면적비를 계산하였고 MDMA의 경우 154 대 158의 면적비를 사용하였다. 모발 중 MDMA를 측정하기 위한 검량선 작성은 표준물질 0.5, 25, 50, 100 및 250 ng을 공시료 모발에 첨가하여 실시하였는데 MDA의 경우는 r값이 0.9998이고 MDMA의 경우 r값이 0.9994로 양호한 직선성을 보였다(Fig. 4). 검출한계를 측정하기 위하여 MDA 및 MDMA 각각에서 base peak의 면적비가 S/N ratio를 2로 정하였을 때 0.25 ng이었으나

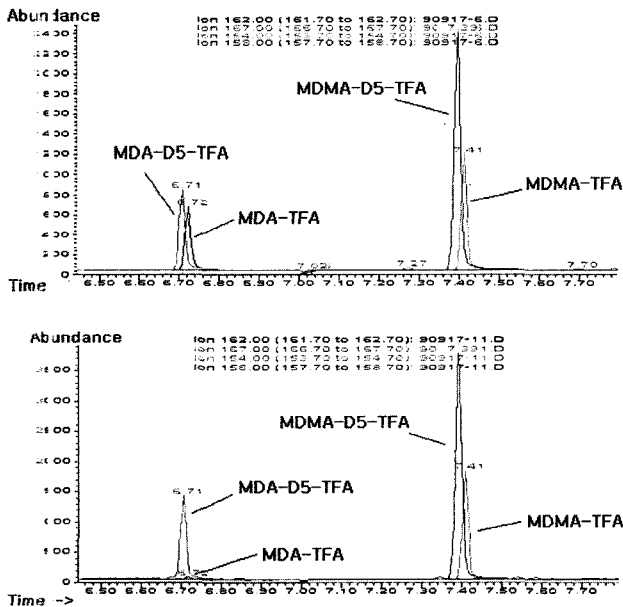


Fig. 2 - Total Ion Chromatogram of MDA-TFA, MDMA-TFA and their determined standards. (top : standard spiked hair, bottom : positive hair sample).

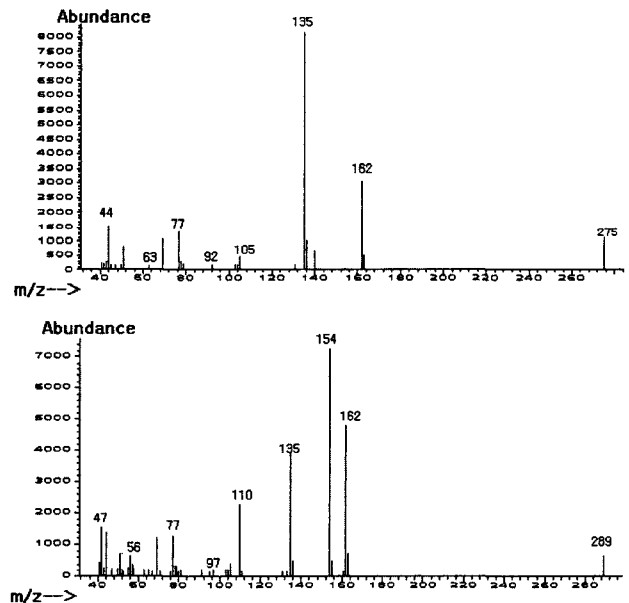


Fig. 3 - Mass spectra of MDA-TFA (top) and MDMA-TFA (bottom).

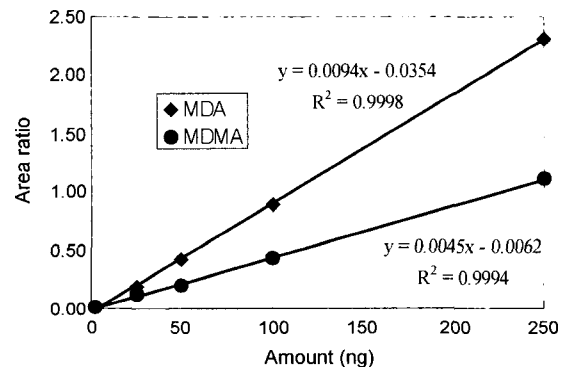


Fig. 4 - Calibration curves of MDA-TFA and MDMA-TFA.

Table I – Recoveries of MDA and MDMA added to 10 mg of human hair (n=5)

Concentration added (ng)	MDA (%)		MDMA (%)	
	Recovery (mean±S.D.)	CV	Recovery (%) (mean±S.D.)	CV
50	96.08±1.62	3.37	97.26±1.13	2.32
100	97.01±3.69	3.80	103.48±3.88	3.75

실제 모발 중의 cut-off치는 기기의 조건 등을 고려하여 0.5 ng/mg을 설정하였다. 회수율에 대한 실험은 공시료 모발에 50 ng과 100 ng의 MDA 및 MDMA를 첨가하여 실시하였는데 Table I에 서와 같이 MDA의 경우 각각의 농도에서 96.08±1.62%와 97.01±3.69%를 보였으며 MDMA의 경우 97.26±1.13%와 103.48±3.88%의 값을 나타내었다. 정밀도의 실험은 공시료 모발에 0.5, 5, 10, 25 ng/mg의 농도가 되도록 MDA 및 MDMA를 가하고 intrassay를 실시할 때 CV %가 MDA의 경우 3.20~3.80% 범위였고 MDMA의 경우 2.32~3.75% 범위로 양호하였으며, inter-assay의 경우에서도 MDA와 MDMA에서 각각 3.27~4.11%, 3.25~3.88%로 양호하였다. 정확도는 정밀도 실험에 준하여 실시하였으며 intrassay에서 MDA의 경우 3.00~4.00%이고 MDMA의 경우 2.00~3.00%이었으며 interassay의 경우 MDA와 MDMA에서 각각 3.49~4.21, 3.15~3.51%로 양호한 결과를 얻었다(Table II).

본 실험 방법에 따라 당 연구소에 의뢰되었던 MDMA 용의자의 모발을 분석한 결과 MDMA 및 MDA의 양은 Table III에서 보는 바와 같다. 즉, MDMA의 경우 1.14~38.06 ng/mg의 농도를 보였고 MDA의 경우 0.59~3.91 ng/mg의 농도를 나타내었으며 MDA에 대한 MDMA의 비율이 가장 낮은 경우는 9.65이었고 가장 높은 경우는 28.46이었다. 이를 모발에서 methamphetamine 및 amphetamine의 검출시험을 한 후 methamphetamine에 대한 amphetamine의 농도비를 구한 Suzuki¹¹⁾ 등의 4.3~29.3, Nakahara¹⁴⁾ 등의 1.3~10.1과 비교하여 볼 때 MDMA가 대사되어 MDA로 되어 모발에 축적되는 양상이 methamphetamine과 유사함을 알 수 있었다. 또한 유⁹⁾ 등의 경우도 methamphetamine의 양이 0.7~2.9 ng/mg 정도로 낮은 경우에는

Table III – Concentration of MDMA and MDA and its ratio in 18 suspected MDMA abusers

Sample No.	Concentration (ng/mg)		Ratio (MDMA/MDA)
	MDA	MDMA	
1	0.93	14.72	15.83
2	1.65	28.72	17.41
3	1.18	26.29	22.22
4	1.02	15.45	15.12
5	trace	1.14	-
6	3.91	38.06	9.73
7	trace	2.02	-
8	trace	5.00	-
9	trace	2.40	-
10	trace	1.49	-
11	0.90	25.61	28.46
12	0.59	14.07	23.85
13	trace	1.89	-
14	trace	1.97	-
15	1.30	27.53	21.18
16	1.68	26.94	16.04
17	trace	7.33	-
18	trace	3.28	9.65

amphetamine이 검출되지 않았다고 하였으나 methamphetamine의 양이 5.5 ng/mg 이상 검출되었을 경우에는 amphetamine도 검출되어 methamphetamine 및 amphetamine 모두 검출되었을 때 methamphetamine/amphetamine의 비가 4.6~38.3으로 보고하는 등 본 연구결과와 유사하였다.

결 론

모발 중 MDMA와 그 대사체인 MDA의 검출을 위하여 내부 표준물질로 MDA-D₅와 MDMA-D₅를 사용하여 TFAA로 유도체 화시켜 GC/MS에서 SIM mode로 분석하였다. 이 방법에서 MDA 및 MDMA의 검출한계는 0.25 ng/mg이었으나 cut off치는 0.5 ng/mg으로 설정하였다. 회수율은 MDA의 경우 96.08~97.01%, MDMA의 경우 97.26~103.48%이었으며, 정밀도는 2.32~4.11 CV%, 정확도는 2.00~4.21% 범위로 양호하였다. MDMA를 복용한 것으로 추정되는 약물남용자의 모발을 검사한 결과 18종의

Table II – Method validation for MDA and MDMA

Target conc. (ng/mg)	MDA		MDMA		
	Intraassay (n=5)	Interassay (n=12)	Intraassay (n=5)	Interassay (n=12)	
Precision (%) (Coefficient of Variance, CV)	0.5	3.25	3.27	2.82	3.25
	5	3.37	3.80	2.32	3.88
	10	3.80	4.11	3.75	3.70
	25	3.20	3.67	2.89	3.40
Accuracy (%) (목표치-실측치) 목표치 ×100	0.5	3.53	3.49	2.23	3.15
	5	4.00	3.80	2.00	3.51
	10	3.00	4.21	3.00	3.20
	25	3.55	3.98	2.50	3.41

모발 중 10종에서 MDMA 및 MDA가 검출되었으며 MDA에 대한 MDMA의 비율은 9.65~28.46의 범위이었다. MDMA를 복용한 후 장시간이 경과하여 뇨에서 약물이 검출되지 않는 경우, 모발이 약물복용여부를 판정할 수 있는 좋은 시료임을 알 수 있었다.

참고문헌

- 1) Cami, J., Farre, M., Mas, P. N., Roset, S., Poudevida, S., Mas, A., San, L. and de la Torre, R. : Human pharmacology of 3,4-methylenedioxymethamphetamine ("ecstasy") : psychomotor performance and subjective effects. *J. Clin. Psychopharmacol.* **20**, 455 (2000).
- 2) Ellenhorn, M. J. : *Medical Toxicology : Diagnosis and treatment of human Poisoning*, 2nd ed. Williams and Wilkins, Baltimore, MD, 346 (1997).
- 3) Stone, D. M., Stahl, D. C., Hansen, G. R. and Gibb, J. W. : The effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) and 3,4-methylenedioxyamphetamine (MDA) on monoaminergic systems in the rat brain. *Eur. J. Pharmacol.* **128**, 41 (1986).
- 4) Fattaglia, G., Yeh, S. Y. and De Souza, E. B. : MDMA-induced neurotoxicity : parameters of degeneration and recovery of brain serotonin neurons. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **29**, 269 (1988).
- 5) Ficaurte, G., De Lanney, L. E., Irwin, I. and Langston, J. W. : Toxic effects of MDMA on central serotonergic neurons in the primate : importance of route and frequency of drug administration. *Brain Res.* **446**, 165 (1988).
- 6) Baselt, R. C. and Cravey, R. H. : *Disposition of toxic drugs and chemicals in Man*, 4th ed. Chemical Toxicology Institute, California, 508 (1995).
- 7) Henderson, G. L. : Mechanism of drug incorporation into hair. *Forensic Sci. Int.* **63**, 19 (1993).
- 8) Harkey, M. R. : Anatomy and physiology of hair. *Forensic Sci. Int.* **63**, 9 (1993).
- 9) 유영찬, 정희선, 최화경 : GC/MS에 의한 한국인의 모발중 methamphetamine 검출. *약학회지* **37**, 356 (1993).
- 10) Suzuki, S., Inoue, T., Hori, H. and Inayama, S. : Analysis of Methamphetamine in Hair, Nail, Sweat and Saliva by Mass Fragmentography. *J. Anal. Toxicol.* **13**, 176 (1989).
- 11) Suzuki, S., Inoue, T., Yasuda, T., Niwaguchi, T. and Hori, H. : Analysis of Methamphetamine in Human Hair by Mass Fragmentography. *Eisei Kagaku* **30**, 23 (1984).
- 12) Cone, E. J. : Testing Human Hair for Drugs of Abuse. I. Individual Dose and Time Profiles of Morphine and Codeine in Plasma, Saliva, Urine and Beard Compared to Drug induced Effects on Pupils and Behavior. *J. Anal. Toxicol.* **14**, 1 (1990).
- 13) Cone, E. J., et al. : Testing Human Hair for Drugs of Abuse. II. Identification of unique cocaine metabolites in hair of drug abusers and evaluation of decontamination procedures. *J. Anal. Toxicol.* **15**, 250 (1991).
- 14) Nakahara, Y., Takahashi, D., Takada, Y., Kounma, K., Fukui, S. and Tokui, T. : Hair analysis for Drug Abuse, Part II. Hair Analysis for monitoring of Methamphetamine and Amphetamine in Hair by Stable Isotope Dilution Gas Chromatography/Mass Spectrometry Method. *J. Forensic Sci.* **36**, 70 (1991).