

음주운전자 275명 혈액 중 마약류 및 남용약물의 분석

최혜영 · 이주선 · 최상길 · 김은미[#] · 김재균* · 김영운* · 임미애 · 정희선

국립과학수사연구소 마약분석과, *국립과학수사연구소 화학분석과

(Received January 21, 2008; Revised March 21, 2008)

Distribution of Abused Drugs in 275 Alcohol-positive Blood Samples of Korean Driver

Hyeyoung Choi, Juseon Lee, Sangkil Choi, Eunmi Kim[#], Jaekyun Kim*, Youngwoon Kim*,
Miae Lim and Heesun Chung

Narcotics Analysis Division, National Institute of Scientific Investigation, Seoul 158-707, Korea

**Chemical Analysis Division, National Institute of Scientific Investigation, Seoul 158-707, Korea*

Abstract — Even though driving under the influence of drug (DUID) is a worldwide problem, we, Korea has no regulation system yet except for alcohol, and there are little cases reported related to DUID. In order to investigate the type of abused drugs for drivers in Korea, we tried to analyze controlled and non-controlled drugs in alcohol-positive blood samples. 275 whole bloods, which were positive for alcohol on the roadside test, were collected from the police for two months (Nov.~Dec. 2006). The analytical strategy was constituted of three steps: First, alcohol in blood samples were confirmed and quantified by gas chromatography. Second, controlled drugs were screened by Evidence_{investigator}TM (Randox, U.K.) as preliminary test. It was based on immunoassay by biochip array analyzer. Nine groups of drug abuse were screened: amphetamines, methamphetamines, cannabis, cocaine, opiates, barbiturates, methadone, benzodiazepines I (oxazepam) & II (lorazepam). Finally, confirmation of these drugs was performed by GC-MS. Blood samples were extracted by solid-phase extraction by RapidTraceTM (Zymark, U.S.A.). After trimethylsilyl (TMS) derivatization, eluates were analyzed to GC-MS. Total 49 drugs were investigated in this study including controlled drugs, antidepressants, 1st generation antihistamines, dextromethorphan, nalbuphine, ketamine, etc. For rapid detection, we developed the automated identification system. It was made up a new software, "DrugMan", modified Chemstation data analysis menu and newly developed macro modules. A series of peak selection, identification and reporting of the results were performed automatically by this system. Concentrations of alcohol in 275 blood samples were ranged from 0.011 to 0.249% (average, 0.119%). Among 149 blood samples, just six samples (4.0%) were showed positive results to the immunoassay: one methamphetamine and five benzodiazepines group I. By GC-MS confirmation, only benzodiazepines were detected and methamphetamine was not detected from immunoassay positive blood sample. Besides these drugs, 5 chlorpheniramines, dextromethorphan, diazepam, doxylamine, ibuprofen, lidocaine and topiramate were also detected in whole bloods by GC-MS. Conclusively, the frequency of drug abuse for Korean drivers was relatively low. There was none case which illegal drug was detected. However these results were limited to alcohol positive blood samples, so it is necessary to analyze more samples including alcohol negative blood.

Keywords □ driving under the influence of drugs (DUID), solid phase extraction (SPE), GC-MS

경찰청 통계자료¹⁾에 의하면 2005년도 우리나라의 교통사고 발생건수는 약 21만 4천 건이었다고 하며, 이로 인한 부상자는 약 34만 명, 사망자 수는 6천여 명 정도라고 한다. 이중 음주운전으로 인한 교통사고는 약 2만 6천 건, 부상자수는 4만 8천여 명, 사망자 수는 9백여 명으로서 전체 교통사고 사망자의 15%에 해

당 된다. 정부는 음주상태에서의 자동차 운전을 도로교통법 제 44조에서 금하고 있으며, 술에 취한 상태의 기준은 대통령령으로 상세하게 지정하고 있다. 하지만, 음주운전만큼이나 위험한 교통사고를 유발할 수 있는 요인인 약물운전에 대해서는 동법 제45조에서 과로 및 질병 운전과 함께 포괄적으로 규제만 하고 있을 뿐 처벌규정 등에 대하여는 아직 구체적으로 언급되고 있지 않는 실정이다.

현재 우리나라 마약류 사범은 2002년까지는 매년 1만 명을 상회하다가 2003년도에 7,546명으로 감소, 2006년에는 7,709명으

[#]본 논문에 관한 문의는 저자에게로

(전화) 02-2600-4931 (팩스) 02-2600-4939

(E-mail) emkim@nisi.go.kr

로 다시 증가하는 추세이며,²⁾ 당 연구소에 마약관련 복용자의 소변 의뢰건수가 연평균 3,500건을 선회하는 통계를 미루어 볼 때 약물의 영향 하에서 운전 및 약물복용과 관련된 교통사고 건수도 상당할 것으로 추정된다. 실제로 당 연구소에 교통사고와 관련하여 운전자가 술에 취한 듯한 상태이나 음주 측정 시 알코올이 전혀 검출되지 않았다며 의뢰된 운전자의 소변 또는 혈액에서 마약 및 향정신성의약품이 검출되는 사례가 종종 있다. 미국의 경우 NSDUH의 2002년도 보고서에 따르면 불법약물 복용자의 31%인 천백만 명 정도가 운전 2시간 전에 약물을 복용한 경험이 있는 것으로 나타났다³⁾ 하며, 유럽 연합 성인 인구의 10%가량이 불법 또는 비규제 약물을 복용한 상태에서 운전을 하고 있는 것으로 추정된다는 보고도 있다.⁴⁾

근래 들어 유럽을 비롯한 세계의 많은 나라들은 약물복용 하 운전(Driving Under the Influence of Drug; DUID)이 지속적으로 사회문제화 되어감에 따라 약물복용 운전에 대한 세부규정을 법제화하고 있으며, 법률로 규제할 약물의 범위 선정 및 복용여부 판정에 대한 시험방법과 절차 및 약물복용과 운전능력 변화에 대한 평가를 수행하고 있다. 운전능력 손상과 관련된 약물의 선정과 관련하여 Logan과 Gullberg⁵⁾는 운전에 영향을 미치는 약물을 크게 중추신경억제제, 대마, 중추신경흥분제 및 환각제로 분류하였는데 이 중에는 메스암페타민, MDMA, 코카인, 매직 버섯매직 버섯(psylocin 및 psilocybin), mescaline, LSD, 케타민 등의 마약류 이외에도 항우울제, 수면제, 진통제, 향정신병약, 항경련제, 근이완제, 항히스타민제 등의 비규제 약물도 다수 포함하고 있다. 우리나라는 아직 약물운전에 대한 구체적인 통계자료도 보고된 바 없으며, 실제 운전자들이 남용하고 있는 약물의 종류나 현황 역시 연구된 바 없어 약물운전의 위험성에 대한 정부의 인식이 아직은 부족한 편이다.

따라서 본 연구에서는 우리나라 운전자들의 약물복용 현황을 조사하고자 다음의 실험을 시행하였다. 우선 운전능력 손상과 관련되어있는 마약류 및 비규제 약물 총 49종을 선정하여 혈액에서의 이들 약물에 대한 동시분석법을 확립하였다. 시료

로는 당 소에 알코올 분석을 위하여 의뢰되었던 음주운전자의 혈액을 사용하였으며, 먼저 에틸알코올의 함량을 측정하였다. 다음으로 면역분석법을 이용하여 마약류를 검색한 후 기체크로마토그래프-질량분석법(GC-MS)을 사용하여 마약류 및 비규제 남용약물의 확인시험을 시행하였다. 분석결과에 대한 검색은 자체 개발한 약물 자동 검색 프로그램에 의하여 수행하여 시료 중 약물 검색 및 확인, 결과지 출력 등 일련의 과정을 자동화시켰다.

실험 방법

시료

약물분석용 시료는 2006년 11월~12월에 당 연구소에 알코올 분석을 위하여 의뢰된 음주운전자들의 혈액 총 275개를 사용하였으며, 이들은 당 소 관할지역인 서울, 인천, 경기 및 제주지역 운전자 혈액이었다. 먼저 에틸알코올 함량을 측정 후 남은 시료는 마약류 분석 전까지 -20°C에서 보관하였다.

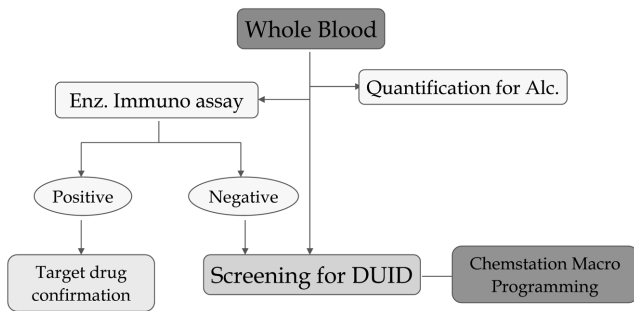
분석약물의 선정

운전과 관련하여 대상 약물을 선정 할 때 우선적으로 고려되어야 할 사항은 어떤 약물을 복용하였을 경우 그 약물이 운전자의 운전능력에 영향을 미치는지의 여부이다.⁶⁾ 그러한 약물의 개별적인 영향평가를 수행함으로써 이를 기초로 하여 적절한 수준에서 약물의 범위를 선정해야 할 것이다. 그러나 국내에서는 운전자의 운전능력에 대한 약물의 영향평가가 거의 수행되어지지 않고 있는 실정이므로 본 연구에서는 행동에 영향을 미치는 약물 관련 서적^{5,7)}을 참고하여 중추신경억제제인 항우울제 10종, 제1세대 항히스타민제 7종, 벤조디아제핀계 약물 15종⁸⁾에 7-aminoflunitrazepam 및 estazolam을 추가하여 17종, 비만치료제 4종, 필로폰 대응으로 남용되고 있는 마약인 텍스트로메토르판⁹⁾과 최근 마약으로 규제된 케타민¹⁰⁾ 등 모두 49종의 약물을 대상 약물로 결정하였다(Table I).

Table 1 - Lists of Drugs (49) for DUID in present study

Group	Drugs
Antidepressants (10)	Amitriptyline, Nortriptyline, Citalopram, Clomipramine, Chlorpromazine, Doxepine, Fluoxetine, Imipramine, Paroxetine, Sertraline
1st Generation Antihistamines (7)	Pheniramine, Chlorpheniramine, Brompheniramine, Diphenhydramine, Triprolidine, Hydroxyzine, Doxylamine
Benzodiazepines (17)	Desalkylflurazepam, Nordiazepam, Oxazepam, Diazepam, Lorazepam, Temazepam, Clonazepam, 7-Amino-clonazepam, Flunitrazepam, 7-Aminoflunitrazepam, Alprazolam, α -Hydroxyalprazolam, Triazolam, α -Hydroxytriazolam, Prazepam, Nitrazepam, Estazolam
Anoretics (4)	Phentermine, Phendimetrazine, Phenmetrazine, Fenfluramine
Etc (11)	Morphine, Codeine, 6-Monoacetylmorphine, Cocaine, Benzoyllecgonine, Dextromethorphan, Dextrorphan, Ketamine, Norketamine, Nalbuphine, Zolpidem. (Methamphetamine*)

*Methamphetamine은 면역분석법에 의한 검색에서 양성으로 반응하였을 경우에 한하여 별도의 전처리과정을 거쳐 GC-MS로 확인하였으므로 DUID 그룹에서는 제외시켰다.



Scheme 1 - Experimental flow.

분석 절차

다음의 세단계로 진행하였다. 첫째, 전체 275개 시료에 대하여 알코올 함량 실험을 기체크로마토그래프법(GC)으로 시행하였다. 둘째, 149개 시료에 대하여 면역분석법을 이용하여 마약류를 검색하였다. 마지막으로 면역분석법에서 양성으로 반응한 시료에 대하여 기체크로마토그래프-질량분석법(GC-MS)을 이용하여 마약류 최종 확인을 시행하고, 전체 275개 시료에 대하여 역시 GC-MS로 약물순전에 영향을 미치는 49종 약물류에 대한 검출 시험을 시행하였다(Scheme 1).

에틸알코올 분석

에틸알코올의 표준용액은 에틸알코올이 각각 0.02, 0.05, 0.10, 0.20, 0.30 및 0.40% w/v(in water) 함유되어 있는 Accu Standard사(USA)의 제품을 구입하여 사용하였다. 내부 표준용액은 tertiary butanol 0.05%(in H₂O)을 사용하였다. 분석기기로 7694 헤드스페이스 자동시료주입기가 장착된 Hewlett Packard사의 6890 GC를 사용하였으며, 컬럼은 0.2% Carbowax 1500, 60/80 Carbowax C를 사용하였고, 110°C(isothermal)에서 분석하였다. 검출기는 불꽃이온화검출기를 사용하였고, 주입부 온도는 210°C, 검출기 온도는 250°C로 맞추었다. 운반기체는 He를 사용하였고, 유속은 20 ml/min으로 조절하였다.

혈액 중 에틸알코올 정량은 전보¹⁾에 준하여 헤드스페이스 기체크로마토그래프법으로 하였다. 즉, 혈액 200 µl를 10 ml 바이알에 취하고, 내부표준물질 100 µl 및 NaCl 포화용액 200 µl를 가하여 65°C에서 30분간 가온한 후 자동시료주입기를 이용하여 GC에 주입하였다. 전술한 6개의 표준용액으로 검량선을 작성한 후 시료 중에 함유된 에틸알코올의 함량을 측정하였다. 함량은 검출된 에틸알코올 피크에 대한 내부표준물질 피크의 면적비로 계산하였다.

면역분석법(Immuno assay)

마약류 검색은 Evidence_{investigator}TM(Randox, U.K.)를 사용하였는데, 전체 275개 시료 중 149개의 시료를 대상으로 시행하였다. 본 분석법으로 검색한 마약류는 암페타민류 등의 모두 9종류였고, 이들의 검량선 범위 및 혈액에서의 cutoff 값은 Table II와 같았다.

시약 및 재료는 Randox사에서 제공되는 것으로서 정량용 희석제(20 mM 인산완충액, pH 7.2, bovine serum albumin, bovine β-Lactoglobulin 함유한 것), Conjugate(20 mM Tris based buffer, pH 7.0, bovine serum albumin, horseradish peroxidase-labelled drug derivatives 함유한 것), 바이오칩(고체상 판으로서 시약반응부위에 항체를 고정시킨 것), 시료 희석제(인산완충액, pH 7.2), Calibrator (9개의 농도로 조제된 Do A I Semi-Quantitative Blood assay Array kit), 기타 Signal reagent, 세척용 완충액을 사용하였다.

전혈(whole blood) 50 µl를 취하여 시료용 희석제 150 µl를 넣고 4배 희석한 후 각 well에 정량용 희석제 120 µl, calibrator/control/시료(희석한 혈액) 60 µl 및 Conjugate 120 µl를 순서대로 넣고 잘 섞어주었다. 틀에 고정시킨 후 항온교반기에 넣어 33°C에서 330 rpm으로 30분간 반응시키고, 항온교반기에서 꺼내어 well안에 있는 반응액을 버리고 세척용 완충액을 사용하여 빠르게 4회 세척하였다. 매회 세척 시 세척용 완충액이 잠겨있는 상태에서 2분간 방치하였다. 마지막 세척 후 세척용 완충액이 있

Table II - Lists of the screened controlled drugs, its calibration ranges and cutoff levels by Immuno assay (Evidence_{investigator}TM) in whole blood

마약류	기준물질	검량선 범위 (ng/ml)	cutoff ¹⁾ (ng/ml)
암페타민류	d-Amphetamine	0.00~159.00	50
메스암페타민류	d-Methamphetamine	0.00~392.00	100
대마류	THCCOOH	0.00~42.00	10
코카인류	Benzoylcegonine	0.00~248.00	50
아편류	Morphine	0.00~95.00	25
바르비탈산류	Phenobarbital	0.00~251.00	50
벤조디아제핀류 ²⁾	Oxazepam	0.00~219.00	50
벤조디아제핀류 ³⁾	Lorazepam	0.00~261.00	50
메사돈	Methadone	0.00~131.00	25

¹⁾cutoff; 면역분석법을 사용한 마약류검색에서 시료가 양성인지 음성인지를 구별하는 한계농도¹²⁾로서 cutoff 값 미만이면 음성으로 판정한다.

²⁾벤조디아제핀류 I; a broad spectrum of benzodiazepines.

³⁾벤조디아제핀류 II; lorazepam, lorazepam glucuronide, clonazepam, desalkylfunitrazepam.

는 상태에서 Evidence_{investigator}TM에 장착하여 분석하였다.

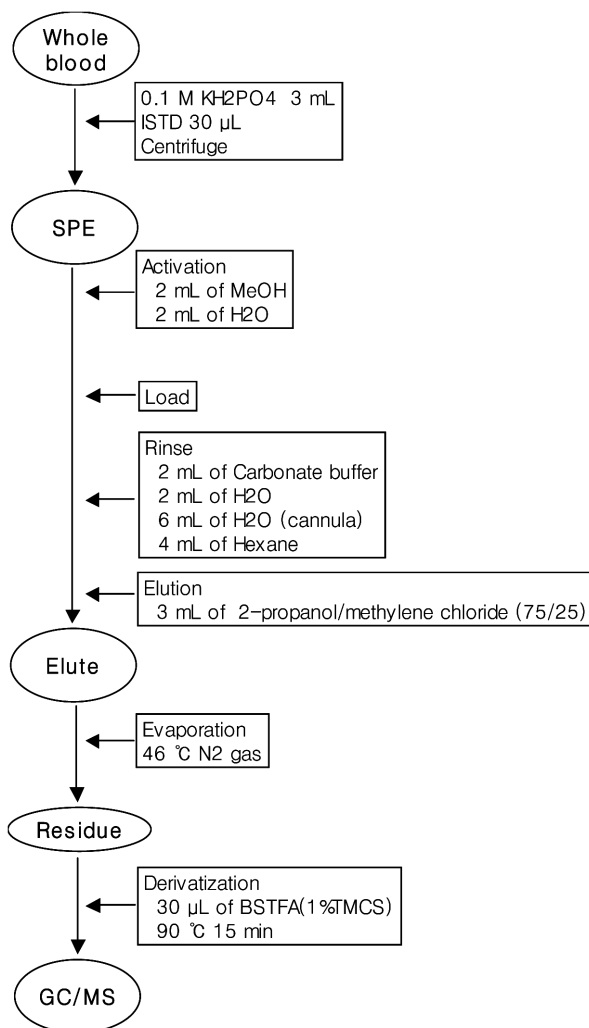
GC-MS 분석

DUID 관련 약물

시약 및 재료 - 표준물질로 사용한 desalkylflurazepam, nor-diazepam, oxazepam, diazepam, lorazepam, nitrazepam, tem-azepam, flunitrazepam, 7-aminoflunitrazepam, 7-aminoclonaze-pam, clonazepam, prazepam, alprazolam, α -hydroxyalprazolam, triazolam, α -hydroxytriazolam, estazolam, morphine, codeine, 6-monoaceylmorphine, nalbuphine, cocaine, benzoylecgonine, ketamine, norketamine은 모두 Cerillant사 제품으로서 1.0 mg/ml(in MeOH) 농도의 것을 사용하였다. Morphine, codeine, 6-monoaceylmorphine, nalbuphine, cocaine, benzoylecgonine, ketamine 및 norketamine은 메탄올로 희석하여 20 μ g/ml 농도의 표준용액을 조제하였고, 다른 약물은 10 μ g/ml 농도로 조제하였다. Zolpidem, amitriptyline, nortriptyline, clomipramine, chlorpromazine, citalopram, doxepine, fluoxetine, imipramine, paroxetine, sertraline, pheniramine, chlorpheniramine, brom-pheniramine, doxylamine, diphenhydramine, hydroxyzine, triprolidine, dextromethorphan, dextropran, phentermine, phenmetrazine, phendimetrazine 및 fenfluramine은 분말로서 Sigma사의 제품을 사용하였는데, 각각 메탄올에 녹여 1 mg/ml 농도로 조제 한 후 다시 메탄올로 희석하여 20 μ g/ml 농도의 표 준용액을 조제하여 사용하였다. 제조된 표준용액은 분석시까지 -25°C에서 보관하였다. 내부표준물질은 cocaine 중수소치환체 (cocaine-D₃, cerilliant, 100 μ g/ml in MeOH)를 메탄올로 희석하여 50 μ g/ml 농도로 조제한 것을 사용하였다. 유도체 시약은 BSTFA(N,O-Bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide)는 1% TMCS (trimethylchlorosilane)가 함유된 것을 사용하였고(Sigma, T6381), 기타 시약은 1급 또는 특급을 사용하였다.

자동고상추출장치는 Zymark 회사제품인 Rapid TraceTM을 사용하였으며, 고상추출용 컬럼은 mixed-mode type인 Drug Clean CTM(200 mg, Alltech)를 사용하였다. 2-Propanol, methylene chloride, methanol, hexane은 모두 HPLC급을 사용하였으며, 이 중 2-propanol과 methylene chloride를 75 : 25(V : V)로 혼합한 것을 유출용매로 사용하였다. 0.15 M carbonate buffer(pH 9.5, sodium carbonate 7.95 g 및 sodium bicarbonate 6.3 g을 800 ml의 증류수에 녹인 후 5 N HCl 또는 12 N NaOH를 사용하여 액성을 9.5로 맞춘 후 증류수를 넣어 전량을 1L로 만들었다) 및 0.1 M KH₂PO₄ 용액 (6.8 g의 KH₂PO₄를 증류수 500 ml에 녹인 후 액성을 4.5로 맞추었다)을 조제하여 사용하였다.

시료전처리 및 추출 - 전혈 1 ml를 시험관에 취하여 내부 표준물질인 cocaine-D₃(50 μ g/ml in MeOH) 30 μ l 및 0.1 M KH₂PO₄(pH 4.5) 용액 3 ml를 넣고 1분간 혼합하여 원심분리하



Scheme 2 - Extraction procedure for 49 drugs related to DUID in whole blood.

여(3000 rpm, 10 min) 상정액 3 ml를 시험관(borosilicate, 16×100 mm)에 옮겨 고상추출용 시료로 하였다. 고상추출은 전보의 방법⁸⁾을 일부 변경하여 적용하였다. 즉, 2.0 ml의 메탄올 및 증류수를 순서대로 컬럼을 통과시켜 활성화 시킨 후 시료를 컬럼에 적용하였다. 2.0 ml의 0.15 M carbonate buffer 및 증류수로 컬럼을 세척하고, 다시 4.0 ml의 헥산으로 세척하였다. 3 ml의 유출용매를 사용하여 유출시키고 유출액은 46°C 수욕상에서 질소 가스를 이용하여 건조시켰다. 잔사를 50 μ l 초산에칠로 녹여서 자동시료주입기용 바이알에 옮긴 후 30 μ l의 BSTFA를 넣고 90°C에서 15분간 반응시켰다. 반응액을 상온에서 식힌 후 GC-MS 분석용 시료로 하였다(Scheme 2).

분석기기 및 조건 - GC-MS는 자동시료주입기(model 7673)가 장착된 미국 Agilent사의 GC 6890N 및 MSD 5975를 사용하였고, 컬럼은 HP-5MS(0.25 mm ID, 0.25 μ m film thickness, 30 M)를 사용하였다. EI mode로 70 eV에서 이온화시켰다. 주입

기 온도는 250°C, transfer line 온도는 320°C, 오븐온도는 100°C에서 1분간 머무르고 300°C까지 분당 20°C씩 올린 후 15분간 유지하였으며 시료는 splitless mode로 2 µl 주입하였다. 질량스펙트럼은 m/z 40~580 범위에서 full scan으로 검색하여 내부표준물질과 각 약물의 검출시간 및 주요 프라그먼트 이온(fragment ion)을 확인하였다.

메스암페타민

시약 및 재료 - Methamphetamine 및 amphetamine은 Cerillant사 제품으로 1.0 mg/ml(in MeOH) 농도의 것을 메탄올로 희석하여 10 µg/ml 농도의 표준용액을 조제하였다. 내부표준물질은 methamphetamine 및 amphetamine의 중수소 치환제(methamphetamine-D₅ 및 amphetamine-D₅, cerilliant, 100 µg/ml in MeOH)를 메탄올로 희석하여 10 µg/ml 농도로 조제한 것을 사용하였다. 유도체 시약은 PFPA(Pentafluoropropionic anhydride, 99%, derivatization grade, Aldrich 394904)를 사용하였다.

자동고상추출장치, 고상추출용 컬럼, 세척 용매 및 유출용매는 전향과 동일한 것을 사용하였고, 다만 0.15 M carbonate buffer 대신에 0.1 N NaOH를 사용하였다.

시료전처리 및 추출 - 전혈 1 ml를 시험관에 취하여 내부표준물질인 methamphetamine-D₅ 및 amphetamine-D₅(10 µg/ml in MeOH) 50 µl 및 0.1 M KH₂PO₄(pH 4.5) 용액 3 ml를 넣고 1분간 혼합하여 원심분리하여(3000 rpm, 10 min) 상정액 3 ml를 시험관에 옮겨 고상추출용 시료로 하였다. 고상추출은 전향과 동일하게 메탄올 및 증류수로 컬럼을 활성화 시킨 후 0.1 N NaOH 및 증류수로 컬럼을 세척하고, 다시 4.0 ml의 헥산으로 세척하였다. 유출용매도 전향과 동일한 것을 사용하여 건조시킨 후 잔사에 30 µl 초산에칠 및 30 µl의 PFPA를 넣고 65°C에서 15분간 반응시켰다. 반응액을 상온에서 식힌 후 다시 증발 농축한 후 잔사에 50 µl 초산에칠을 넣고 녹인 것을 GC-MS 분석용 시료로 하였다.

기기 및 분석조건 - 오븐온도는 100°C에서 1분간 머무르고 160°C까지 분당 15°C씩 올린 후 3분간 머무르고 다시 280°C까지 분당 30°C씩 올린 후 10분간 유지하였으며 시료는 splitless mode로 1 µl 주입하였고 기타 사항은 전향과 동일하였다.

약물 자동 검색 프로그램

DrugMan - Visual Basic을 기반으로 개발한 일종의 데이터베이스 프로그램으로, 파라미터로서 49종 약물의 이름, GC-MS 분석에 따른 표준 유지시간(standard retention time, SRT), 내부표준물질에 대한 상대유지시간(reference retention time, RRT), RT 보정치(margin), minimum area 및 프라그먼트 이온을 관리하도록 설계하였다. 약물마다 입력된 RT 보정치 및 minimum area 값에 따라 자동으로 RRT를 계산하여 약물 이름 또는 RT 별로 분류되도록 하였다. Table III은 파라미터의 하나인 각 약물

Table III - The standard retention time and selected three major mass fragment ions of drugs

Drug name	Standard retention time (min)	mass fragment ions (m/z)		
		Q ₁	Q ₂	Q ₃
Cocaine-D ₃ *	10.01	185	306	275
6-Acetylmorphine-TMS	11.60	399	340	287
7-Aminoclonazepam-diTMS	11.93	429	394	414
7-Aminoflunitrazepam-TMS	12.21	355	327	326
Alprazolam	14.00	279	308	204
Amitriptyline	9.97	58	202	215
Benzoylcgonine-TMS	10.29	82	240	361
Brompheniramine	9.54	247	249	58
Chlorpheniramine	9.04	203	205	167
Chlorpromazine	11.33	58	318	272
Citalopram	10.86	58	238	324
Clomipramine	10.92	268	58	314
Clonazepam-TMS	12.03	387	352	306
Codeine-TMS	11.09	371	178	196
Desalkylflurazepam-TMS	10.24	359	360	341
Dextromethorphan	9.73	271	214	150
Dextrorphan-TMS	9.96	329	272	150
Diazepam	11.09	256	283	221
Diphenhydramine	8.31	58	73	165
Doxepine	10.13	58	165	178
Doxylamine	8.58	58	71	167
Estazolam	13.61	259	294	239
Fenfluramine	4.30	72	159	216
Flunitrazepam	11.89	312	285	286
Fluoxetine	8.22	44	104	309
Hydroxalprazolam-TMS	14.49	381	383	396
Hydroxytriazolam-TMS	15.65	415	417	430
Hydroxyzine-TMS	13.66	201	203	165
Imipramine	10.10	234	235	193
Ketamine	8.31	180	182	209
Lorazepam-diTMS	11.16	429	431	347
Morphine-diTMS	11.29	429	236	196
Nalbuphine-diTMS	13.65	446	447	501
Nalbuphine-triTMS	13.79	518	428	519
Nitrazepam-TMS	11.41	352	353	306
Nordiazepam-TMS	10.30	341	342	327
Norketamine-TMS	8.60	238	225	73
Nortriptyline	10.06	44	202	215
Oxazepam-diTMS	10.68	429	430	313
Paroxetine	11.66	44	192	329
Phendimetrazine	5.93	85	57	191
Pheniramine	8.03	169	168	58
Phenmetrazine	5.81	71	105	177
Phentermine	3.82	58	91	134
Prazepam	12.06	269	295	324
Sertraline-TMS	11.44	274	276	73
Temazepam-TMS	11.71	343	257	283
Triazolam	14.86	313	238	342
Triprolidine	10.24	208	209	278
Zolpidem	12.92	235	236	307

*, internal standard.

의 SRT 및 주요 프라그먼트 이온을 나타낸 것이고, Fig. 1은 DrugMan을 이용하여 약물의 파라미터를 입력시킨 것이다.

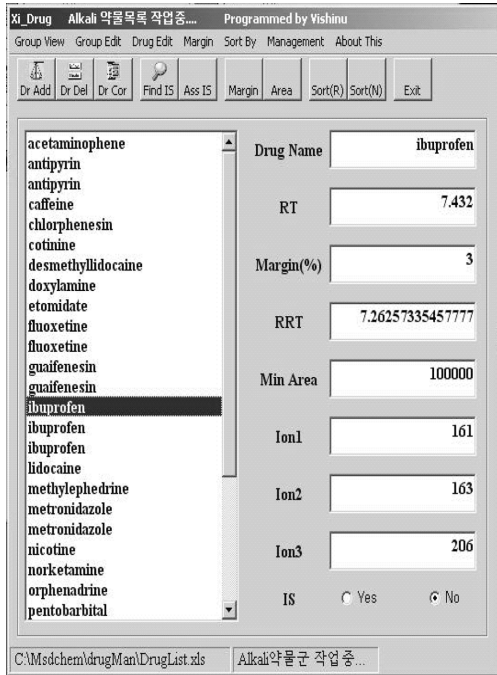


Fig. 1 - "DrugMan" (parameters were registered on the file using Visual Basic).

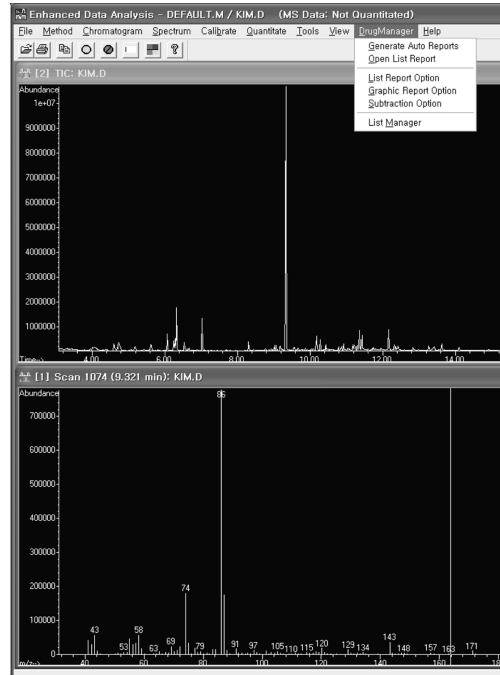


Fig. 2 - Modified Chemstation menu ("DrugMan" was inserted in the original Chemstation Data Analysis menu).

Modified Chemstation menu - Agilent사에서 제공한 Chemstation Data analysis 메뉴에 앞서 개발한 DrugMan을 삽입시켜 수정된 Chemstation 메뉴를 작성하였다. DrugMan과

Chemstation 메뉴는 text file을 통하여 연계하도록 하여 상호 정보 공유가 가능하도록 하였고, DrugMan에 등록되어있는 각종 데이터베이스를 사용하여 Chemstation 메뉴에서 피크 선별 및

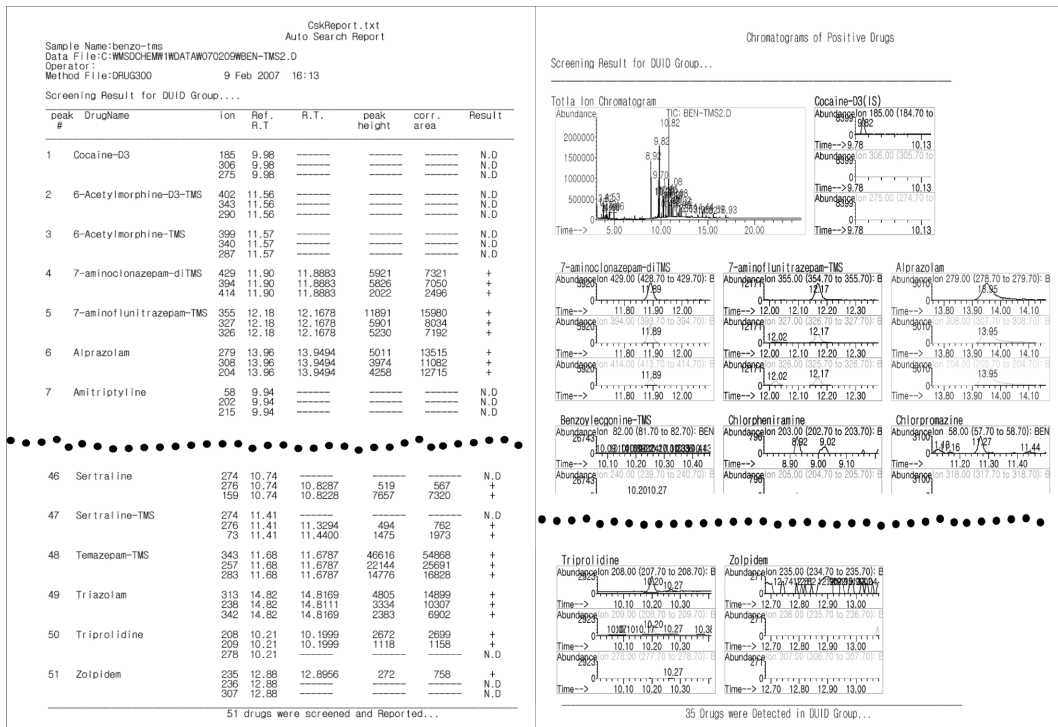


Fig. 3 - Auto search report (type I-left & II-right).

data processing이 이루어지며, RTE 방식으로 피크 면적 계산이 끝나면 이들 피크들은 개발된 매크로모듈로 연결되어 결과지를 출력하도록 하였다(Fig. 2).

자동검색 보고서(Auto search report) - 분석 결과지는 2종류(type I & II)로 나누어서 작성되도록 하였는데, type I은 약물별 선정 이온 및 이온 피크별 유지시간, 피크 높이, 면적 및 유사도를 목록으로 표시하는 결과지로 49종의 약물에 대한 분석 결과를 포함하는 반면, type II에서는 분석 시료의 크로마토그램(Total ion chromatogram: TIC)과 함께 실제 검출된 약물의 선별이온 크로마토그램(Extract ion chromatogram: EIC)을 보여주도록 설계하였다(Fig. 3).

결과 및 고찰

혈액 중 에틸알코올 함량 분석

275명 운전자의 혈액에서 에틸알코올의 함량을 분석한 결과를 Fig. 4에 나타내었다. 에틸알코올의 함량은 0.011%에서부터 0.249% 범위이었으며, 평균 함량은 0.119%이었다. 농도 구간별 분포도를 살펴보았을 때 법적인 규제를 받지 않는 0.05% 미만 이 11명이었으며, 빈도수가 높은 농도 구간은 0.05~0.075%(55명), 0.076~0.101%(51명), 0.128~0.153%(47명)순으로 나타났다. 또한 면허 취소가 되는 농도인 0.10% 이상인 경우도 158명이나 되어 검사 대상 운전자 혈액의 57.5%나 차지하였다(Fig. 4). 분석 시료는 전술하였듯이 2006년 11~12월 사이에 서울·인천·경기 및 제주 지역 운전자의 혈액만을 대상으로 하였기 때문에 본 실험 결과만으로 우리나라 운전자의 음주 경향을 파악하기는 어렵지만, 연말·연시 음주 문화가 우리사회에 뿌리 깊게 박혀 있음을 입증할 수 있는 자료라고 생각된다.

면역분석법에 의한 마약류 검색결과 및 GC-MS에 의한 확인

149개의 혈액 시료를 대상으로 면역분석법을 이용하여 9종의

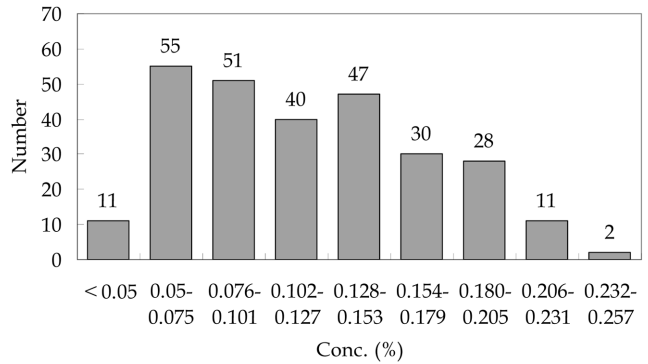


Fig. 4 - Distribution of alcohol concentration in 275 Korean driver blood samples.

마약류 함유여부를 검색한 결과, 단지 6개의 시료에서 마약류 양성 반응을 나타내어 약 4.0%의 양성비율을 보였다. 이들 마약류는 메스암페타민류 1개 및 벤조디아제핀류(I) 5개였다(Table IV).

Table IV에서 '+' 및 '-'는 해당 마약류의 양성 및 음성을 의미하고, +, - 옆의 숫자는 표준액의 농도범위를 적용하여 계산하였을 때의 실제 농도(ng/ml)를 나타낸다. 괄호 안의 숫자는 해당 마약류의 cutoff 값 또는 표준용액의 최대 정량농도를 의미하는데, 즉, 시료 84178, 84285, 84573 및 84787에서 벤조디아제핀류(I)에 대한 분석결과가 '+(>219)'이었는데 이는 시료 중 벤조디아제핀류(I)가 양성이고, 표준액 농도범위(0~219 ng/ml)를 초과하여 존재하므로 실험값은 측정할 수 없다는 뜻이다. 시료 85063에서 벤조디아제핀류(I)의 결과값 '+139(>55)'는 측정결과 벤조디아제핀류가 139 ng/ml이 검출되었으며, 이 농도는 벤조디아제핀류의 cutoff 값인 50 ng/ml(실측치 55 ng/ml)보다 높으므로 역시 양성(+)으로 판정한다는 의미이다. 시료 84768의 경우 메스암페타민의 결과값 '+(>392)'은 시료 중 메스암페타민이 양성이고, 역시 표준액 농도범위(0~392 ng/ml)를 초과하여 메스암페타민이 함유되어 있다는 뜻으로 해석되나 대사체로서 반드시 함

Table IV - Lists of positive samples by Immuno assay

Sample ID	MAMP	BARB	BENZ1	BENZ2	MDONE	OPIAT	BZG	THC	AMPH
84178	-(<0)	-(<0)	+(>219)	-(<0)	-(<0)	-(<0)	-(<0)	-(<0)	-(<0)
84285	-(<0)	-(<0)	+(>219)	-5.29(<65)	-(<0)	-(<0)	-(<0)	-(<0)	-(<0)
84573	-(<0)	-(<0)	+(>219)	-0.84(<65)	-(<0)	-(<0)	-(<0)	-(<0)	-(<0)
84768	+(>392)	-(<0)	-(<0)	-(<0)	-0.1(<33)	-0.01(<24)	-(<0)	-(<0)	-(<0)
84787	-(<0)	-(<0)	+(>219)	-(<0)	-(<0)	-(<0)	-(<0)	-(<0)	-(<0)
85063	-52(<98)	-(<0)	+139(>55)	-(<0)	-0.58(<33)	-2.06(<24)	-(<0)	-(<0)	-2.4(<40)

*단위: ng/ml
 *MAMP: methamphetamine, BARB: barbiturates, BENZ1: benzodiazepines I, BENZ2: benzodiazepines II, MDONE: methadone, OPIAT: opiates, BZG: benzoylecgonine, THC: cannabinoids, AMPH: amphetamine
 *+(>219); 시료 중 벤조디아제핀류(I) 양성(+)으로 표준액 농도범위(0~219 ng/ml)를 초과하므로 실험값은 측정할 수 없음.
 *+(>392); 시료 중 메스암페타민 양성(+)으로 표준액 농도범위(0~392 ng/ml)를 초과하므로 실험값은 측정할 수 없음.
 *+139(>55); 시료 중 벤조디아제핀류(I)의 실험값은 139 ng/ml으로서 cutoff 값(55 ng/ml) 이상이므로 양성(+)임.
 *-(<0); 시료 중 해당 마약류가 음성임.
 *-52(<98); 시료 중 메스암페타민의 실험값은 52 ng/ml으로서 cutoff 값(98 ng/ml) 미만이므로 음성(-)임.

Table V – Comparisons of Immuno assay and GC/MS results

Drugs	Sample ID	IA (ng/ml)		Confirmation by GC/MS	Alc. Conc. (%)
		Results	Calibration range (cut-off)		
Methamphetamine	84768	+ (>392)	0.00~392.00 (100)	(-)	0.180
	84178	+ (>219)		DZ	0.236
Benzodiazepines I	84285	+ (>219)		DZ, NDZ, TZ	0.095
	84573	+ (>219)	0.00~219.00 (50)	DZ, NDZ	0.073
	84787	+ (>219)		DZ, NDZ, TZ	0.216
	85063	139.45		(-)	0.162

IA: Immuno Assay, DZ: Diazepam, NDZ: Nordiazepam, TZ: Temazepam

게 검출되어야 할 암페타민은 음성 즉, '(<0)'으로서 상충되는 결과를 보였다. 한편 시료 85063은 메스암페타민 및 암페타민이 각각 52 및 2.4 ng/ml 검출되었으나 두 약물 모두 cutoff 값인 100 및 50 ng/ml(실측치 98 및 40 ng/ml) 미만이었으므로 음성으로 판정하였음을 알 수 있었다(Table IV).

계속하여 시료 84178, 84285, 84573, 84787 및 85063에 대하여 GC-MS를 사용하여 벤조디아제핀류 약물의 최종 확인시험을 시행하였더니 4개의 시료(84178, 84285, 84573 및 84787)에서 디아제팜, 노르디아제팜 또는 테마제팜이 검출되어 면역분석법의 결과와 서로 일치하였으나, 시료 85063에서는 벤조디아제핀류가 검출되지 않았다. 또한 시료 84768에 대하여 GC-MS를 사용하여 메스암페타민 확인시험을 시행한 결과 메스암페타민 및 암페타민이 모두 검출되지 않았다. 따라서 시료 85063 및 84768은 각각 벤조디아제핀류 및 메스암페타민 음성 시료로서 면역분석법 및 GC-MS의 결과가 서로 일치하지 않았으므로 의양성(false positive) 시료인 것으로 판단하였다(Table V).

GC-MS에 의한 기타 약물의 확인

275개 시료에 대하여 기타 약물의 함유여부를 GC-MS를 이용하여 분석한 결과, Table VI에서와 같이 5개 시료에서 클로르페니라민이 검출되었고, 텍스트로메토르판, 디아제팜, 독실아민, 이부프로펜, 리도카인 및 토피라메이트가 각각 1개씩 검출되었다. 이 가운데 클로르페니라민, 텍스트로메토르판, 디아제팜 및 독실아민은 약물 자동 검색 프로그램에 등록되어 있는 약물이었으며

Table VI – Detection of other drugs among 275 whole bloods by GC-MS

Drugs	Detection cases
Chlorpheniramine	5
Dextromethorphan*	1
Diazepam*	1
Doxylamine	1
Ibuprofen	1
Lidocaine	1
Topiramate	1

*Controlled drug

로(Table I 참조) 본 프로그램을 사용하여 확인이 가능하였고, 이부프로펜(소염진통제), 리도카인(국소마취제) 및 토피라메이트(항경련제)는 Agilent사에서 제공하는 GC-MS용 library 검색을 통하여 확인하였다. Table V 및 VI의 결과를 종합하였을 때 전체 275개 혈액 중 벤조디아제핀류 5개, 텍스트로메토르판이 1개, 클로르페니라민 등 일반 약물이 9개 혈액에서 검출되어(총 15개) 약물의 검출 빈도는 전체 혈액 중 5.45%를 차지하였다.

최근 약물복용 하 운전(Driving Under the Influence of Drug; DUID)은 미국뿐만 아니라 유럽 연합국들 사이에서 종래의 음주 운전보다 더욱 심각한 사회문제로 인식되어 관심이 증가하고 있으며, 이와 관련된 연구 자료도 다수 보고되어 있다. Wylie *et al.*¹³⁾은 영국에 거주하는 운전자 1,396명의 타액을 무작위로 채취하여 마약 성분을 분석한 결과, 235명의 운전자에게서 약물이 검출되어 16.8%의 양성비율을 보였으며, 그중 엑스터시(MDMA)가 64건으로 가장 많이 검출되었고, 이어서 대마가 51건 검출되었다고 하였다. Drummer *et al.*¹⁴⁾은 호주 빅토리아주에 거주하는 운전자 13,176명을 대상으로 타액을 채취하여 1년 동안의 약물 복용 현황을 조사한 결과 128건(1.0%)에서 알코올이 검출되었고, 313건에서 마약이 검출되었는데, 메스암페타민이 269건(2.1%), MDMA가 170건(1.3%), 대마가 87건(0.66%)으로 약물복용 하 운전의 비율이 상당히 높았음을 보고하였다. 2001년~2004년까지 스웨덴 운전자의 혈액 총 22,777건에서 약물 복용 현황을 조사한 Holmgren *et al.*¹⁵⁾의 연구결과에 의하면 암페타민 타입의 중추신경흥분제가 검출 약물의 55~60%를 차지하여 가장 높은 빈도를 보였으며, 이들과 벤조디아제핀류 약물 또는 대마를 함께 사용하는 이른바 poly-drug 복용 빈도도 각각 8~10 및 8~11%로 높게 나타났다고 하였다. 우리나라의 경우는 아직 약물운전에 대한 구체적인 통계자료도 보고된 바 없으며, 실제 운전자들이 남용하고 있는 약물의 종류나 현황 역시 연구된 바 없어 논단하기는 어려우나 1998년도에 교통사고와 관련하여 당 연구소에 의뢰된 운전자의 소변에서 약물분석 결과, 22개의 소변 시료에서 대마 36%, 메스암페타민 27%, 텍스트로메토르판 18%, 날부핀 9%, 카리소프로돌 및 이미프라민이 각각 5% 검출되었다는 보고¹⁶⁾를 미루어볼 때 우리나라의 약물복용 운전은 이미 오

래전부터 있었을 것으로 추정된다.

분석약물의 선정과 관련하여 본 연구에서는 49종의 약물을 분석대상으로 선정하였는데(Table I), 앞서 언급한 Logan과 Gullberg의 자료⁵⁾와 전술한 연구결과 등을 종합할 때 이번 분석대상에서 누락된 대마 및 MDMA를 포함하여 중추신경억제제인 gamma-hydroxybutyric acid(GHB), 카리소프로돌, 트라마돌 등의 약물도 향후 분석대상에 추가하여야 할 것으로 판단되었다.

분석절차에서 면역시험법과 관련하여 149개 혈액에 대하여 Evidence_{investigator}TM을 사용하여 마약류를 검색하였다. 본 장비는 다수의 단백질 마커를 내장한 바이오칩을 사용하는 바이오칩 배열기술(biochip array technology)를 응용하여 제작된 것으로 반응원리는 바이오칩 표면에 결합된 항원 또는 항체의 반응도를 화학발광(chemiluminescence)시켜 그 발광도(light emission)를 charge-coupled 장치가 부착된 카메라로 촬영하고, 영상화(imaging)시켜 이미지의 정도에 따라 마약류의 존재 여부를 판단하는 것으로 최근 약물 검사 이외에 병원 등에서 임상적으로 환자의 질병 진단에도 사용되고 있다.¹⁷⁾ 다수의 마커를 내장한 바이오칩을 이용하므로 한번에 여러 종류의 마약류를 검색할 수 있는 장점이 있으나, 바이오칩이 고가이므로 분석비용이 많이 소요되는 단점이 있다. 본 연구에서도 검사 비용을 고려하여 275개의 시료 모두를 적용하지 못하고 149개의 시료만을 대상으로 분석을 시행하였다.

한편 약물자동 검색 프로그램과 관련하여 Nishioka *et al.*¹⁸⁾은 35종의 벤조디아제핀계 약물 및 이들 대사체 29종에 대하여 GC-MS 분석 후 자동으로 검색하는 시스템을 개발하였는데 즉, 확립된 분석조건에서 각 약물의 검출시간의 보정값(margin)을 지정하여 주고, 약물마다 주요 프라그먼트 이온 2~3개 및 표준 질량스펙트럼을 등록시켜 결과지에 해당 약물의 이온크로마토그램뿐만 아니라 질량스펙트럼이 함께 보여주도록 설계하였다. 본 연구에서도 자체 개발한 약물검색 프로그램을 사용하여 49종 약물을 단시간에 손쉽게 확인할 수 있어 편리하였다. 앞으로 더 많은 분석약물이 프로그램에 추가되어야 하며, 추가약물에 대한 보정값의 검토와 함께 대상 약물에 대한 질량스펙트럼 삽입 등 더욱 연구가 필요할 것으로 사료된다.

전통적으로 마약 복용 검사를 위한 시료로서 가장 널리 사용되어 온 것은 소변이나, 최근에는 모발, 타액 및 땀과 같은 대체 시료의 개발이 활발하게 이루어지고 있다. 일반적으로 소변에서 약물이 검출되는 기간(window of drug detection)은 소변채취 지점으로부터 3~5일 이전인 반면, 모발의 경우는 길이에 따라 다르겠지만 수주~수개월에 이르는 긴 약물 검출 기간을 가지므로 소변시료를 보완하는 용도로 많이 이용되고 있다. 한편 타액은 약물 검출 기간이 혈액과 유사하게 24시간 이내로서 소변보다 짧지만, 상처를 주지 않고 채취가 가능하다는 점에서 혈액보다 편리하며, 소변 채취 시 종종 문제가 되는 시료 대치 또는 회석

의 위험성을 배제할 수 있는 장점이 있어 교통사고와 같은 사건 발생시 수 시간 이내의 약물 투약 여부를 확인하는데 매우 유용하게 사용되고 있다.^{19,20)}

본 연구에서는 우리나라 운전자의 약물복용 하 운전 현황을 살펴보고자 우선 알코올 양성 운전자의 혈액에서 약물을 분석하였다. 분석결과 275명의 혈액 중 약물 검출 건수는 15건으로 분석 혈액의 5.45%를 차지하였으나, 메스암페타민이나 대마 등의 불법 마약류는 전혀 검출되지 않아 우리나라 운전자들의 약물 남용은 비교적 낮은 것으로 확인되었다. 하지만 본 결과가 알코올 양성 혈액에만 국한된 것이므로 앞으로 알코올 음성 혈액도 분석하여 다양한 실험결과를 확보하여야 할 필요가 있다. 또한 향후 도로상 운전자의 마약 복용 여부를 검사하는 시료로서 타액을 이용할 수 있도록 타액에서의 약물 검출법을 확립하는 연구가 시급하게 이루어져야 할 것이다.

결 론

약물운전에 영향을 미칠 수 있는 마약류 및 비규제 약물 총 49종을 선정하고, 혈액에서의 이들 약물에 대한 동시분석법을 확립하여 우리나라 운전자들의 약물 복용 현황을 조사한 결과 다음의 결론을 얻었다.

1. 음주 운전자 275개 혈액 시료에서 알코올의 함량은 0.011~0.249%(평균, 0.119 %)범위이었다.
2. 면역분석법에서 양성반응을 보인 6개 시료(벤스암페타민 1, 벤조디아제핀 5)에 대하여 GC-MS 분석을 실시한 결과 4개의 시료에서 벤조디아제핀류가 검출되고 나머지 2개의 시료는 약물이 검출되지 않아 의양성 시료로 판단하였다.
3. 약물 분석결과 벤조디아제핀류 5개, 텍스트로메도르판 1개, 클로르페니라민 등 일반 약물이 9개 시료에서 검출되어(총 15개) 전체 275개 혈액 중 약물의 검출은 5.45%를 차지하였다.
4. 음주운전자 275명의 혈액에서 불법 약물은 전혀 검출되지 않아 우리나라 운전자들의 약물 남용은 비교적 낮은 것으로 확인되었다. 하지만 본 결과는 알코올 양성 혈액에만 국한된 것이므로 향후 알코올 음성 혈액도 분석하여 다양한 실험결과를 확보하여야 할 필요가 있다.

참고문헌

- 1) 사이버경찰청 통계자료, <http://www.npa.go.kr/>
- 2) 2006 마약류범죄백서, 대검찰청, p. 103 (2006).
- 3) The NSDUH Report, National Survey on Drug Use and Health (2003).
- 4) de Gier, J. J. : Drugs other than alcohol and driving in the European Union IPH 95-54, April (1995).
- 5) Logan, B. K. and Gullberg, R. G. : Chapter 3. Alcohol, Drugs

- and Driving, Clarke's Analysis of Drugs and Poisons in pharmaceuticals, body fluids and postmortem material, 3rd edi., by Moffat AC, Osselton MD, Widdop A, Pharmaceutical pp. 53-67 (2004).
- 6) 정희선, 김남현 : 약물운전 규제방안에 관한 연구, 치안정책연구소 연구보고서 (2005).
 - 7) Baselt, R. C. : Drug Effects on Psychomotor Performance, Biomedical Publications (2001).
 - 8) 김은미, 이주선, 최혜영, 임미애, 정희선 : 고상추출법 및 NCI-GC-MS를 이용한 소변 중 15종 벤조디아제핀계 약물 동시분석, 한국법과학회지, article in press (2007).
 - 9) Kim, E. M., Lee, J. S., Park, M. J., Choi, S. K., Lim, M. A. and Chung, H. S. : Standardization of method for the analysis of dextromethorphan in urine. *Forensic Sci. Int.* **161**, 198 (2006).
 - 10) 김은미, 이주선, 최상길, 임미애, 정희선 : 고상추출법 및 PCI-GC-MS를 이용한 소변 중 케타민 분석. 한국법과학회지 **7**, 35 (2006).
 - 11) 김영운, 김재균, 양자열, 박세연, 김은호, 양경무 : 사후 뇌 조직과 혈액에서의 에틸알코올 농도의 상호관계. 국립과학수사연구소 년보 **39**, 335 (2007).
 - 12) 정희선 : 생체시료에서 마약류의 검사, 신일상사 (2000).
 - 13) Wylie, F. M., Torrance, H., Seymour, A., Buttress, S., Oliver, J. S. : Drugs in oral fluid Part II. Investigation of drugs in drivers. *Forensic Sci. Int.* **150**, 199 (2005).
 - 14) Drummer, O. H., Gerostamoulos, D., Chu, M., Swann, P., Boorman, M. and Cairns, I. : Drugs in oral fluid in randomly selected drivers. *Forensic Sci. Int.* **170**, 105 (2007).
 - 15) Holmgren, A., Holmgren, P., Kugelberg, F. C., Jones, A. W. and Ahlner, J. : Predominance of illicit drugs and poly-drug use among drug-impaired drivers in sweden. *Traffic. Inj. Prev.* **8**, 361 (2007).
 - 16) 최화경, 진원택, 양원경, 한은영, 김춘삼, 정희선, 유영찬 : 흰쥐에서 카리스프로돌의 체내동태. 국립과학수사연구소년보, **31**, 585 (1999).
 - 17) Molloy, R. M., Mc Connoll, R. I., Lamont, J. V. and FitzGerald, S. P. : Automation of biochip array technology for quality results (Review). *Clin. Chem. Lab. Med.* **43**, 1303 (2005).
 - 18) Nishioka, H., Nishikawa, M. and Tsuchihashi, H. : Development of drug identification system for benzodiazepines and their metabolites using GC-MS. *Jpn. J. Forensic. Sic. Tech.* **11**, 53 (2006).
 - 19) Bush, D. M. : The U.S. mandatory guidelines for federal workplace drug testing programs: current status and future considerations. *Forensic Sci. Int.* article in press (2007).
 - 20) Huestis, M. A. and Cone, E. J. : Methamphetamine disposition in oral fluid, plasma, and urine. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **1098**, 104 (2007).