

論文内容要旨(乙)

High Resolution and High Precision Analysis of Barbiturates and Metabolite in Human Body Fluids Using a Monolithic Spin Tip and UPLC-Q-ToF-MS

(新しいモノリス型スピッチップを用いた UPLC-Q-ToF-MS によるヒト体液中バルビツール酸系薬物の高分解能・高感度分析)

The Showa University Journal of Medical Sciences, 2018. 掲載予定

医学部法医学教室 庄司幸子

【目的】バルビツール酸系薬物は、鎮静、静脈麻酔、抗てんかんなどの向精神治療薬として臨床領域で幅広く使われている。しかし、これらの薬毒物による中毒例は数多く報告されている。また、医療現場における誤投薬事故なども頻発しており、昨今深刻な社会問題となっている。このような社会背景をふまえ、法医学並びに救急医学の領域では、バルビツール酸系薬物を人体試料から迅速かつ確実に同定・定量ならびに薬物血中濃度モニタリング (therapeutic drug monitoring: TDM) することは、臨床および法医学領域において極めて重要である。本研究では、ヒト体液中バルビツール酸系薬物について、新開発したモノリス型 SPE スピッチップによる微量抽出と UPLC-Q-ToF-MS 法を組み合わせた簡便、高感度かつ高精度な分析法の開発を行った。

【方法】本分析システムには Acquity UPLC および Q-ToF-MS 装置 (Waters) を用いた。試料の調製としては、ヒト血漿 20 μ l または尿 100 μ l に 5 種類の薬物および内部標準物質を添加した後、1 M 塩酸 10 μ l を混和し、最後に超純水で全量を 200 μ l とした。モノリス型 SPE スピッチップには、メタノール、蒸留水 (スピッチップの前処理)、体液試料 (試料負荷)、

蒸留水（チップの洗浄）の順序で各溶液をロードし、各ステップは 1000 g で 15 秒の遠心操作を行った。最後にメタノール 50 μ l による遠心溶出を行い、その溶出液 5- μ l を UPLC-Q-ToF-MS 装置に直接注入した。分析カラムには Waters 社製 Acquity UPLC BEH C₁₈（長さ 50 mm、内径 2.1 mm、粒径 1.7 μ m）を用い、移動相はアセトニトリルをベースにした 10 mM 酢酸アンモニウム溶液のリニアグラジエント法を使用した。

【結果】 負イオンエレクトロスプレーイオン化（ESI）法を用いた Q-ToF 測定により、5 種類のバルビツール酸系薬物は、モノリス型 SPE スピンチップによって 3 分以内に固相抽出操作が完了し、4 分以内に感度良く検出された。回収率は 90-97% であった。内部標準法を用いて作成した検量線は約 5-500 ng/20 μ l の範囲で良好な直線性を示した。検出限界は 1 ng/20 μ l で、精密質量精度を示す i-Fit は 0.183 以下であった。昭和大学医学部における人を対象とする研究等に関する倫理委員会の承認（No. 860）を得て、アモバルビタール 300 mg を服用したボランティアの血漿から未変化体が検出され、尿中から未変化体および代謝物であるヒドロキシアモバルビタールが検出された。これらは精密質量同位体マススペクトルによる元素組成解析が可能であった。

【考察】 本法は、新開発したモノリス型スピンチップ C₁₈ は、従来の MonoTip C18 を改良し、遠心操作による簡便かつ迅速な微量固相抽出が可能な新しい SPE チップである。UPLC-Q-ToF-MS との組み合わせは、迅速・簡便・微量分析だけでなく、精密質量同位体マススペクトルによる元素組成解析も可能なハイスループット分析解析システムとして、多くの薬物分析への応用が期待できる。臨床および法医学領域において有用であることが示唆された。