



POSITIVE-AND NEGATIVE-ION MASS SPECTROMETRY AND RAPID ISOLATION WITH SEP-PAK C18 CARTRIDGES OF TEN LOCAL ANAESTHETICS

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-27 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 妹尾, 洋 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/964

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博第 111号	学位授与年月日	平成 3年 3月26日
氏名	妹尾 洋		
論文題目	POSITIVE - AND NEGATIVE-ION MASS SPECTROMETRY AND RAPID ISOLATION WITH SEP-PAK C ₁₈ CARTRIDGES OF TEN LOCAL ANAESTHETICS (局所麻酔剤 10 種の正イオン・負イオン質量分析と Sep-Pak C ₁₈ カ ートリッジによる迅速分離法)		

医学博士 妹尾 洋

論文題目

POSITIVE-AND NEGATIVE-ION MASS SPECTROMETRY AND RAPID ISOLATION WITH SEP-PAK C₁₈ CARTRIDGES OF TEN LOCAL ANAESTHETICS

(局所麻酔剤10種の正イオン・負イオン質量分析とSep-Pak C₁₈カートリッジによる迅速分離法)

論文の内容の要旨

〔はじめに〕

局所麻酔剤は医療過誤、ショック死などで問題となる薬剤である。今回我々は、10種類の局所麻酔剤について、正イオン電子衝撃 (PIEI) 法、正イオン化学イオン化 (PICI) 法及び負イオン化学イオン化 (NICI) 法によって各々のスペクトルを測定し比較検討を行った。さらに、Sep-Pak C₁₈ カートリッジを用いた生体試料からの抽出、ガスクロマトグラフィー (GC) の条件等について検討した。

〔材料及び方法〕

使用した薬剤はテトラカイン、パラブチルアミノ安息香酸ジエチルアミノエチル、プロカイン、オキシプロカイン、アミノ安息香酸エチル、ジブカイン、プロピトカイン、リドカイン、プリバカイン及びメピバカインである。質量分析は、JMS-DX303による直接導入法を用い、加速電圧 3 kV、イオン化電流 300 μ A、セパレーター温度 280°C、イオン源温度 250°C、PIEI法ではイオン化電圧 70 eV、PICI法及びNICI法では 200 eV、化学イオン化法の反応ガスはメタンを用い、イオン化室圧力を 1 Torrとした。

生体試料からの抽出は以下のように行った。Sep-Pak C₁₈ カートリッジの前処理として 10 ml クロロフォルム/メタノール (9:1)、10 ml アセトニトリル、10 ml 蒸留水を流した。全血または脳脊髄液 1 ml に薬剤 10 μ g ずつを添加し蒸留水 9 ml を加え、Sep-Pak カートリッジに流す。蒸留水 10 ml でカートリッジを洗浄した後 4 ml のクロロフォルム/メタノール (9:1) を流し薬剤を溶出した。有機層を窒素気流化で蒸発乾固 (約 30 分) し、残渣をメタノール 0.1 ml に溶解し、その 1 μ l を GC に供した。

GC は無極性の SPB-1 ワイドボアキャピラリーカラム及び中極性の HP-17 ワイドボアキャピラリーカラムを用い昇温分析を行った。

〔結果〕

PIEI法では m/z 86 のイオンが 6 種類の薬剤で基準ピークとなり、分子イオンはほとんどのもので非常に小さいか現われなかった。PICI法では、ほとんどのもので $[M+H]^+$ が基準ピークとなった。また、 m/z 86 が PIEI法と同様に 6 種類に見られた。NICI法では、 $[M-H]^-$ が全てのもので基準ピークとなった。

GC では極性の異なる 2 種類のカラムを用いることにより、全ての薬剤は不純ピークと重ならず分離できた。回収率は全ての薬剤で 90% 以上であった。全イオン検出法による検出限界は注入量で、PIEI法ではアミノ安息香酸エチル、プロピトカイン、リドカイン、プリバカイン及びメピバカインで 5-10 ng、その他の薬剤では 50 ng、PICI法では PIEI法とほぼ同様の感度を有したが、NICI法ではさらに感度は低下した。

〔考察〕

従来の報告では、局所麻酔剤の質量分析は単一の薬剤に関するものが多く、このような系統的な研究は初めてである。法医学の領域では、薬剤の同定、スクリーニングが重要であり m/z 86 はスクリーニングの指標となりうると思われる。PICI法、NICI法による $[M+H]^+$ 、 $[M-H]^-$ は大きなイオンを示し、分子量の決定に利用できる。

Sep-Pak C₁₈ カートリッジによる局所麻酔剤の抽出は幾つかの報告があるが、溶媒としてメタノールやアセトニトリルが使われている。これらの溶媒では蒸発乾固に時間がかかり、不純ピークも多く、薬剤の回収率も余りよくないことが多い。しかし、溶媒としてクロロフォルム/メタノール (9:1) を用いたことで、上記の問題は改善された。

以上のマススペクトルデータ及び Sep-Pak C₁₈ カートリッジによる迅速分離法は法医学実用上有用であると思われる。

論文審査の結果の要旨

本論文は局所麻酔剤中、現在比較的繁用されているものを中心に10種を選び、質量分析法、およびそれへの導入にかかわる諸問題について、法医学の実地への適用を系統立てて検討したものである。成果は大別して、(1)質量分析にあたってイオン化法等の諸条件を検討したこと、(2)血液および脳脊髄液を分析に供する際の簡便な前処理法とガスクロマトグラフィー (GC) による分析条件の確立とにあると判断された。

(1) 10種類の薬剤につき正イオン電子衝撃法 (PIEI)、正イオン化学イオン化法 (PICI) および負イオン化学イオン化法 (NICI) を検討の結果、PIEIは物質同定に資する分子イオンピークを得るのに適さなかったが、PICIでほとんどのもの、またNICIではすべてにおいて基準ピークとして擬似分子イオンが得られた。一方検出感度は薬剤によりそれぞれ異なるものの、総じてPIEIがもっとも優れ、PICIでは同等もしくはやや劣り、NICIは三者のうち最も感度が低かった。分子イオンまたは擬似分子イオンを得るには必ずしも適さなかったPIEIとPICIだが、それらでは m/z 86のフラグメントイオンが得られ、薬剤の類別には役立つことが示唆された。

(2) 生体試料分析に簡便且つ迅速な前処理法として Sep-Pak C_{18} カートリッジの使用法を検討した。申請者の前処理法の回収率は全ての薬剤で90%以上であった。さらに調製した試料につき二種類のカラムでGC分析を行った結果、ほぼ満足な分離が達成された。

以上の論文内容に関し審査員から次のような質問がなされた。

1. 質量分析時に用いた温度設定の根拠
2. NICIでは前処理操作を簡略化できる理由
3. 負イオンモードでは擬似分子イオンが大きい代わりに、フラグメントイオンがでにくい理由
4. $[M+32]^-$ イオンが生じる理由
5. 前処理に使用したカートリッジにつき他の類似製品と比較検討したか
6. GCの分離条件設定について
7. 将来特定のイオンを選択して生体試料からの分離定量を行う際どのような点に配慮すべきか
8. 直接試料導入系とGCからの導入系でフラグメントパターンを比較したか

以上の質疑に対する申請者の回答をも踏まえて論文内容を審査した結果、本論文は局所麻酔剤を対象とする質量分析法の法医学領域での適用につき、初めて系統立てた検討を加えたものとして評価されるものであり、且つ前処理法、分離に用いるべきGCカラムの選択等、改良に独自の貢献をも加えており、学位授与に値する論文であると審査委員会全員一致で判定した。

論文審査担当者	主査	教授	西村	顯治			
	副査	教授	浅野	稔	副査	教授	一瀬典夫
	副査	助教授	佐藤	一雄	副査	助教授	松島肇