

新しいHPLCカラムを用いたヒト体液中ハロペリドールとその代謝物の迅速分析

メタデータ	言語: jpn 出版者: 日本法中毒学会 公開日: 2013-08-27 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 有信, 哲哉, 服部, 秀樹, 妹尾, 洋, 石井, 晃, 熊澤, 武志, 仙石, 光彦, 鈴木, 修 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1729

新しいHPLCカラムを用いたヒト体液中ハロペリドールとその代謝物の迅速分析

愛知医大・法医 ○有信哲哉、服部秀樹、妹尾洋
名大・法医 石井晃
昭和大・法医 熊澤武志
仙石外科医院 仙石光彦
浜松医大・法医 鈴木修

RAPID ANALYSIS OF HALOPERIDOL AND ITS METABOLITES IN HUMAN BODY FLUIDS USING A NEW TYPE OF HPLC COLUMN

Tetsuya Arinobu¹, Hideki Hattori¹, Hiroshi Seno¹, Akira Ishii², Takeshi Kumazawa³, Mitsuhiko Sengoku⁴, Osamu Suzuki⁵

¹Department of Legal Medicine, Aichi Medical University School of Medicine

²Department of Legal Medicine and Bioethics, Post Graduate School of Medicine, Nagoya University

³Department of Legal Medicine, Showa University School of Medicine

⁴Sengoku Surgical Clinic

⁵Department of Legal Medicine, Hamamatsu University School of Medicine

[はじめに]

従来、生体試料中の薬毒物を同定、定量をおこなう場合には、タンパク質、核酸、多糖類等の高分子成分の除去のため、液-液抽出や固相抽出などの前処理が通常必要となる。最近、高分子成分を含む試料でも、液-液抽出や固相抽出などの前処理が不要で、生体試料の直接注入が可能な HPLC カラムの一つとして Shodex Mspak GF-310 (昭和電工製) が開発された。このカラムはポリビニルアルコール系ハードゲルから成るポリマーカラムで、分離は基本的にはサイズ分離で行われるが、わずかな分配吸着作用も持ち合わせている。タンパク質等の高分子成分は、固定相に保持されず直ちに溶出されるが、比較的 low molecular weight の成分は高極性、低極性成分ともに保持されて、相互分離が可能とされている。そのため、このカラムを用いれば、煩雑な前処理が不要となり、生体試料からの高分子成分の除去、薬物の分離をワンステップで行うことができ、分析に要するトータル時間を大幅に短縮できるものと期待される。今回我々は、ヒト体液 (血漿及び尿) 中のハロペリドールとその代謝物をこの HPLC カラムを用いて、高速液体クロマトグラフィー (LC) / 質量分析法 (MS) により同定・定量を行う方法を設定し、良好な結果を得たので報告する。

[方法]

今回対象とした薬物は、ハロペリドールとその代謝物である還元型ハロペリドールおよび4-(4-Chlorophenyl)-4-hydroxypiperidene (CPHP)である。内部標準としてクロロハロペリドールを用いた。試料として既知濃度の標準物質を添加したヒト血漿と尿 1ml に最初の移動相溶液を 3ml 加え、冷凍解凍後、遠心分離を行い、上清の 20 μ l を HPLC-MS の分析に供した。MS は日立製作所製 M-8000 イオントラップ質量分析計 (LC-3DQ-MS) を用いた。カラムは昭和電工製 Shodex Mspak GF-310 4B (50 x 4.6 mm id) を用いた。移動相は A:0.1%ギ酸含有 20mM 酢酸アンモニウム溶液、B:アセトニトリルを用い、B 0%から 80%までのグラジェント溶出を行った。流速は 0.3 ml/min とした。イオン化法はソニックスプレーイオン化 (SSI)法を用いた。

[結果と考察]

タンパク質を含めた高分子成分は 5 分以内に溶出し、内部標準を含めた 4 種類の化合物は、21 分以内にすべてが分離良く検出された。[M+H]⁺イオンにより定量を行ったところ、検量線は血漿、尿ともにハロペリドールは 10–800 ng/ml (検出限界; 5 ng/ml)、還元型ハロペリドールは 15–800 ng/ml (検出限界; 10 ng/ml)、CPHP は 400–800 ng/ml (検出限界; 300 ng/ml) の範囲で直線性を示した。ハロペリドールの中毒濃度は血中で 50 ng/ml 以上との報告があり、本法では中毒域での定量が可能である。今回設定したヒト体液中薬物の方法は、煩雑な前処理を必要とせず、試料を直接 HPLC カラムに導入でき、迅速かつ簡便にハロペリドール及びその代謝物を分離・検出することができた。本法は法中毒学の分野において極めて有効な手法になると考えられる。

[SUMMARY]

Haloperidol and its two metabolites, reduced haloperidol and 4-(4-Chlorophenyl)-4-hydroxypiperidene (CPHP), contained in human plasma and urine were analyzed by using a new type of HPLC column (MSPak GF-310) for direct injection of biological samples without complicated pretreatment, and they were determined by means of high-performance liquid chromatography (HPLC)-mass spectrometry (MS). The regression equations of haloperidol, reduced haloperidol and CPHP showed good linearity in the range of 10–800 ng/ml, 15–800 ng/ml and 400–800 ng/ml, respectively, for both plasma and urine. Their detection limits were 5 ng/ml, 10 ng/ml and 300 ng/ml, respectively, for both plasma and urine. We would conclude that the present method was sensitive enough for detection and determination of toxic level for haloperidol in blood, and this approach appears to have a high-potential method for rapid drug analysis from biological samples including biopolymer such as protein.