

全血中ブチロフェノン系薬物のLC/MS/MSによる迅速分析

著者	服部 秀樹, 有信 哲哉, 岩井 雅枝, 水谷 洋子, 益田 健史, 妹尾 洋, 熊澤 武志, 李 曉鵬, 鈴木 修
雑誌名	法中毒 = Japanese journal of forensic toxicology
巻	22
号	2
ページ	132-133
発行年	2004-04-01
URL	http://hdl.handle.net/10271/1746

全血中ブチロフェノン系薬物の LC/MS/MS による迅速分析

P-1

愛知医大 ○服部秀樹、有信哲哉、岩井雅枝、水谷洋子、益田健史、妹尾 洋
昭和医大 熊澤武志、李 曉鵬
浜松医大 鈴木 修

RAPID DETERMINATION OF BUTYROPHENONES IN HUMAN WHOLE BLOOD BY LC/MS/MS

Hideki Hattori¹, Tetsuya Arinobu¹, Masae Iwai¹, Yoko Mizutani¹, Kenji Masuda¹, Takeshi Kumazawa², Xiao-Pen Lee², Osamu Suzuki³ and Hiroshi Seno¹

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

²Department of Legal Medicine, Showa University School of Medicine

³Department of Legal Medicine, Hamamatsu University School of Medicine

[はじめに]

血液中からの薬物等の検出は法中毒に限らず極めて重要である。法中毒の分野では、死後長時間経過した死体から採取される血液は溶血している場合が多く、そのような場合にはそのまま全血として分析する必要がある。今回われわれは、溶血した血液を対象として、簡便・迅速に薬物を検出する方法についての検討を行った。検出対象薬物としては6種のブチロフェノン系薬物を用いて検討した。

[実験方法]

1) 前処理

人工的に溶血した (freezing and thawing) 血液 1 ml に 6 種のブチロフェノン系薬物 (haloperidol, moperone, spiperidol, timiperone, bromperidol, pimozide および内部標準物質として chlorohaloperidol) を添加した後、蒸留水 1 ml および 15% ギ酸溶液を 1 ml を加え、よく攪拌後、Amicon Ultra-4 (MILLIPORE) にて、4,000 rpm, 20 分間限外ろ過し、そのろ液を液体クロマトグラフィー (LC) / 質量分析計 (MS) の試料サンプルとして用いた。

2) LC/MS 分析条件

装置：液体クロマトグラフィーは HP-1100 Series、質量分析計は LCQ (Thermo Electron)

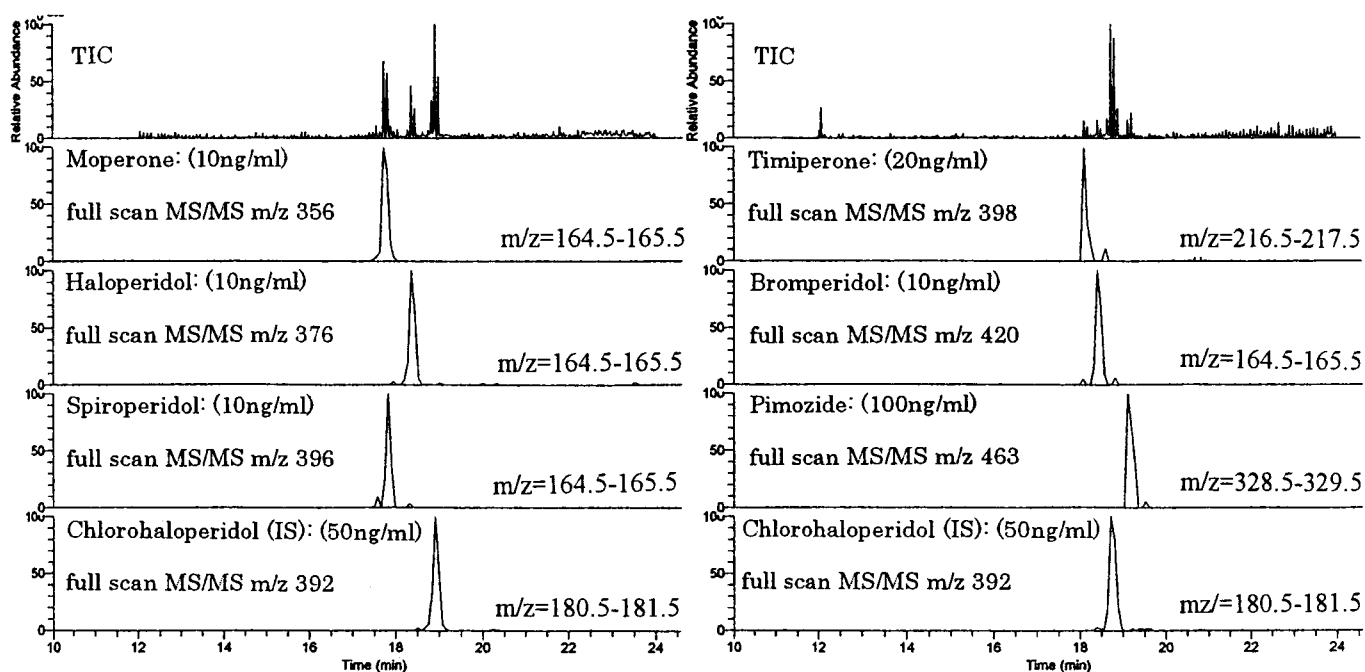
LC の条件：カラム：MSpak GF-310 4B, 50 mm x 4.6 mmID、流速：0.200 ml/min、サンプル注入量：100 μ l, グラジエント溶液：A 液 7.5 mM 酢酸アンモニウム溶液、B 液 アセトニトリル (0.05% ギ酸含有)。グラジエントは最初の 5 分間は A 液のみで不要なタンパク質等を洗い流し、20 分かけて直線的に A : B (20 : 80) とする。その後、5 分間 B 液のみでカラムを洗浄し、次に A 液にて 5 分間かけ平衡化し、次のサンプル注入を行う。

MS の条件 ; ESI mode ; source polarity: positive ; capillary temperature: 270°C ; spray needle voltage: 5.8 kV ; sheath gas pressure: 100 unit ; auxiliary gas flow: 30 unit ; MS run

time: 30 min ; MS/MS ; collision energy: 40 % ; isolation width: 1.0 amu

[結果および考察]

溶血した血液からの薬毒物の検出は、溶出したヘモグロビン等の影響で困難な場合が多く、溶血した血液をそのままカラムに注入するとカラムの性能が極めて速く劣化してしまう場合が多い。溶血した血液を蒸留水および 15%ギ酸溶液にて希釈し Amicon Ultra-4 (MILLIPORE)で 4,000 rpm、20 分間遠心するだけで血色素の除かれた無色透明の溶液が得られ試料の調製が終了する。検出限界としては上記の条件で timiperone と pimozide 以外では 5 ng/ml 以下であった。回収率は薬物により約 80% のものから 5% 程度のものでみられた。これは分離カラムの各薬物に対する保持能力、薬物と溶血液成分との結合または Amicon Ultra-4 (MILLIPORE)の membrane filter への吸着等による差異と考えられる。



溶血した血液 1 ml に薬物を添加し本法にて検出した LC/MS/MS のマスクロマトグラム

[Summary]

We established a practical and reliable method for rapid and simple analysis for butyrophenones in human hemolyzed blood by LS/MS/MS. Removal of hemoglobin and other large proteins from hemolyzed blood was simply completed using Amicon Ultra-4 centrifugal filter device (MILLIPORE). Six kinds of butyrophenones used in this research were detected with high sensitivity by LC/MS/MS. The detection limit in human hemolyzed blood was about 5 ng/ml except for timiperone and pimozide.