

# ジヒドロピリジン系カルシウム拮抗剤並びに光分解生成物の正イオン・負イオン質量分析

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: 熊澤, 武志, 妹尾, 洋, 鈴木, 修, 佐藤, 啓造 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10271/1686">http://hdl.handle.net/10271/1686</a>

## 16

## ジヒドロピリジン系カルシウム拮抗剤並びに光分解生成物の正イオン・負イオン質量分析

浜松医大 〇熊沢武志、妹尾 洋、鈴木 修  
昭和大医 佐藤啓造

POSITIVE AND NEGATIVE ION MASS SPECTROMETRY AND RAPID EXTRACTION WITH SEP-PAK C<sub>18</sub> CARTRIDGES FOR DIHYDROPYRIDINE CALCIUM ANTAGONISTS AND THEIR PHOTO-DECOMPOSITION PRODUCTS

Takeshi Kumazawa<sup>1)</sup>, Keizo Sato<sup>2)</sup>, Hiroshi Seno<sup>1)</sup> and Osamu Suzuki<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> Department of Legal Medicine, Hamamatsu University School of Medicine

<sup>2)</sup> Department of Legal Medicine, Showa University School of Medicine

## 【はじめに】

nifedipine(NF)、nisoldipine(NS)およびnitrendipine(NT)は、冠動脈拡張作用を有するカルシウム拮抗剤として広く使用されており中毒死例も報告されている。これらの薬剤は光感受性が高く、特にNFおよびNSは、nitroso体であるdehydronitrosonifedipine(DNF)およびdehydronitrosonisoldipine(DNS)にそれぞれ光分解される。今回の実験では、NF、NS、NT、DNF およびDNS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)法並びに負イオン化学イオン化(NICI)法によりマススペクトルを測定し、さらにSep-Pak C<sub>18</sub>カートリッジを用いた人体試料からの迅速な薬剤抽出操作と、キャピラリーカラムを用いたガスクロマトグラフィー(GC)検出条件の詳細を設定したので報告する。

## 【材料と方法】

標準品としてのNFとNSはBayer AG社、NTは吉富製薬社より入手した。マススペクトルの測定はJMS-AX505Hを使用し試料はGC/MSにより行った。MS条件は加速電圧3kV、イオン化電流300 $\mu$ A、セパレーター温度250 $^{\circ}$ C、イオン源温度250 $^{\circ}$ C、イオン化電圧はPIEI法で70eV、PICI並びにNICI法では200eVで、反応ガスはメタン、イオン化室圧 1 Torrである。GCにはDB-1ミドルポアキャピラリーカラム(長さ15m、内径0.32mm、膜厚0.25 $\mu$ m、J&W社製)を用い、注入口温度220 $^{\circ}$ C、ヘリウム流量3ml/min、スプリッターはサンプル注入時にスプリットレスモードで 1分後にスプリットモードに切り替えた。1mlのヒト全血、血漿および尿(5 $\mu$ gの各薬剤添加もしくは非添加)を蒸留水で希釈し、Sep-Pak C<sub>18</sub> カートリッジにゆっくり注入する。Sep-Pak C<sub>18</sub> カートリッジを20mlの蒸留水で洗浄し、最後にクロロホルム/メタノール(9:1)を流しバイアル瓶中に薬剤を溶出させる。溶出液の水層を除去し有機層を窒素ガスで蒸発乾固を行い、残渣を100 $\mu$ lのメタノールで溶解後、1 $\mu$ lをGCに供する。なお、各薬剤の光分解を防ぐため上記の全抽出操作は暗所で行った。一方、NFおよびNS各薬剤の光分解生成物を分析する場合は、実験室内照明下で同様の抽出操作を行い残渣をメタノールに溶解した後、4000ルクスの強さの蛍光灯(400-600nm)の光を照射したものをGC分析した。

## 【結果】

NF、NSおよびNTの光分解を検討するため、各薬剤標準品(5 $\mu$ g)のメタノール溶液が入ったバイアル瓶に蛍光灯の光(4000ルクス、400-600nm)を60分間照射した後GC分析を行った。NFおよびNSでは未変化体が消失しそれぞれの光分解生成物が検出された。また、この光分解生成物は実験室内の照明の光に対しては安定であった。

次に、NF、NSおよびNTの未変化体、および光分解生成物であるDNF並びにDNSについてPIEI、PICI およびNICI法の各モードで質量分析を行った。各薬剤の未変化体に関して、PIEI法では、NF、NSで  $[M-OH]^+$  イオンが出現し基準ピークとなった。NTでは  $[M\text{-nitrophenyl基}]$  によるものと思われる  $m/z$  238の基準ピークが認められた。PICI法では、全ての薬剤で  $[M+1]^+$  の擬分子イオンが出現し、NF、NTではそれぞれ  $[M\text{-methoxy基}]$  および  $[M\text{-ethoxy基}]$  によると思われる  $m/z$  315のピークが共通に基準ピークとなった。NICI法では全ての薬剤で分子イオンが強く出現し基準ピークとなった。各薬剤の光分解生成物に関しては、PIEI法で、NFおよびNSでDNFおよびDNS共に分子イオンが出現した。PICI法では、DNFおよびDNSで  $[M+1]^+$  の擬分子イオンが強く出現した。また、NICI法では、DNFおよびDNSで分子イオンの出現が認められたが、基準ピークは両方とも  $m/z$  281のピークであった。

NF、NSおよびNTの人体試料からの抽出はSep-Pak  $C_{18}$  カートリッジを用いて行い、各薬剤を未変化体として抽出した場合の回収率は全てほぼ80%以上で、GC分析による分離も良好であった。また、光分解生成物のGC分析でも良好な分離結果が得られた。MSのTIMによる検出感度はNF、NSおよびNTについてPIEIおよびNICI法で1-10 ng、PICI法で8-10 ngであった。また、DNFおよびDNSについてPIEIおよびNICI法で1-8 ng、PICI法で30-40 ngであった。

#### 【考察】

各薬剤の未変化体は分子内にnitro基を有していることからNICI法により分子イオンが基準ピークとして強く出現した。また、NFおよびNSは光分解によりnitroso体であるDNFおよびDNSに変化し、NICI法では分子イオンは検出されなかったが、 $m/z$  281のピークが共通に基準ピークとして強く出現した。このように、各薬剤の未変化体および光分解生成物においてNICI法で出現するピークは薬物スクリーニングの指標として役立つものと思われる。

NF、NSおよびNTの人体試料からの抽出に関して、これまでの報告では液-液抽出が殆どであったが、今回Sep-Pak  $C_{18}$  カートリッジによる固相抽出法を行い良好な結果を得た。さらに、これまでの報告ではNFおよびNSのGC分析は全て未変化体での検出であったが、今回NFおよびNSの検出には、Sep-Pak  $C_{18}$  カートリッジによる抽出の後、蛍光灯照射によってDNFおよびDNSへ強制的に変換してからそれぞれをGC分析する方法をとった。これは分析する際に光による影響を注意する必要がなく、簡便であり新しい抽出法として有用と思われる。

#### 【SUMMARY】

Positive-ion electron impact (PIEI), positive-ion chemical ionization (PICI) and negative-ion chemical ionization (NICI) mass spectra of nifedipine, nisoldipine, nitrendipine, dehydronitrosonifedipine and dehydronitrosonisoldipine, were presented, and each fragment mode was analyzed. In the PIEI mode, molecular cations appeared in all compounds, though they were small. In the PICI mode,  $[M+1]^+$  quasi-molecular cations together with  $[M+C_2H_5]^+$  ions and many fragment ions, appeared. In the NICI mode, the number of peaks was much less than that in both positive modes; intense molecular anions were observed for nifedipine, nisoldipine and nitrendipine, which seem very useful for sensitive and specific detection by gas chromatography (GC)/mass spectrometry (MS) in the NICI mode. Nifedipine, nisoldipine and nitrendipine, which had been added to body fluid samples, could be rapidly extracted by the use of Sep-Pak  $C_{18}$  cartridges. They could be detected both with and without photodecomposition by capillary GC with a DB-1 column, with satisfactory separation and recovery. We recommend the analytical method with photodecomposition, because no special care for light is required during the whole procedure.