

# ヒト血中局所麻酔剤のヘッドスペース固相マイクロ抽出 (SPME) とキャピラリーガスクロマトグラフィー

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, 李, 暁鵬, 佐藤, 啓造, 妹尾, 洋, 石井, 晃, 鈴木, 修 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10271/1698">http://hdl.handle.net/10271/1698</a>

# 一般講演（展示）

P-1

ヒト血中局所麻酔剤のヘッドスペース固相マイクロ抽出（SPME）とキャピラリーガスクロマトグラフィー

昭和大・医 〇熊澤武志、李 曉鵬、佐藤啓造  
浜松医大 妹尾 洋、石井 晃、鈴木 修

DETECTION OF LOCAL ANAESTHETICS IN HUMAN BLOOD USING SOLID-PHASE MICROEXTRACTION AND CAPILLARY GAS CHROMATOGRAPHY

Takeshi Kumazawa<sup>1)</sup>, Xiao-Pen Lee<sup>1)</sup>, Keizo Sato<sup>1)</sup>, Hiroshi Seno<sup>2)</sup>, Akira Ishii<sup>2)</sup> and Osamu Suzuki<sup>2)</sup>

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

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

## 【はじめに】

固相マイクロ抽出（solid-phase microextraction、SPME）は新しい抽出方法として1990年に報告されている。この方法は、メチルシリコン皮膜の針状フューズドシリカファイバーを直接溶液中あるいはヘッドスペース内に露出することで、ファイバー上に有機化合物試料を吸着させ、このファイバーをガスクロマトグラフ注入口に挿入し、加熱することにより、吸着した試料をファイバーから脱離させGC検出するものである。今回の実験では、局所麻酔剤10種類についてヒト血中からのヘッドスペースSPMEによる抽出操作と、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）の検出条件を設定したので報告する。

## 【材料と方法】

試薬：bupivacaine、prilocaineおよびmepivacaineは藤沢薬品より、p-(butylamino)benzoic acid-2-(diethylamino)ethyl esterは帝国化学より、benoxinateは参天製薬より、tetracaine、procaine、ethyl aminobenzoate、dibucaineおよびlidocaineはシグマ社より入手し、その他の試薬は特級を用いた。

GC分析：GCはHP-5890 Series II（ヒューレットパッカード社）を用い、注入口温度250℃、カラム温度100-290℃（10℃/分昇温）、ヘリウムガス流量3ml/分、水素炎イオン化法による検出を行った。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。使用したカラムは、DB-1（無極性）ミドルボアキャピラリーカラム（長さ30m、内径0.32mm、膜厚0.25μm、J&W社製）である。

SPME法：10種類の局所麻酔剤のSPMEには100μmのpolydimethylsiloxane皮膜のフュー

ーズドシリカファイバーを用い、GC注入口で250℃で1時間前処理したファイバーを用いた。1mlのヒト全血（5μgの薬剤もしくは非添加）を1mlの1M過塩素酸で除蛋白し、遠心を施した後、上清をヘッドスペース用7.5mlバイアル瓶に移した。100μlの10M NaOH溶液と硫酸アンモニウム0.5gを加え攪拌後、バイアル瓶をシリコン栓付きキャップで密栓し100℃で加温した。15分後SPMEホルダー針をバイアル瓶に挿入しファイバーをヘッドスペース内に露出しさらに40分間加温した。ファイバーをホルダー針内に納めた後ホルダーをバイアル瓶から抜き取り、直ちにGC注入口に挿入しファイバーを再び露出させ検出を開始した。

#### 【結果および考察】

10種類の局所麻酔剤のGC分析において、DB-1キャピラリーカラムを使用し20分以内で全てのピークが分離良く検出され、このGCの条件をヘッドスペースSPME-GCに適用した。除蛋白上清にNaOH溶液と硫酸アンモニウムを加えることで10種類全ての薬剤が検出された。回収率は、lidocaine、bupivacaine、prilocaineでそれぞれ11%、7.3%、6.2%で、その他の薬剤は4.6-0.4%であった。また、不純ピークの出現が少なく薬剤ピークとの重複は問題にならなかった。さらに、全血に薬剤を添加して検量線を作成したところ1-12 ng の範囲で直線性を示した。検出限界はlidocaine、bupivacaine、prilocaine、tetracaine、p-(butylamino)benzoic acid-2-(diethylamino)ethyl ester で 60-255 ng/ml、ethyl aminobenzoate、benoxinate、dibucaineで 420-830 ng/ml、procaineで2500 ng以上/mlであった。

局所麻酔剤の人体試料からの抽出方法として液-液抽出法や固相抽出法が広く行われている。今回、局所麻酔剤10種類についてヒト全血試料からヘッドスペースSPME法による抽出方法と、キャピラリーGCによる検出を行い良好な結果を得た。回収率は10種類の薬剤について11-0.4%の低い値であったが定量性に問題がなく、この方法は法中毒学領域での応用が可能と考えられる。

#### 【SUMMARY】

Local anaesthetics have been found extractable by headspace solid-phase microextraction (SPME), and the best conditions of their extraction from human blood samples have been investigated. After deproteinization with perchloric acid solution, the clear supernatants of human whole blood samples containing the drugs were heated in a vial at 100 °C in the presence of NaOH solution plus  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ; and a polydimethylsiloxane-coated SPME fiber was exposed to the headspace of the vial to allow adsorption of the drugs before capillary gas chromatography with flame ionization detection. Although the recovery of the ten drugs from human whole blood was 11-0.4 %, the calibration curves for 9 drugs showed linearity in the range of 1-12 μg/ml, with detection limits of 60-830 ng/ml.