

血中三環系抗うつ剤のヘッドスペース固相マイクロ抽出法

メタデータ	言語: Japanese 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: 李, 暁鵬, 熊澤, 武志, 佐藤, 啓造, 鈴木, 修 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1705

昭和大・医 〇李 曉鵬, 熊澤 武志, 佐藤 啓造
 浜松医大 鈴木 修

Extraction of tricyclic antidepressants by headspace solid-phase micro extraction (SPME) in human blood

Xiao-Pen LEE^{a)}, Takeshi KUMAZAWA^{a)}, Keizo SATO^{a)}, and Osamu SUZUKI^{b)}

^{a)} Department of Legal Medicine, Showa University School of Medicine

^{b)} Department of Legal Medicine, Hamamatsu University School of Medicine

[はじめに]

固相マイクロ抽出 (solid-phase micro extraction, SPME)法は1990年カナダのウォータールー大学の Pawliszyn らのグループによって報告された新しい抽出法である。今回、我々はヒト血液中三環系抗うつ剤について、ヘッドスペース SPME 法を用いた抽出とキャピラリーガスクロマトグラフィー (GC) による検出条件を設定したので報告する。

[材料と方法]

1) 試薬

今回の実験では、Table 1. に示す4種類の三環系抗うつ剤を使用した。

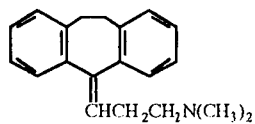
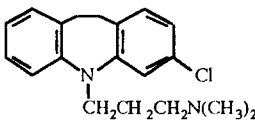
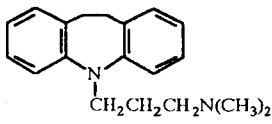
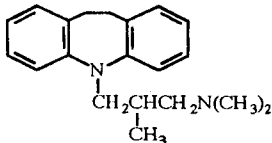
2) 試料の調整

ヒト全血0.5ml (500ng の各薬剤添加あるいは非添加)を7.5ml容量のバイアル瓶に入れ、蒸留水を0.5 ml加えた後、水酸化ナトリウム水溶液にて試料のpHを約10に調整した。

3) ヘッドスペースSPME法

スペルコ社製 SPME 装置はホルダーと polydimethylsiloxane をコーティングしたフューズドシリカファイバー(長さ1 cm、膜厚100 μ m)より成る。調整した試料の入ったバイアル瓶をシリコン製の内蓋で密栓し、100 $^{\circ}$ Cで加温した。30分後ホルダー針をバイアル瓶内に挿入し、ホルダーのプランジャーを押してファイバーをヘッドスペース内に露出させた。60分後ファイバーをホルダー針内に格納しバイアル瓶から抜き取り直ちにGCの注入口に挿入して検出を行った。

Table 1. Chemical structures of four tricyclic antidepressants used in the present study

Compound	Structure
Amitriptyline	
Chlorimipramine	
Imipramine	
Trimipramine	

4)GC分析

GC 分析には島津製 GC-14 B ガスクロマトグラフを使用し、水素炎イオン化法(FID)にて検出を行った。使用したカラムはDB-1 ミドルポアキャピラリーカラム(長さ30 m、内径 0.32 mm、膜厚 0.25 μm)である。カラム温度は100~300°C(昇温15°C/min)、注入口温度は280°C、キャリアーガスはヘリウムで、流量は4 ml/minに設定した。スプリッターはSPMEファイバーの注入口への挿入時には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。

[結果及び考察]

4種類の三環系抗うつ剤はDB-1キャピラリーカラムを用いることにより14分以内に全てが検出された。SPME法による抽出では全血試料ををアルカリ性条件下でヘッドスペース法を行うことにより、4種類の薬剤全てが検出され、不純ピークの出現が非常に少ない良好な結果が得られた。回収率は、Chlorimipramine では5.8%、その他は11.1-12.9%であった。また、全血に4種類の三環系抗うつ剤を添加し検量線を作成したところ、31-1000ng/0.5mlの範囲でいずれの薬剤も良好な直線性が得られた。さらに、検出限界は4種類の薬剤で16-25 ng/0.5mlで、再現性はCV = 3.7-4.7%の良好な結果が得られた。

従来のヘッドスペース法では、バックドカラムやワイドポアキャピラリーカラム(内径 0.53 mm)を用い約0.1-1 mlの気相をGCに注入するため、クロマト上でのシャープなピークが得られにくい欠点があった。ヘッドスペースSPME法ではファイバーに吸着した薬物全てをミドルポア(内径 0.32 mm)あるいはナローポア(内径 0.25 mm)キャピラリーカラムに導入することが出来るため、シャープなピークが得られ、感度の向上も期待できる。また、ヘッドスペースSPME法は不純ピークの出現が非常に少ないことに加え、定量性にも優れており、人体試料からの薬毒物の抽出法として有用であると考えられる。

[SUMMARY]

A simple method for the extraction of four tricyclic antidepressants from human whole blood, using the headspace solid-phase micro extraction (SPME) is presented. The human whole blood samples containing four drugs (amitriptyline, chlorimipramine, imipramine and trimipramine) were heated at 100 °C in a septum-capped vial in the presence of NaOH solution, and a polydimethylsiloxane-coated SPME fiber was exposed to the headspace of the vial to allow adsorption of the drugs before capillary gas chromatography (GC) with flame ionization detection. The headspace SPME-GC gave intense peaks for each drugs; only a few small background noises appeared. Recovery of the four drugs with use of the headspace SPME-GC were 5.8-12.9 %. Reproducibility for headspace SPME-GC data was excellent for whole blood samples. The calibration curves for the drugs showed linearity in the range of 31-1000 ng/0.5 ml for whole blood. The detection limits of each drugs were 16-25 ng/0.5 ml for whole blood. From the viewpoints of simplicity, background noises, detection limit and quantitiveness, the present method can be recommended before analyses by GC in forensic toxicology.