

## 論文内容要旨 (甲)

High-throughput determination of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in  
human plasma by HILIC-MS/MS

(HILIC-MS/MS によるヒト血漿中非ステロイド系抗炎症薬の  
ハイスループット分析法)

Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis,

第 88 巻, 71-80 頁, 2014 年 掲載予定, 2013 年 8 月 29 日 電子掲載済み

社会医学系法医学専攻 根本哲也

【目的】非ステロイド系抗炎症薬 (NSAIDs) は臨床薬として幅広く世界中で使用されており、安全な薬物と信じられているが、急性中毒あるいは乱用により消化管出血や深刻な肝機能障害、腎機能障害をきたすことが知られている。したがって、これらの問題を引き起こす原因物質を、人体試料から迅速かつ確実に同定・定量することは、救急救命および死因究明において極めて重要である。本研究では、ヒト血漿中 NSAIDs について、HILIC カラムを用いた親水性相互作用クロマトグラフィー法とタンデム質量分析 (MS/MS) 法を組み合わせた新しいハイスループット分析法の開発を行った。

【方法】本分析システムには Prominence UFLC 装置 (島津製作所) と API 4000Q Trap MS/MS 装置 (AB SCIEX) を用いた。試料の調整としては、ヒト血漿 20 $\mu$ L に 13 種類の NSAIDs (indomethacin, oxaprozin, ketoprofen, alminoprofen, zaltoprofen, tiaprofenic acid, pranoprofen, etodolac, ibuprofen, diclofenac, fenoprofen, loxoprofen 及び naproxen) と、2 種類の内部標準物質 (ISs: Ketoprofen- $d_3$  及び Ibuprofen- $d_3$ ) 10 ng を添加した後、10 mM 酢酸アンモニウム溶液 80  $\mu$ L、アセトニ

トリル 400  $\mu\text{L}$  を混和し、遠心分離した上清 10  $\mu\text{L}$  を UFLC-MS/MS 分析に供した。分離用カラムには Imtakt 社製の順相カラム UK-Amino (長さ 50 mm、内径 3 mm、粒径 3  $\mu\text{m}$ ) を用い、移動相にはアセトニトリルをベースにした 10 mM 酢酸アンモニウム溶液のリニアグラジエント法を使用した。MS 側のインジェクターバルブはサンプル注入時に waste モードで、1.2 分後から MS インターフェースとの接続に切り替えた。

【結果】エレクトロスプレーイオン化 (ESI) 法を用いた selected reaction monitoring (SRM) 測定により、13 種類の NSAIDs 及び ISs は 3.5 分以内に感度良く検出された。回収率は 34.8-113%であった。内部標準法を用いて作成した検量線は、0.125~12.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の濃度範囲で相関係数が 0.9995 以上の良好な直線性が得られた。検出限界は 0.025~0.25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  で、再現性 (CV 値) は日内変動及び日間変動がそれぞれ 1.5~11.5 及び 1.6~14.6%であった。昭和大学医学部医の倫理委員会の承認 (No. 862) を得て、zaltoprofen (80 mg)、ibuprofen (200 mg) 及び diclofenac (25 mg) 3 種類の NSAIDs を 3 名のボランティアにそれぞれ投与し、血液を採取した実サンプルによる定量も行った。

【考察】従来、ヒト体液中 NSAIDs の抽出では液-液抽出あるいは固相抽出が用いられてきたが、繁雑な操作や多量の有機溶媒を必要とすることなどが問題となっている。しかし、本法は、20  $\mu\text{L}$  という微量の血漿試料を少量の溶媒を用いて希釈・遠心を行った後、上清をそのまま HILIC-MS-MS ヘダイレクトに注入するだけの簡便な分析法であり、従来の報告に比べても迅速かつ高感度な NSAIDs の分析が可能であった。しかも、回収率や定量性も良好で、実サンプルを用いた高感度分析ができることが明らかとなった。さらに、SRM測定を行っていることで薬物の同定も可能であり、分析結果は法廷における証拠能力が高い。本研究はヒト体液中 NSAIDs のハイスループット分析だけでなく、他の薬毒物への応用も期待され、臨床及び法医中毒学領域において有用であることが示唆された。