

法 中 毒

第17巻 第2号 平成11年5月

日本法中毒学会第18年会講演要旨集

会 場 案 内	79
参加者へのご案内	81
第18年会 Time Table	82
プ ロ グ ラ ム	83
講 演 要 旨	
特 別 講 演	92
シ ン ポ ジ ウ ム	96
一 般 講 演	108

平成11年6月25日(金)～26日(土)

福岡市東区 九州大学医学部同窓会館

法中毒表紙 作者の言葉

法医中毒学、裁判化学、鑑識科学などの守備範囲を一つにすることによって、更に拡大化、法的諸問題を考究する法中毒学は、究極に於いては生体細胞と薬毒物との相互作用に帰すると考えられる。それらの複雑なしくみを図とすることは容易なことではない。「生命は分子であり化学的なものである。無数の化学反応体系から構成されている」。黄の部分は細胞成分。橙は生体物質。黒色は薬毒物として眺めていただければ私の意図は少しはわかって貰えるかも知れない。

山本 郁 男

北陸大学薬学部 衛生化学教室・会員

日本法中毒学会

JAPANESE ASSOCIATION OF FORENSIC TOXICOLOGY

10A 3

ESI-LC/MSによる筋弛緩薬パンクロニウム、ベクロニウムの分析

大阪府警・科捜研

○西川眞弓、西岡裕、片木宗弘、土橋均

Analysis of Quaternary Ammonium Neuromuscular Blocking Agents, Pancuronium and Vecuronium by ESI-LC/MS

Mayumi Nishikawa, Hiroshi Nishioka, Munehiro Katagi, Hitoshi Tsuchihashi
Forensic Science Laboratory, Osaka Prefectural Police H.Q.

〔はじめに〕

臭化パンクロニウム、臭化ベクロニウムは、第四級アンモニウム塩系の末梢性筋弛緩薬で、臨床に広く用いられている。しかし、これらは呼吸抑制作用を有するために、無人工呼吸下で故意に投与することで死に至らしめることが可能であり、自・他殺の例も少なくはない。パンクロニウム、ベクロニウムは、従来より蛍光光度法、GC・GC/MS、HPLC などにより分析されてきた。演者らも熱分解 GC/MS¹⁾、直接導入質量分析法²⁾、サーモスプレイ LC/MS³⁾による分析について報告してきたが、今回、イオン性化合物の分析に有用なエレクトロスプレー(ESI)-LC/MS および ESI-LC/MS/MS による分析を行うために、基礎的條件の検討を行った。

〔実験方法〕

装置と条件 LC/MS : Micromass 製 Platform(日本分光 PU-980 ポンプ付き)、イオン化 : ESI(クロスフローインターフェース付)、イオン源温度 : 100°C、キャピラリー電圧 : 4.0 kV、コーン電圧 : 20V、分析カラム : 東ソー製 TSKgel α -2500 (2.0 mm I.D. \times 150 mm)、移動相 : 30 mM ギ酸アンモニウム/アセトニトリル(30:70, v/v)、流量 1.2 ml/min、LC/MS/MS : Micromass 製 Quatro LC、イオン化 : ESI、イオン源温度 : 100°C、キャピラリー電圧 : 3.0 kV、コーン電圧 : 25V、コリジョンガス : アルゴン(2.3×10^{-3} mbar)、コリジョンエネルギー : 20V。

試料 臭化パンクロニウム、臭化ベクロニウムおよびこれらの代謝物は、1 mg/ml の濃度となるように蒸留水に溶解して作成し、分析ごとに蒸留水あるいは健常者の尿に添加した。アセトニトリルは HPLC 用、その他の試薬は市販の特級品を使用した。

固相抽出の方法 資料 3 ml に 2 ml のギ酸緩衝液(pH 6)を添加し、メタノール、ギ酸緩衝液(pH 6)、蒸留水でコンディショニングした Bond Elut CBA[®]カートリッジ(Varian 製)に注入した。カートリッジを 2 ml の蒸留水で洗浄後、2 ml の 0.1N HCl-メタノール(1:1, v/v)で溶出し、その 3 μ l を LC/MS 分析した。

〔結果および考察〕

装置条件の検討 パンクロニウムとベクロニウムについて、LC/MS のためのキャピラリー電圧とコーン電圧の検討を行った。パンクロニウムは M^{2+} イオン、ベクロニウムは $[M+2H-CH_3CO]^{2+}$ イオン (いずれもベースピーク) について、それぞれの条件下でピーク強度を測定・比較したところ、いずれもキャピラリー電圧 4.0 kV、コーン電圧 20 V で

最高となった。

移動相の検討 アセトニトリルに、10 mM および 30 mM のギ酸アンモニウムおよび酢酸アンモニウムを 30% 添加したものを移動相とし、パンクロニウム、ベクロニウムおよびそれらの代謝物のクロマトグラムと検出感度について検討した。その結果、いずれの化合物も塩濃度 10 mM ではテーリングが生じたが、塩濃度 30 mM では、溶出時間が早くなると共にピーク形状が改善され、ピーク強度も高くなった。30 mM のギ酸アンモニウムおよび 30 mM の酢酸アンモニウムの比較では、ギ酸アンモニウムで 3-4 倍ピーク強度が向上した。

MS スペクトル 移動相にギ酸アンモニウムおよび酢酸アンモニウムを添加し、各化合物のマススペクトルに及ぼす影響について検討した。コーン電圧 20 V では、パンクロニウム、3-デスアセチルパンクロニウム、17-デスアセチルパンクロニウムのいずれも M^{2+} イオン(それぞれ m/z 286、265、265)のみが出現し、ベクロニウム、3-デスアセチルベクロニウム、17-デスアセチルベクロニウムではいずれも $[M+2H-CH_3CO]^{2+}$ イオン(それぞれ m/z 258、237、237)のみが出現するマススペクトルであった。また、コーン電圧を 50 V に上げると、パンクロニウム、17-デスアセチルパンクロニウムにはフラグメントイオンが出現したが、3-デスアセチルパンクロニウムではフラグメントイオンは観察されなかった。また、ベクロニウムとその代謝物においては、いずれも $[M+2H-CH_3CO]^{2+}$ の 2 価イオンと共に $[M+H-CH_3CO]^+$ の 1 価イオンが出現したが、3 位デスアセチル体と 17-デスアセチル体の差は認められなかった。

MS/MS スペクトル 各化合物のベースピークイオンについて MS/MS スペクトルを測定した。キャピラリー電圧 3.0 kV、コーン電圧 25V でプリカーサイオンが強い強度で得られ、コリジョンエネルギー 20 V で、どの化合物も良好にプロダクトイオンが観察された。 m/z 265 をプリカーサイオンとし、3-デスアセチルパンクロニウム、17-デスアセチルパンクロニウムのプロダクトスキャンを行ったところ、異なるスペクトルパターンを示した。

検量線と検出限界 各ベースピークイオンについて SIM で絶対検量線法により検量線を作成したところ、いずれも 5-1000 ng/ml の範囲で直線性を示し、検出限界は 0.5-3 g/ml であった。50 ng/ml の濃度において回収率を求めたところ 73.93-91.99% で、繰り返し精度は 0.64-3.93%($n=3$)であった。

[SUMMARY]

Basic analytical conditions for quaternary ammonium neuromuscular blocking agents, pancuronium, vecuronium and their metabolites, were studied by using electrospray ionization (ESI)-LC/MS and LC/MS/MS. HPLC separation was achieved on an size exclusion chromatographic column with 30 mM ammonium formate - acetonitrile (30:70, v/v). In the mass spectra of pancuronium and its metabolites, double-charged molecular ions (M^{2+}) were observed as the base peaks, though, double-charged ions corresponding to desacetylation were observed in the mass spectra of vecuronium and its metabolites. The base peak ion intensities of these compounds peaked at a capillary voltage of 4.0 kV and a cone voltage of 20 V for LC/MS analysis, and at 3.0 kV and 25 V for LC/MS/MS analysis, respectively.

[文献]

- 1) 土橋ら：衛生化学，36，28 (1990)。
- 2) Nishikawa et al. : Forensic Sci. Int., 51, 131 (1991)。
- 3) 西川ら：衛生化学，40，534 (1994)。