

薬毒物分析実践 ハンドブック

—クロマトグラフィーを中心として—

浜松医科大学教授

鈴木 修

広島大学大学院
医歯薬学総合研究科助教授

屋敷幹雄

編

Handbook of Practical Analysis of Drugs and Poisons
in Human Specimens

— chromatographic methods —

O. Suzuki and M. Yashiki (eds.)

序

薬毒物による中毒事件・事故が発生した場合、中毒患者の治療が最優先になることはいうまでもない。しかし、例えば、パラコート中毒患者には酸素吸入は禁忌であり、もし、酸素を与えてしまうと2~3日後に重篤な間質性肺炎を引き起こす可能性が高い。このように、薬毒物の特定ができないと適切な治療が行えない。薬毒物分析はあらゆる中毒事件・事故場面でも大変重要な作業である。

薬毒物中毒の症状・治療法に関する成書は国内でかなりの数が出版されている。一方、薬毒物分析法に関する和文成書となるとごくわずかである。分析法の詳細を広く記載しているものとして、1992年に出版されたものがひとつだけあり、最近では1999年に日本法医学会から法医中毒学ワーキンググループによる「薬毒物検査マニュアル」が発行されたが、収録されている薬毒物の数が少ない。実験者が薬毒物分析を行うには、最新でしかも複数のテキストがあり、その中から一番良さそうなものを選択できるのが望ましい。編者らは、かねがね最新薬毒物分析法の解説書の出版を切望していたが、ようやく、ここに実現できることとなり大変喜んでゐる。

本書では、実際に各薬毒物分析を手掛けている各方面のエキスパートに分担してもらい、2001年の4月頃に執筆依頼し、脱稿期限が8月という強行軍であった。それにもかかわらず、わざわざ実験を再現確認して執筆していただいた先生方も多かったと聞く。さらに、できあがった原稿をみると大変立派な大作が多く、これにも感動させられた。

本書の主旨として、分析化学に多少とも携わる実験者であれば、必要に応じてすぐに目的物質の分析にとりかかることができるようにアレンジしたつもりである。したがって、ごく最近専門雑誌に発表され、評価の定まっていない先駆的な方法や、扱いがやや難しい抽出法などはなるべく避け、少数の例外を除けば、分析機器もGC、HPLC、GC/MS、LC/MSまでとした。また、呈色反応による薬毒物の簡易検査法はごく最近成書として出版されたため、ほとんど省略し、本書はクロマトグラフィー分析を主体に構成されている。

本書は法医学、裁判化学、分析化学の研究者のみならず、警察科学捜査研究機関、各地衛生研究所、さらには分析機器を保有する病院など、この方面の実務や研究に携わっている方々の良き参考書として、広い分野で役立つならば幸いである。

膨大な編集作業は浜松医科大学では鈴木加奈子助教授、広島大学では奈女良 昭講師、西田まなみ技官の多大なる協力のもとで行われた。また、広島大学の小嶋 亨教授の寛大な御理解なくして本書の出版は実現しなかったと思われる。以上の先生方に厚く御礼申し上げる次第である。また出版にあたり、終始お世話になった株式会社じほう 荒木敏彦氏と出版局の皆様に深甚の謝意を表す。

平成14年5月

編 者 識

推薦のことば

わが国におけるここ数年間の薬毒物事件は、1994年の松本のサリン事件にはじまり、地下鉄サリン事件、和歌山カレーヒ素混入事件、新潟アジ化ナトリウム事件、長野の青酸混入事件、埼玉アセトアミノフェンによる保険金詐欺事件を含め、その数は数百をくだらない。加えて濫用薬物による事件、さらに医療における誤薬事故など現代社会の様相を反映して毎日の報道を賑わせている。

これら事件の根本的解決の第一手法は、その薬毒物が一体何であるかを決定することにある。もしわかれば、次にその量はいかほどであるかを定量し、その量によって人を殺めるに十分であるかが推定でき、さらに、その薬毒物の出所や使用法が判ずることによって、事件の真相がより明確となる。

しかし、20世紀の終わり頃より急激に発達した機器分析法は、旧法である比色定量法（定性分析）などから種々のクロマトグラフィー、質量分析、免疫アッセイ、蛍光X線分析などが汎用されてはいるが、やはりその中心はクロマトグラフィーであり、 μg から今や ng 、 pg 、さらには fg の微量の薬毒物を分析しうる時代となった。分析法が進歩すればするほど、薬毒物の種類に応じて機器の適不適が明確となってくる。

このように、薬毒物事件に対応してこれまでこれら薬毒物の分析法に関する関連書がなかったわけではない。最も著名なものに日本薬学会編の「薬毒物化学試験法と注解」第1～4版（南山堂）があったが、既に4版が発刊されて10年を経過している。また、1999年に日本法医学会の教育研究委員会、法医中毒学ワーキンググループが作成した「薬毒物検査マニュアル」がある。両者とも優れているが、前者にはヒ素などの重金属を欠いているし、後者は一般法としては大いに参考になるが、薬毒物の項目が限られており、いまひとつ隔靴搔痒の感は否めなかった。

ここにおいて、時代に即応した経済的かつ実践的な分析法の一書が関係者の間で望まれていた。

この度、浜松医大・法医の鈴木 修教授と広島大・大学院・法医の屋敷幹雄助教授が中心となって、医・薬・警・病院・ドーピング分析センター等々の第一線で実際の薬毒物分析を行っている若手の研究者や鑑定官、分析官に短期間で御執筆いただいてまとめあげたのが本ハンドブックである。

今、通覧してみると、その内容はサリン分解産物をはじめ、アジ化物、アセトアミノフェン、トリカブト毒などそのほとんどが網羅されており、本の名に恥じないバランスのとれた分析書となっている。もちろん、今後さらなる新しい薬毒物が追加されることもあるであろうが、これらの種類と内容を把握して分析にあたれば薬毒物の決定も容易であると考えられる。本書によってこの領域に従事するあらゆる分野の出身者が躊躇することなく、より良き方向で迅速に仕事が進められるものと確信し、ここに本書を推薦する次第である。

平成14年5月

元日本法中毒学会理事長
山本 郁 男

編 集

鈴木 修 浜松医科大学法医学教室
 屋敷幹雄 広島大学大学院医歯薬学総合研究科展開医科学専攻病態情報医科学講座法医中毒学

執筆 者 (五十音順)

飴野 清 香川医科大学法医学教室
 荒尾友則 琉球大学医学部法医学教室
 安藤皓章 警視庁科学捜査研究所
 五十嵐一雄 神戸学院大学薬学部
 池田典昭 九州大学大学院医学研究院法医学分野
 石井 晃 藤田保健衛生大学医学部法医学教室
 伊藤 鍛 東北大学医学部附属病院薬剤部
 植木眞琴 (株)三菱化学ビーシーエル検査第五部
 大島 徹 金沢大学大学院医学系研究科環境医科学専攻環境社会医学講座,
 法・社会環境医学分野
 大塚 幸 福岡県警察科学捜査研究所
 小栗一太 九州大学大学院薬学研究院
 鹿毛茂利 福岡県警察科学捜査研究所化学第二科
 陰山信二 (株)三菱化学ビーシーエル検査第五部
 片木宗弘 大阪府警察本部科学捜査研究所
 勝又義直 名古屋大学大学院医学研究科法医・生命倫理学教室
 菊野隆明 国立病院東京医療センター薬剤科
 木村恒二郎 鳥根医科大学法医学教室
 工藤恵子 九州大学大学院医学研究院法医学分野
 小山和弘 国立病院東京医療センター薬剤科
 権守邦夫 秋田大学医学部法医学教室
 斉藤 剛 東海大学医学部法医学教室
 阪田正勝 北海道医療大学薬学部中毒代謝学教室
 佐藤啓造 昭和大学医学部法医学教室
 佐藤正一 千葉県救急医療センター検査部検査科
 篠塚達雄 慶應義塾大学医学部法医学教室
 島津陽子 国立病院東京医療センター薬剤科
 鈴木 修 浜松医科大学法医学教室
 鈴木加奈子 浜松医科大学法医学教室
 鈴木真一 科学警察研究所化学第三研究室
 鈴木康弘 科学警察研究所化学第三研究室
 瀬戸康雄 科学警察研究所化学第四研究室

- 妹尾 洋 愛知医科大学医学部法医学教室
高安達典 金沢大学大学院医学系研究科環境医科学専攻環境社会医学講座,
法・社会環境医学分野
- 高山成明 石川県警察本部科学捜査研究所
武市早苗 東海大学医学部法医学教室
竹川健一 山梨県警察本部刑事部科学捜査研究所
田中栄之介 筑波大学社会医学系法医学
土橋 均 大阪府警察本部科学捜査研究所
寺田 賢 大阪大学大学院医学系研究科F3社会医学専攻法医学
中島理加 慶應義塾大学医学部法医学教室
奈女良 昭 広島大学大学院医歯薬学総合研究科展開医科学専攻病態情報医科学講座法医中毒学
西川眞弓 大阪府警察本部科学捜査研究所
西田まなみ 広島大学大学院医歯薬学総合研究科展開医科学専攻病態情報医科学講座法医中毒学
仁平 信 日本医科大学法医学教室
服部秀樹 愛知医科大学医学部法医学教室
花岡成行 (財)化学物質評価研究機構東京事業所環境技術部技術第3課
早川和一 金沢大学薬学部衛生分析科学講座衛生化学研究室
稗田洋子 島根医科大学法医学教室
福島 直 福島県警察科学捜査研究所
福本眞理子 北里大学薬学部臨床薬学研究センター中毒部門
福家千昭 琉球大学医学部法医学教室
藤澤真奈美 新潟市民病院薬剤部, 同病院中毒分析室
堀 寧 新潟市民病院薬剤部, 同病院中毒分析室
松本直人 防衛医科大学校病院薬剤部
三木昭宏 大阪府警察本部科学捜査研究所
水柿道直 東北薬科大学
宮田嘉彦 警視庁科学捜査研究所
守屋文夫 高知医科大学法医学教室
屋敷幹雄 広島大学大学院医歯薬学総合研究科展開医科学専攻病態情報医科学講座法医中毒学
山田英之 九州大学大学院薬学研究院
吉岡敏治 (財)日本中毒情報センター, 大阪府立病院救急診療科
吉岡尚文 秋田大学医学部法医学教室
李 曉鵬 昭和大学医学部法医学教室
渡辺和人 北陸大学薬学部
渡辺りつ子 大阪大学大学院医学系研究科F3社会医学専攻法医学

4 一般医薬品類

6 筋弛緩薬

1 はじめに

筋弛緩薬（骨格筋弛緩薬，neuromuscular blocking agents，muscle relaxants）は，その薬理作用から末梢性筋弛緩薬と中枢性筋弛緩薬に分類される（表 6.1）。末梢性筋弛緩薬は，気管内挿管時の筋弛緩，外科手術時の筋弛緩などに使用され，中枢性筋弛緩薬は，運動器疾患に伴う有痛性痙縮，神経症における不安・緊張時に使用されている。筋弛緩薬の中でも末梢性筋弛緩薬は，その呼吸抑制作用から中毒事故が起こるが，一般の医療現場では人工呼吸器により

表 6.1 筋弛緩薬（muscle relaxants）の分類

| | | | |
|------|---------|---|---|
| 筋弛緩薬 | 末梢性筋弛緩薬 | 非脱分極型筋弛緩薬 | 塩化ツボクラリン（アルカロイド系薬） 臭化パンクロニウム，臭化ベクロニウム （その他） |
| | | 脱分極型筋弛緩薬 | 塩化スキサメトニウム（コリン系薬） |
| | 中枢性筋弛緩薬 | カルバミン酸クロルフェネシン，フェンプロバメート， メトカルバモール（カルバメート系薬） クロルゾキサゾン（クロルゾキサゾン薬） クロルメザノン，ダントロレンナトリウム，メシル酸プリジノール， アフロクァロン，塩酸エベリゾン，塩酸トルベリゾン，パクロフェン， 塩酸チザニジン（その他） | |

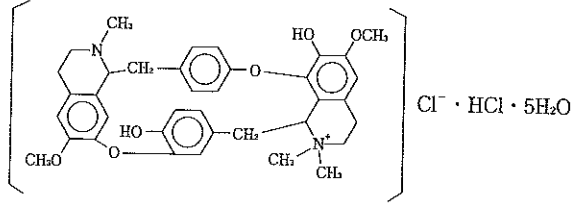
表 6.2 末梢性筋弛緩薬の商品名

| 一般名（英文名） | 商品名 |
|--|-------------|
| 塩化ツボクラリン (tubocurarine chloride) | アメリゾール |
| 臭化パンクロニウム (pancuronium bromide) | ミオブロック |
| 臭化ベクロニウム (vecuronium bromide) | マスキュラックス静注用 |
| 塩化スキサメトニウム (suxamethonium chloride) | サクシン，レラキシソ |

表 6.3 末梢性筋弛緩薬

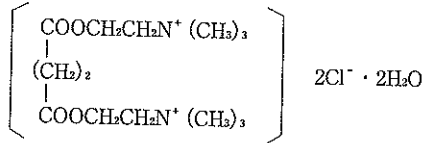
a) アルカロイド系薬

tubocurarine chloride



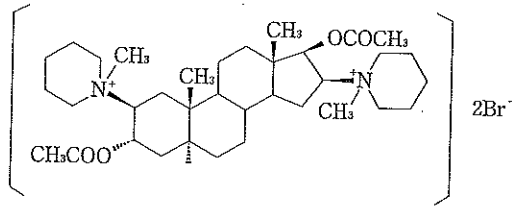
b) コリン系薬

suxamethonium chloride

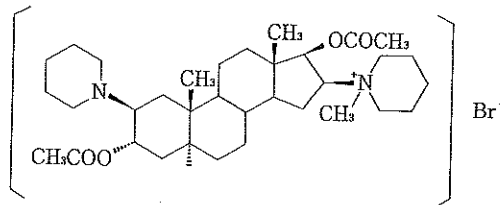


c) その他

pancuronium bromide



vecuronium bromide



危険が回避されるため、中毒事故のほとんどは故意による投与と考えられる。したがって、本章では末梢性筋弛緩薬（表 6.2・3）を対象とする。これらはいずれも第四級アンモニウム塩であるので、分析は第四級アンモニウム塩系薬物の分析法¹⁾が参考となる。

2 薄層クロマトグラフィー (TLC) 分析

1) 試薬と調製

- ① 各薬物標品は、用時調製でメタノールに溶解する^a。
- ② ヨウ化コハク酸モノコリン (ヨウ化サクシニルモノコリン) の合成^b : ヨウ化コリン 2.3 g と無水コハク酸 5 g を合わせ、140℃の油浴中で1~2時間加熱して溶融する。反応物を放冷し、過剰の無水コハク酸を 100 mL のアセトンで洗浄後、メタノール/アセトン/エーテル混合溶媒から再結晶する。
- ③ 次硝酸ビスマス 0.85 g を蒸留水 40 mL と酢酸 10 mL との混液に溶解した溶液 (A 液)、ヨウ化カリウム 8 g を蒸留水 20 mL に溶解した溶液 (B 液) を作成し、A 液/B 液/酢酸/蒸留水を 1 : 1 : 4 : 20 の割合に混合する (ドラーゲンドルフ試薬)。
- ④ 10% 塩化白金酸 1 mL に 4% ヨウ化カリウム 25 mL を加え、さらに蒸留水 24 mL を加えてよく混和する (ヨウ化白金酸カリウム試薬)。

2) 条件

- ① TLC プレート : 蛍光剤入りシリカゲルプレート (シリカゲル 60 F₂₅₄, Merck · Darmstadt, Germany)
- ② 展開溶媒^b : ① 0.1 M 塩酸/アセトニトリル (1 : 1, v/v), ② メタノール/テトラヒドロフラン/5%ギ酸 (7 : 7 : 6, v/v), ③ メタノール/クロロホルム/酢酸 (5 : 4 : 1, v/v)
- ③ 検出試薬^b : ① ドラーゲンドルフ試薬, ② ヨウ化白金酸カリウム試薬

3) 操作法

- i) 液体試料はそのまま、粉末試料はメタノールに溶解し、薄層プレートにスポットする。
- ii) 展開溶媒を入れた展開槽で、常法どおり展開する。
- iii) 展開終了後に風乾し、紫外線 (254 nm) 照射によりスポットを確認する。
- iv) プレートに検出試薬を噴霧し^c、発色したスポットの呈色および R_f 値を標品と比較して同定する。

4) 分析評価

筋弛緩薬による中毒事件、事故の際には、注射液や点滴液が残されることが多く、それらの分析には TLC が簡便で迅速な方法のひとつとなる。

各展開溶媒を使用したときの R_f 値と各検出試薬の検出下限を表 6.4 に示す。

表 6.4 筋弛緩薬の R_f 値と検出下限 (μg)

| 化合物 | 展開溶媒 | | | UV | 検出試薬 | |
|-----------|------|------|-------|-----|------|-----|
| | ① | ② | ③ | | ① | ② |
| スキサメトニウム | 0.25 | 0.15 | 0.02 | - | 0.1 | 0.1 |
| コハク酸モノコリン | 0.37 | | | - | 1.0 | |
| コリン | 0.46 | | | - | 0.1 | |
| バンクロニウム | 0.47 | 0.38 | 0.10* | - | 0.1 | 0.1 |
| ベクロニウム | 0.51 | 0.47 | 0.27* | - | 0.1 | 0.1 |
| ツボクラリン | 0.59 | 0.52 | 0.20* | 0.3 | 0.3 | 0.2 |

* : テーリング, - : UV 吸収なし

3 直接導入 MS 分析⁴⁾

1) 試薬と調製

- ① ヨウ素 1 g とヨウ化カリウム 2 g を蒸留水に溶解し、20 mL とする (KI_3).
- ② リン酸二水素カリウム 13.6 g を蒸留水に溶解して 100 mL にしたものと、リン酸水素二ナトリウム 14.2 g を蒸留水に溶解して 100 mL にしたものを混合し、pH 5.0 とする (リン酸緩衝液, pH 5.0).

2) MS 条件

- ① 装置：直接試料導入プローブ付き MS QP-5050 (島津製作所・京都)；イオン化：電子衝撃イオン化 (EI) および化学イオン化 (CI) 法
- ② プローブ条件：30～350℃まで 40℃/min の速度で昇温する。

3) 操作法

- i) 尿 1 mL, pH 5.0 のリン酸緩衝液 1 mL, KI_3 100 μL , ジクロロメタン 1 mL をシラン処理を施した共栓付きガラス試験管に入れて 3 分間抽出する。
- ii) 遠心分離後、有機層を分取し、窒素気流下、室温で蒸発乾固する。
- iii) 残渣にジクロロメタン 50 μL を加え、その 3 μL を直接試料導入用のサンプル管に入れ、溶媒を留去する。
- iv) EI 法およびイソプタンを試薬ガスとする CI 法による MS 分析を行う。

4) 分析評価

EI および CI 法により観察される各化合物のフラグメントイオンを表 6.5 に示す。筋弛緩薬は、 KI_3 以外にもさまざまなイオンペア試薬を添加することにより有機溶媒で抽出される⁵⁾が、 KI_3 は無機試薬であることから、煩雑な除去操作を行わなくてもマススペクトル

表 6.5 筋弛緩薬の直接導入 MS において観察される主なフラグメントイオン

| 化合物 | m/z (相対強度, %) | |
|----------|-------------------|----------------------------|
| | EI | CI |
| スキサメトニウム | 58(100), 71(30) | 191(100), 261(45) |
| バンクロニウム | 467(100), 340(40) | 416(100), 543(70), 483(30) |
| ベクロニウム | 425(100), 467(50) | 374(100), 501(75), 543(20) |
| ツボクラリン | 298(100), 594(25) | 264(100), 306(40), 320(35) |

への妨害が少ない。

4 LC/MS/MS 分析

1) 試薬と調製

- ①ギ酸アンモニウム 0.63 g を蒸留水に溶解して 1,000 mL とし、ギ酸あるいはアンモニア水で pH 6 に調整する (10 mM, pH 6)。
- ②濃塩酸 0.83 mL を蒸留水で希釈して 100 mL とし、メタノール 100 mL と混合する (0.1 M 塩酸/メタノール, 1 : 1, v/v)。

2) LC/MS/MS 条件

- ①装置条件：Quattro LC (Micromass・Manchester, UK) は、エレクトロスプレーイオン化 (ESI) 法、正イオンモードで使用する。キャピラリー電圧：3.7 kV；コーン電圧：25 V；イオン源温度：100℃；コリジョンガス：アルゴン (2.3 e⁻³mbar)；コリジョンエネルギー：23 V
- ②HPLC カラム^d：TSKgel α-2500 (75 × 2.0 mm i.d., 東ソー・東京)；移動相：15 mM ギ酸アンモニウム/アセトニトリル (30 : 70, v/v)；流速：0.08 mL/min

3) 操作法

- i) 抽出カートリッジ Bond Elut CBA (Varian・Harbor City, CA, USA)^e を、メタノール 5 mL, 蒸留水 5 mL, 10 mM ギ酸緩衝液 (pH 6) 10 mL で活性化する。
- ii) 尿, 臓器ホモジネート^f はそのまま, 血清は蒸留水で 2 倍に希釈し, その 1~3 mL に等量の 10 mM ギ酸緩衝液 (pH 6) を加え, 抽出カートリッジにかける。
- iii) カートリッジを蒸留水 2 mL で洗浄する。
- iv) カートリッジから目的成分を 0.1 M 塩酸/メタノール (1 : 1, v/v) 2 mL で溶出させる。
- v) 溶出液^g を LC/MS/MS に注入する。

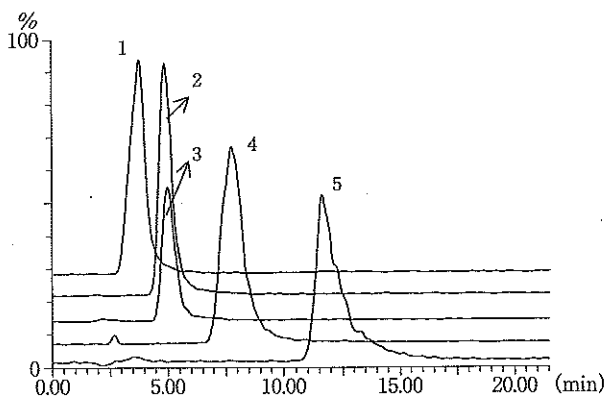
4) 分析評価

本法で、尿、血清、臓器ホモジネートとも抽出可能であるが、とくにスキサメトニウム（サクシニルコリン）は、血中のコリンエステラーゼにより速やかに加水分解されるため、血液からの検出は非常に困難であり、尿を対象とするのがよい。スキサメトニウムのラットへの投与実験では、肝臓、腎臓、心臓からスキサメトニウムが検出された⁶⁾。

図 6.1 に本法で分析したときのクロマトグラムを、表 6.6 に各化合物から得られたプロダクトイオンスペクトルで観察される主な生成イオンを示す。

筋弛緩薬は、第四級アンモニウム塩の構造を持つイオン性化合物であるので、分子イオン種を得るという点では、LC/MS、中でも ESI による分析が最適である。サーモスプレーイオン化法⁹⁾、大気圧化学イオン化法、フリット高速原子衝撃イオン化法¹⁰⁾などでも分析は可能であるが、一般に分子イオン種よりもフラグメントイオンが強く観察される。ESI の特徴に多価イオンが検出されることがあげられるが、本分析において各薬物は 2 価の分子イオン種として検出されている。しかし、同じ ESI でも機種や条件によりスペクトルパターンが変化することは避けられないため、そのつど標品で確認すべきである。

選択反応検出 (SRM) モードにおける検出下限は 2 ~ 20 ng/mL である。



1 : コハク酸モノコリン, 2 : ベクロニウム, 3 : パンクロニウム, 4 : ツボクラリン, 5 : スキサメトニウム

図 6.1 筋弛緩薬の LC/MS/MS におけるクロマトグラム

表 6.6 筋弛緩薬の MS/MS 分析において観察される主な生成イオン

| 化合物 | 前駆イオン | 生成イオン m/z (相対強度, %) |
|-----------|----------------|----------------------------|
| スキサメトニウム | M^{2+} | 130(100), 158(35), 204(15) |
| コハク酸モノコリン | M^+ | 145(100) |
| パンクロニウム | M^{2+} | 430(100), 206(50), 332(30) |
| ベクロニウム | $[M + H]^{2+}$ | 356(100), 398(40), 249(25) |
| ツボクラリン | M^{2+} | 521(100), 254(80), 552(70) |

5 中毒事例, 中毒・致死濃度

脱分極型筋弛緩薬のスキサメトニウムは、神経終板のアセチルコリン受容体に結合して持続的脱分極を起こすことにより、一過性の筋繊維束収縮に続いて筋弛緩作用を示す。非脱分極型のツボクラリン、パンクロニウム、ベクロニウムは、骨格筋の神経筋接合部において、終板のアセチルコリン受容体にアセチルコリンと競合的に結合し、脱分極を阻害することで筋弛緩作用を示す。いずれも呼吸抑制作用を有するため、たとえ常用量を投与したとしても、人工呼吸が行われなければ呼吸停止により生命の危険を招く。スキサメトニウムは、通常0.8～1.0 mg/kgが使用され、1分ほどで筋弛緩が得られ、数分で回復する。パンクロニウムは、0.08～0.1 mg/mLの投与量で1～2分で効果が発現し、40～60分程度持続するとされている。

スキサメトニウム、パンクロニウム、ベクロニウムの実験動物に対する急性毒性 (LD₅₀値, mg/kg) は、それぞれ0.53 (ウサギ耳静脈内)⁷⁾、0.036～0.047 (マウス静脈内)^{8, 9)}、0.051 (マウス静脈内)¹⁰⁾である。さまざまな投与経路において、一般に、LD₅₀値は静脈内投与が最も低量で、皮下・腹腔内投与がその数倍から10倍である。経口投与においては静脈内の数百から数千倍の高量で、これらの薬物は消化管からの吸収がきわめて悪いといわれている。

筋弛緩薬による死亡例で、定量分析が行われた例は、血液：0.3 μg/g、尿：0.9 μg/g (パンクロニウム、静注による自殺例)¹¹⁾、血液：0.26 μg/g、尿：2.0 μg/g (パンクロニウム、静注による自殺例)¹²⁾の報告がみられる。

筋弛緩薬投与患者からの分析例では、2 mg/kgのスキサメトニウムを静脈内投与し、0.5分後の血漿で約40 μg/mL、4.5分後で2.4 μg/mL、15分後で0.5 μg/mLであった¹³⁾という。スキサメトニウム1 mg/kgの静脈内投与では、47.5秒後の血漿で44.4 μg/mL、7分後の血漿で80 ng/mLが検出されている¹⁴⁾。また、0.5 mg/kgのツボクラリンを静脈内投与し、24時間までの尿を分析した例では、4.49～61.4 μg/mL (7名)¹⁵⁾と報告されている。0.1 mg/kgのベクロニウムを静脈内投与された患者で、投与直後の血漿で約4,000 ng/mL、5時間後で5 ng/mLが検出された例がある¹⁶⁾。パンクロニウム4 mgが静脈内投与された例では、5分後の血清で0.6 μg/mL、4時間後で0.07 μg/mLと報告されている¹⁷⁾。

【注解】

a) 標品はアルカリおよび中性条件で加水分解されやすいため、用時調製する。

スキサメトニウムは、アルカリ性下で容易に加水分解され、pH 7.5以上では37℃、10分間のインキュベーションにおいて迅速に分解する¹⁸⁾、あるいはpH 5では4℃で6～8週間保存しても損失はなかった¹⁹⁾などの報告があり、弱酸性で安定であるとされている。筆者らの最近のスキサメトニウムを使用した実験では、pH 4程度の酸性にすれば分解は抑制されている。しかし、スキサメトニウム代謝・分解物のコハク酸モノコリンは中性水溶液中でも比較的安定である。

b) 一般に、シリカゲルプレートでは、プレートの

シラノール基に薬物の四級アミン基が吸着しやすいため、酸性の展開溶媒を用いなければ展開し難い。

c) スキサメトニウム、パンクロニウム、ベクロニウムはUV吸収を有しないため、紫外線照射での検出はできない。検出試薬による呈色は、ドラージェンドルフ試薬ではいずれも橙色 (コリンは赤橙色)、ヨウ化白金酸カリウム試薬ではいずれも暗褐色である。

d) HPLCカラムには水系GPCカラムを使用しているが、内径2.0 mm程度のセミマイクロカラムを使用するのがよい。今回使用している東ソー製TSKgel α-2500のほかにも、Asahi-Pak GS-320、

GF-310 (いずれも昭和電工・東京), Develosil Diol-5 (野村化学・愛知)などはセミマイクロサイズの特注が可能である。いずれのカラムでも酢酸アンモニウム/アセトニトリル系あるいは酢酸アンモニウム/アセトニトリル系の移動相で分析可能である。

ODS系のカラムでは、移動相にトリフルオロ酢酸を添加し、薬物とのイオンペアを生成させると分析可能である⁹⁾。

- e) 抽出カートリッジは弱陽イオン交換系のものを使用する。ここで用いたものは、カルボン酸系のカートリッジである。スルホン酸系の強陽イオン

交換カートリッジでは、薬物とのイオン結合により溶出が困難である。また、Bond Elut C₁₈カートリッジによる抽出¹⁶⁾も報告されている。

- f) 臓器は細切し、その3gに蒸留水4mLを加えてホモジネートとし、1.2M過塩素酸1mLを加えて遠心分離する。上澄液をアンモニア水でpH6として用いる。
- g) 溶出液を濃縮する際に、ガラス容器を使用すると吸着により目的成分が損失するおそれがあるので、プラスチック容器を用いて窒素気流下で加熱しすぎない(熱分解を防ぐ)ようにしながら濃縮するのが望ましい。

【文献】

- 1) 土橋 均, 西川真弓: 第四級アンモニウム塩系薬物の分析について—特に筋弛緩薬スキサメトニウムとバンクロニウムを中心に—. 法中毒 1995; 13: 1-10.
- 2) Phillips AP: Preparation of the monocholine ester of succinic acid and some related derivatives. J Am Chem Soc 1953; 75: 4725-4727.
- 3) 日本薬学会編: 薬毒物化学試験法と注解, 第4版. 南山堂, 東京, 1992, p 151, p 175.
- 4) Nisikawa M, Tatsuno M, Suzuki S, et al.: The analysis of quaternary ammonium compounds in human urine by direct inlet electron impact ionization mass spectrometry. Forensic Sci Int 1991; 51: 131-138.
- 5) 西川真弓, 辰野道昭, 土橋 均, 他: 尿中第四級アンモニウム塩系薬物のサーモスプレイ LC-MSによる分析. 衛生化学 1994; 40: 534-541.
- 6) 土橋 均, 西川真弓, 辰野道昭: Frit-FAB LC-MSによるスキサメトニウムの分析とラット臓器からの検出期間について. 衛生化学 1997; 43: 108-113.
- 7) 永田良平: 筋弛緩薬に関する薬理学的研究 第1篇 諸種筋弛緩薬の作用効果に就いて. 東京医科大学雑誌 1958; 16: 295-311.
- 8) 鈴木善雄, 増田 裕, 棚瀬久雄, 他: Pancuronium Bromideの実験動物に対する急性, 長期毒性ならびに催奇形試験. 三共研究所年報 1970; 22: 187-208.
- 9) Buckett WR, Marjoribanks CEB, Marwick FA, et al.: The pharmacology of pancuronium bromide (Org. NA97), a new potent steroidal neuromuscular blocking agent. Br J Pharmacol Chemother 1968; 32: 671-682.
- 10) 金子洋二, 佐野正樹, 神谷日出留, 他: OrgNC45のラットおよびマウスを用いた経口, 静脈内, 皮下および腹腔内投与による急性毒性試験. 基礎と臨床 1986; 20: 807-816.
- 11) 屋敷幹雄, 宮崎哲次, 岩崎泰昌, 他: バンクロニウム静注による一自殺例. 日法医誌 1992; 46: 282-285.
- 12) 上村公一, 藤宮龍也, 古村節男, 他: バンクロニウム中毒の剖検例. 日法医誌 1994; 48 (補冊号: 第78次日本法医学会総会 講演要旨): 190.
- 13) Lagerwerf AJ, Vanlinthout LEH, Vree TB: Rapid determination of succinylcholine in human plasma by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. J Chromatogr 1991; 570: 390-395.
- 14) Roy JJ, Boismenu D, Gao H, et al.: Measurement of succinylcholine concentration in human plasma by electrospray tandem mass spectrometry. Anal Biochem 2001; 290: 238-244.
- 15) Annan RS, Kim C, Martyn J: Measurement of D-tubocurarine chloride in human urine using solid-phase extraction and reversed-phase high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection. J Chromatogr 1990; 526: 228-234.
- 16) Ducharme J, Varin F, Bevan DR, et al.: High-performance liquid chromatography-electrochemical detection of vecuronium and its metabolites in human plasma. J Chromatogr B 1992; 573: 79-86.
- 17) McLeod K, Watson MJ, Rawlins MD: Pharmacokinetics of pancuronium in patients with normal and impaired renal function. Br J

- Anaesth 1976 ; 48 : 341-345.
- 18) Ikarashi Y, Hada T, Way EL, et al. :
Determination of succinylcholine hydrolytic
enzyme activity in human plasma. J Chromatogr
1990 ; 533 : 23-33.
- 19) Stevens HM, Moffat AC : A rapid screening
procedure for quaternary ammonium com-
pounds in fluids and tissues with special refer-
ence to suxamethonium (succinylcholine) . J
Forensic Sci Soc 1974 ; 14 : 141-148.

(西川眞弓, 土橋 均)

薬毒物分析実践ハンドブック
ークロマトグラフィーを中心としてー

定価 本体9,000円(税別)

平成14年7月15日 発行

編集 ^{すずき}鈴木 ^{おさむ}修
^{やしき}屋敷 ^{みきお}幹雄

発行人 武田 正一郎

発行所 株式会社 じほう

101-8421 東京都千代田区一ツ橋2-6-3 (一ツ橋ビル)

電話 編集 03-3265-7755 販売 03-3265-7751

振替 00190-0-900481

<大阪支局>

541-0047 大阪市中央区淡路町3-1-9 (淡路町ダイビル)

電話 06-6231-7061

©2002

組版 (株)ミカド/印刷 日経印刷(株)

Printed in Japan

本書の複製権・翻訳権・上映権・譲渡権・公衆送信権(送信可能化権を含む)は株式会社じほうが保有します。

万一落丁、乱丁等の場合は、お取替えいたします。

ISBN4-8407-3004-0

・ **JCS** <(株)日本著作出版権管理システム委託出版物>

本書の無断複写は著作権法上での例外を除き禁じられています。

複写される場合は、そのつど事前に(株)日本著作出版権管理システム(電話03-3817-5670, FAX03-3815-8199)の許諾を得てください。