

固相抽出法と HPLC を用いたアセトアミノフェン及びその関連薬物の分析

岡村俊男*

アセトアミノフェンはかぜ薬の配合成分であり、一般薬として広く用いられている。さらに入手しやすいことから、誤飲事故や自殺目的での摂取による中毒例が多い。アセトアミノフェン及びその配合成分である無水カフェイン、マレイン酸クロムフェニラミン、エテンザミドの分析法を固相抽出法と HPLC により開発した。人血清に添加した結果、良好な回収率が得られた。同時に分析できる方法は中毒原因物質の究明や治療に役立つと思われる。

キーワード：HPLC、アセトアミノフェン、固相抽出

Key words: HPLC, acetaminophen, solid phase extraction

アセトアミノフェン、無水カフェイン、マレイン酸クロムフェニラミン、エテンザミド(以下、AA、CF、CP、EZ と略す。)はかぜ薬の配合成分であり、一般薬(OTC 薬)として広く用いられている。特に AA は、入手しやすいことから、誤飲事故や自殺目的での摂取による中毒事例が多く見られている。AA の 2009 年における(財)日本中毒センターへの問い合わせ件数は一般用医薬品 3,527 件中 466 件であった¹⁾。また、CF の推定経口致死量は約 10g とされるため、コーヒーなどの摂取によって中毒を起こすことはまずない。CF は薬物の配合薬として広く使用されるため、多量に体内に摂取された場合には問題となると考えられる²⁾。さらに CP の毒性は過敏症、神経過敏、頭痛などが知られている。なお、EZ は長期・大量投与により、過呼吸、貧血、腎障害、肝障害が現れることがある。なお、EZ の毒性は過敏症、神経過敏、頭痛などが知られている³⁾。いずれも大量投与により中毒症状に影響を及ぼすことから分析法の開発は重要と考えられるが、人血清からのこれら薬物の簡便な同時分析法は報告されていない。そこで、簡便な AA、CF、CP、EZ の同時分析法を固相抽出法と HPLC により開発し、若干の知見が得られたのでここに報告する。

*大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部 薬事指導課

Analysis of Acetaminophen and Its Related Drug by Using Solid Phase Extraction and HPLC

by Toshio OKAMURA

実験方法

1. 試薬及び材料

AA、CF、CP、EZ は日本薬局方標準品(一般財団法人、医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス財団)、フェノール(内標準物質)は和光純薬工業株式会社製を用いた。人血清(男性) AB 型、血漿由来は Sigma aldrich 製を用いた。固相抽出用カラムとして多孔性ポリマーに硫酸基を導入した Oasis MCX 3cc(60mg)は waters 製(USA)を用いた。

2. 装置

液体クロマトグラフ装置は LC-10A Class-vp システムを用いた。カラムオープン CTO-10ACvp、送液ユニット LC-10ADvp、フォトダイオードアレイ紫外可視検出器 SPD-M10Avp、オートインジェクタ SIL-10ADvp はいずれも島津製作所製を用いた。

3. HPLC の条件

カラム：L-columnODS 150mm×4.6mm i.d. 粒径 5 μ m、財団法人、化学物質評価研究機構製を用いた。カラム温度：25 $^{\circ}$ C、移動相：0.1%リン酸/メタノール混液(77:23)、検出波長：254nm、流速：1.0mL/min、注入量：10 μ L なおピーク面積に基づき定量を行った。

4. 前処理方法

標準溶液(AA、CF、CP、EZ を 50 μ g/mL を含有する水

溶液) 1mL、人血清 1mL、0.1mol/mL 塩酸 1mL を加え、Oasis MCX カートリッジ (あらかじめメタノールと 0.1 mol/mL 塩酸各 3mL で洗ったもの) に AA、CF、CP、EZ を吸着させた。次に 2%アンモニア・メタノールで溶出し、溶出液 2mL をとり、内標準溶液(IS)としてフェノール 1mL(100 μ g/mL)を正確に加え、HPLC 用の試料溶液とした。なお、AA、CF、CP、EZ を 10 μ g/mL を含有する水溶液も同様の操作を行った。

物として AA は日本中毒学会が提唱する分析すべき薬毒物 15 品目の中の一つとしてあげられている。中毒物質としての AA の重要性は高く、さらによく使われる配合成分を同時に分析できる方法は中毒原因物質の究明や治療に役立つと思われる。

表 1. ヒト血清への AA、CF、CP、EZ の添加回収実験(n=3)

成分名	各々の薬物濃度はいずれも 10 μ g/mL		各々の薬物濃度はいずれも 50 μ g/mL	
	回収率		回収率	
	平均(%)	C.V.(%)	平均(%)	C.V.(%)
アセトアミノフェン(AA)	99.52	0.21	90.03	3.21
無水カフェイン(CF)	99.20	1.48	91.05	2.62
マレイン酸クロルフェニラミン(CP)	96.83	4.58	95.47	1.47
エテンザミド(EZ)	95.96	0.92	89.1	1.19

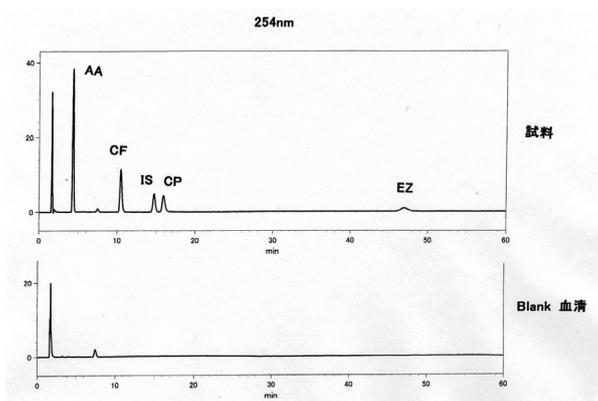


図 1. 人血清に添加したアセトアミノフェン(AA)、カフェイン(CF)、クロルフェニラミン(CP)及びエテンザミド(EZ)混合物と血清の blank のクロマトグラム (各々 50 μ g/mL)

結果及び考察

図 1 に人血清にそれぞれの薬物を添加した試料のクロマトグラムを示した。人血清による妨害物質はなく AA、CF、CP、EZ 及び IS は完全分離した。又、標準溶液の UV スペクトルとの比較により、AA、CF、CP、EZ のピークの同定を行った。中毒症状を起こす血清中の濃度を考慮して人血清にこれらの薬物はそれぞれ、10 μ g/mL、50 μ g/mL を添加した。Oasis MCX カートリッジを用いた平均回収率(n=3)は 89.10%~99.52%と良好であった。(表 1)

AA、CF、CP、EZ が注入試料濃度 1 μ g~100 μ g/mL の範囲で良好な直線性を示した。(相関係数それぞれ、0.999、0.999、0.999、0.999) S/N=5 としたときの AA、CF、CP、EZ の検出限界は血中濃度としてそれぞれ、0.1 μ g/mL、0.2 μ g/mL、0.3 μ g/mL、0.6 μ g/mL と微量域まで分析可能であった。本研究には逆相系とイオン交換の作用を持つ Oasis MCX を用いたが、この前処理カラムは操作法が簡便である。

なお Sep-PakC₁₈による AA の固相抽出法では添加回収率は約 45%と報告されている⁴⁾。今回の分析法の対象薬

文献

- 1) (財) 日本中毒情報センター：2009 年受信報告，中毒研究, **23**, 137-168 (2010)
- 2) 日本薬学会編:薬毒物化学試験法と注解—第 4 版—, p.406, 南山堂, 東京 (1992)
- 3) 鈴木 修, 屋敷幹雄 編:薬毒物分析実践ハンドブック, p.420, じほう, 東京 (2002)
- 4) 安藤英治, 山口 実, 奈女良 昭, 屋敷幹雄：フォトダイオードアレイ検出器を用いた高速液体クロマトグラフィー(HPLC)システムによる血清中の急性中毒起因物質、アセトアミノフェン、ブロムワレリル尿素、メソミル、DEP、NAC の分析, 島津評論, **57**(1-2), 109-113 (2000)