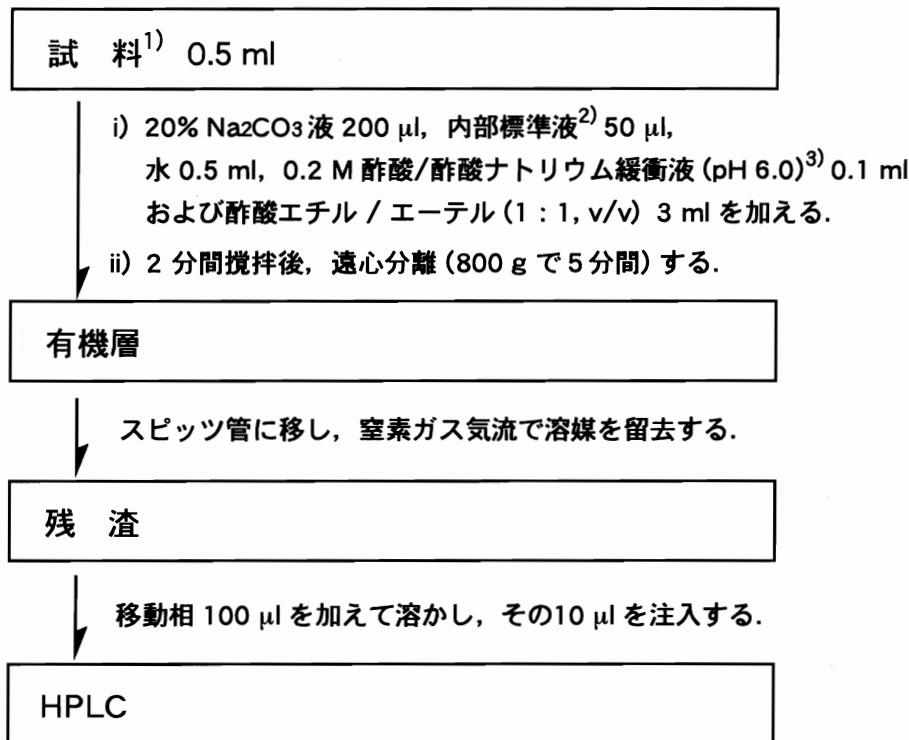


4. 催眠薬

A. バルビツール酸系催眠薬

(1) 高速液体クロマトグラフィー (HPLC)

i) 前処理



【注 解】

- 1) 試料は血液, 尿など. 臓器は, 細切りした組織 1 g に水 4 ml を加え, ホモジナイズし, 遠心分離 (12,000 g で 10 分間) し, 上清 1 ml を取り, 液体試料の測定法と同様に操作する.
- 2) 内部標準液は 5-(4-メチルフェニル)-5-フェニルヒダントインをメタノールに溶かし, 10 µg/ml の溶液とする.
- 3) 酢酸ナトリウムの 16.41 g/l 水溶液を調製し, 0.1 N 酢酸で pH を 6.0 に調整する.
- 4) 検量線は各催眠薬をメタノールに溶かし, 10 µg/ml の濃度にする. このメタノール溶液 (例えば 10, 25, 50, 100, 500, 1000 µl) を取り, 窒素ガスで溶媒を留去し, 残渣に血清 0.5 ml を加えたものを用いる.

ii) HPLC の条件

装置	: 高速液体クロマトグラフ
検出器	: 紫外可視検出器
カラム	: ODS-80Ts ¹⁾ , 10 cm x 4.6 mm i.d., 粒径 2 µm ²⁾
カラム温度	: 室温
移動相	: アセトニトリル/8 mM リン酸 (3 : 7, v/v)
流速	: 0.4 ml/min
測定	: 波長 215 nm ; 時間 約 25 min

【注 解】

- 1) カラムは Zorbax ODS, Hypersil ODS などの ODS (オクタデシルシラン系シリカゲル) 同等品で代替できるが、保持時間が異なってくる。
- 2) 粒径 5 μm の充填剤が一般によく用いられるが、この場合は保持時間が長くなるので注意。
- 3) 試験液 10 μl を高速液体クロマトグラフに注入し、得られたクロマトグラムを標準液のそれと比較し、標準液から作成した検量線によって定量を行う。定量範囲は 0.1-5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ である。
- 4) 催眠薬の保持時間および検出限界を表 1 に示す。また、血液からの回収率はすべて 95-104 % の範囲にある。本法による尿分析では、保持時間 10 分位までは尿成分の妨害ピークが出現するので、保持時間の短い薬物は分析できないことがある。定量範囲は 0.1-5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ である。
- 5) 本法では pentobarbital, hexobarbital, amobarbital のピークはほぼ重なるので注意。

表 1. 主なバルビツール酸系催眠薬の保持時間および検出限界

化 合 物	保持時間 (分)	検出限界 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)
Barbital	3.8	0.05
Allobarbital	5.1	0.05
Metharbital	5.9	0.05
Phenobarbital	6.1	0.05
Cyclobarbital	7.1	0.05
Pentobarbital	10.6	0.05
Hexobarbital	10.6	0.05
Amobarbital	10.9	0.05
Secobarbital	14.2	0.05
Thiopental	21.8	0.5

【文 献】

1. Tanaka E et al. Forensic Sci Int 1997 ; 85 : 73-82.