

氏名（本籍）	笹 島 康 秀（岐阜県）
学 位 の 種 類	博 士（工学）
学 位 授 与 番 号	甲第 400 号
学 位 授 与 日 付	平成 23 年 3 月 25 日
専 攻	物質工学専攻
学 位 論 文 題 目	Simultaneous determination of antidepressants by non-aqueous capillary electrophoresis (非水系キャピラリー電気泳動を用いた抗うつ薬の一斉分析)
学位論文審査委員	(主査) 教授 額 額 守 (副査) 教授 松 居 正 樹 教授 竹 内 豊 英

論文内容の要旨

抗うつ薬は、うつ症状の改善を目的とした薬であるが、近年うつ病患者の増加に伴って、抗うつ薬の服用も増加してきている。薬物による事故や事件が発生した場合には、まず摂取した薬物の種類を特定することが必要である。現在市販されている簡易検査キットで、様々な薬物のスクリーニングが可能である。簡易検査キットの中には、イムノアッセイを用いたものもあり、ある程度の種類を特定することが可能である。しかしながら、抗うつ薬に対しては、有効なスクリーニング検査キットが存在しない。そのため、抗うつ薬の迅速な定性・定量手法を確立することが必要になってくる。本研究の目的は、生体試料中の抗うつ薬の一斉分析法の開発である。法科学的に見ても、医療の点からみてもこれは、非常に重要な課題である。

今回ターゲットとした抗うつ薬は、アミトリプチリン、イミプラミン、クロミプラミン、ロフェプラミン、ノルトリプチリン、トリミプラミン、デシプラミン、アモキサピン、マプロチリン、ミアンセリン、セチプチリン、フルボキサミン、パロキセチン、セルトラリン、シタロプラム、フルオクセチン、ミルナシبران、ベンラファキシン、スルピリド、トラゾドンの 20 種類である。今回選んだ分析対象物には、三環系抗うつ薬、四環系抗うつ薬、選択的セロトニン再取り込み阻害薬(SSRI)、セロトニン・ノルアドレナリン再取り込み阻害薬(SNRI)とその他の抗うつ薬が含まれ、簡易検査キットを用いたスクリーニングに変わる分析方法の開発を目指した。つまり、抗うつ薬を一度の測定でできるだけ迅速に分離検出することである。研究には、キャピラリー電気泳動装置:HP^{3D}CE (Agilent 製)もしくはキャピラリー電気泳動質量分析装置:P/ACE システム MDQ (Beckman Coulter 製)、microTOF II (Bruker Daltonics 製)の市販装置を用いた。

第二章では、キャピラリー電気泳動による抗うつ薬の一斉分析について、泳動条件やモードの最適化を図った。まず、通常の電気泳動条件と、界面活性剤もしくは有機溶媒を添加した場合との分離挙動の違いを調べた。界面活性剤には、陰イオン系界面活性剤と陽イオン系界面活性剤を用い、有機溶媒については、UV 吸収の少ないメタノール、イソプロパノール、アセトニトリルを用いた。泳動液に有機溶媒のみを用いる非水系キャピラリー電気泳動(NACE)を使って良好な結果が得られることを見出した。さらに、NACE に少量の溶媒を添加することによって、選択性を変化させることができた。また、生体試料(血漿)の前処理方法についても検討を行い、NACE を用いた血漿試料中の抗うつ薬の一斉分析の手法を確立した。

第三章では、質量分析計を検出器として導入し検討を行った。フォトダイオードアレイを用いた検出では、光路長が短く検出感度が乏しいことと抗うつ薬の吸収スペクトルが似ているため定性能力が少し弱いという欠点があるが、質量分析計では、検出感度の向上とマススペクトルによる識別が期待できるとして導入を検討した。さらに、飛行時間型質量分析計を用いることによって精密質量を測定できることから、精密質量によって分子式の異なる化合物を見分けることができることを見出し、定性能力を格段に向上させることに成功した。また、マスキロマトグラムによる解析では、S/N 比が向上されるため、検出感度についても非常に良い値を得た。

第四章では、本研究の今後の展望を示した。NACE でのさらなる感度向上の手段と生体試料の前処理法の簡略化について考察した。感度向上については、試料を濃縮する方向からのアプローチを考え、生体試料の前処理法については、試料量をできるだけ少量に抑える方法について提案することができた。

本研究で開発した NACE を用いた抗うつ薬の一斉分析法は、法科学の分野において、これまでに存在したスクリーニング方法に比べても、メリットが多く、抗うつ薬の種類を特定することが可能となり、検出感度も格段に良くなった。分析時間については、薬物スクリーニング検査キットと比較すると若干長いものの、キャピラリーのコンディショニングに要する時間を含めて考えると、液体クロマトグラフィーなどの機器分析と比べて早く分析することに成功した。これらのメリットから、本研究方法が今後の抗うつ薬

の一斉分析に大いに役立つと考えられる。さらに、NACE を用いた一斉分析は、抗うつ薬に限らずその他の薬物にも適応できる可能性を持っている。この世に存在する薬物の多くは、疎水性が高い化合物が多い。それらの疎水性薬物に対しては、これまで、キャピラリー電気泳動の分離能力の高さは、魅力的であったにもかかわらず、適応することが難しかった。しかし、本研究で開発された方法は、疎水性薬物に対して非常に有効な手段であることが実証できた。今後は、その他の薬物に対しても、NACE を用いた一斉分析方法が適応できる可能性は十分にある。そのことから、本研究をさらに応用して研究することにより、これからの法科学の分野における分離分析に、大きな発展が期待できる。

論文審査結果の要旨

近年、うつ病患者の増加に伴って、抗うつ薬の服用も増加してきている。薬物による事故や事件が発生した場合には、まず摂取した薬物の種類を特定することが必要である。現在市販されている簡易検査キットでは、ある程度の種類を特定することが可能であるが、抗うつ薬に対して、有効なスクリーニング検査キットが存在していない。そのため、抗うつ薬の迅速な定性・定量手法を確立することが必要になっている。本論文は、非水系高分離能キャピラリー電気泳動の特長を活かし、数多く存在する抗うつ薬の一斉分析法の開発と高感度化を図ったもので、以下に示すように法科学的あるいは医療の点において重要な研究結果を含んでいる。

本論文は、キャピラリー電気泳動による抗うつ薬の一斉分析を可能とするために、泳動条件やモードの最適化を図っている。具体的には、界面活性剤や有機溶媒の添加効果について詳細に検討し、メタノール、イソプロパノール、アセトニトリルなどの有機溶媒を泳動液として用いる非水系キャピラリー電気泳動により抗うつ薬 20 成分の一斉分析が可能であることを示している。はじめに、操作が簡易なフォトダイオードアレイ UV 吸収検出器を使用し、検出セル光路長の増大により検出感度の改善が可能なことを確認している。また、生体試料(血漿)の前処理方法についても検討を行い、非水系電気泳動を用いた血漿試料中の抗うつ薬の一斉分析の手法を確立している。

さらに、飛行時間型質量分析計を検出器として導入することにより、従来から使用されているフォトダイオードアレイ UV 吸収検出器の欠点であった低い感度および定性能力の改善を図っている。研究では、非水系電気泳動と質量分析計の直結における様々な問題を克服し、安定したデータの取得に成功している。その結果、飛行時間型質量分析計を用いることによって精密質量の測定が可能となり、定性能力を格段に向上させることに成功し、マスキロマトグラムの解析により検出感度を大幅に改善できることを示している。

本論文は、上述のように抗うつ薬の高感度一斉分析において非常に有効な手段を提供している。今後、本法が各種疎水性薬物の高感度分析に適応され、法科学や医療の分野において利用されることが期待される。

発表論文リスト (学位論文に直接関係する論文)

1. Simultaneous determination of antidepressants by non-aqueous or quasi-non-aqueous capillary electrophoresis: Y. Sasajima, L. W. Lim, T. Takeuchi, K. Suenami, K. Sato, and Y. Takekoshi, *Anal. Sci.*, **26**, 693-698 (2010).
2. Simultaneous determination of antidepressants by non-aqueous capillary electrophoresis-time of flight mass spectrometry: Y. Sasajima, L. W. Lim, T. Takeuchi, K. Suenami, K. Sato, and Y. Takekoshi, *J. Chromatogr. A*, **1217**, 7598-7604 (2010).

最終試験結果の要旨

3名で構成する審査委員会は、本論文および論文別刷り等を慎重に検討した結果、提出された論文別刷り 2 編は国内外の英文論文誌に掲載されており、2 編とも申請者が各論文の主要な部分に携わっている。また、本論文は学位論文として十分に完成された内容を有していることを確認した上で、最終試験(公聴会)を開催し審査した結果、合格と判定した。

なお、審査委員会は、各既発表論文を申請者の学位論文の主論文とすることについて、各論文共著者の承諾があることも併せて確認している。