

機関番号：10107

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2010

課題番号：21791428

研究課題名（和文）

デクスメデトミジン血中濃度測定法の確立

研究課題名（英文）

establish method of measurement for plasma concentration of dexmedetomidine

研究代表者

黒澤 温（KUROSAWA ATSUSHI）

旭川医科大学・医学部・助教

研究者番号：30463756

研究成果の概要（和文）：

鎮静薬として用いられるデクスメデトミジンの血中濃度測定法の確立を行った。陰イオン化学イオン化法を用いてデクスメデトミジンの抽出法を確定した。内部標準物質としてジアゼパムが有効であることを確認した。検量線の作成、バリデーションを行い、GC-MS を用いてのデクスメデトミジンの定量化を確立した。

研究成果の概要（英文）：

We established the method for measurement of plasma concentration of dexmedetomidine, a sedative medication widely used by intensive care units in Japan. We extracted dexmedetomidine with gas chromatography-negative ion chemical ionization mass spectrometry. The quantification of dexmedetomidine became possible by this method with diazepam as internal standard substance.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	500,000	150,000	650,000
2010 年度	200,000	60,000	260,000
年度			
年度			
年度			
総計	700,000	210,000	910,000

研究分野：医師薬学

科研費の分科・細目：麻酔・蘇生学

キーワード：麻酔学,

1. 研究開始当初の背景

デクスメデトミジンは、鎮痛作用を有する鎮静薬として集中治療領域で有効な薬物である。研究開始当初は、保険適応として集中治療において1日の使用しか認めていなかったが、長期投与の臨床試験が終了し、適応

拡大を申請している時期であった。適応拡大が認められれば、今後その使用頻度が著しく増加することが予想された。デクスメデトミジンは、呼吸抑制にほとんど影響を及ぼさないなどの薬物的特徴から、集中治療領域以外でも、様々な領域での有用性が報告されてい

る。

静脈麻酔薬の薬物方法は、薬物動態シミュレーションを基に血中濃度・効果部位濃度を指標とした投与法に移行している。さらに投与速度をコンピューターで制御することによる Target-controlled infusion が、麻酔領域で発展し続けている分野である。麻酔の中心的な薬物であるプロポフォールでは、Target-controlled infusion を行なうために、専用のシリンジポンプが商用化（テルモ社製、テルフュージョン TCI ポンプ TE-371）されている。デクスメデトミジンは、半減期が比較的長い薬物であり、その投与には、Target-controlled infusion を用いることが有用であると考えられた。

我々の施設では、倫理委員会の承認のもと、デクスメデトミジンにおける薬物動態シミュレーション（PKS）、Target-controlled infusion を行い、さまざまな環境においてデクスメデトミジンの投与を行っていた。デクスメデトミジンの薬物動態シミュレーションは、概ね期待する結果を得ることが可能となった。次に残された課題は、実測を行い、シミュレーションの整合性を証明し、日本人における薬物動態を確立することに終始するとの考えに至り、血中濃度の実測に関する研究を開始した。

デクスメデトミジンの血中濃度の測定は、プロポフォールやフェンタニルの測定に使用される高速液体クロマトグラフでは困難であり、質量分析装置（MS: mass spectrometry）を備えたガスクロマトグラフ（GC）-MSまたは、液体クロマトグラフ（LC）-MSが必要となる。古くは Vuorilehto L が GC-MS を用いた定量化を報告（J Chromatogr. 1989.282）しているが、これに利用される内部標準物質「Detomidine」の入手は容易でなく、田中らは、ミダゾラムを内部標準物質として、LC-MS を利用した測定法を紹介した（Tanaka et al. Anesth Analg 2005; 100:687-96）。われわれはこれを応用し、GC-MS での定量化を目指した。

2. 研究の目的

本研究の最終的な目的は、デクスメデトミジンの定量法の確立を行い、日本人における血中濃度を予測するパラメータの解析を行うことである。今回の研究期間の主題は、GC-MS を利用してデクスメデトミジンの血

中濃度測定を可能とすることである。

本研究期間の目的は、（1）デクスメデトミジンの構造式に着目し、陰イオン化学イオン化法を用いて、デクスメデトミジンの抽出法を確立する。（2）「Detomidine」に替わる内標準物質を決定する。デクスメデトミジンの抽出条件で有機層に移動し、同じ GC-MS 条件で検出できる内部標準物質の同定と条件を制定することが必要である。内部標準物質として、ミダゾラム、ジアゼパムなどを検討する。（3）デクスメデトミジンの検量線を作成する。（4）本手法が信頼性のあるものであることを証明するため、検出限界や真度・精度を求めバリデーションを行う。ことである

3. 研究の方法

<平成 21 年度>

（1）デクスメデトミジンの抽出法の確立
Vuorilehto らの方法を参考に行った。誘導体化を行うことで、GC-MS に注入することが可能となるため、誘導体化試薬は、0.5%pentafluorobenzoyl chloride (PFB-CL) ヘキサン溶液を利用した。有機層に移動されたデクスメデトミジンを GC-MS に注入するために乾燥・乾固が必要となるが、これらの抽出過程における時間・条件等の検証を行い、デクスメデトミジン濃度測定の初期段階を確立を行った。

（2）内部標準物質の決定

内部標準物質としては、田中らが LC-MS に用いたミダゾラムと、同様の構造を有したジアゼパムを用いて検討した。今回検討した GC-MS は以下のとおりである。GC-MS は HP5890Series II GC、HP5989MS Engine を利用し、システムコントローラとして MS Chemstation を使用した。注入法はスプリットレス法を利用し注入温度は 250℃とした。カラムは retention gap、5m × 0.25 μ (Alltech Associates, Deerfield, IL) を用い、カラム温度は初期 0.5 分で 100℃として 12.7 分で温度を 275℃まで上昇させた。移動相には、ヘリウム (1.3mL/min) を利用し、検出器は HP5989MS Engine を利用し、検出器温度は 275℃に設定した。

（3）デクスメデトミジンの検量線の作成
数種類のデクスメデトミジン標準溶液を準

備し、GC-MS のピーク面積を計算し、回帰直線を決定し相関係数を算出した。初めに、0.1, 1.0, 10 ng/mL のデクスメデトミジン標準溶液を利用し簡易的な回帰直線を作成し、その後、デクスメデトミジン標準溶液の濃度を増やし正確な検量線の作成を行った。

<平成 22 年度>

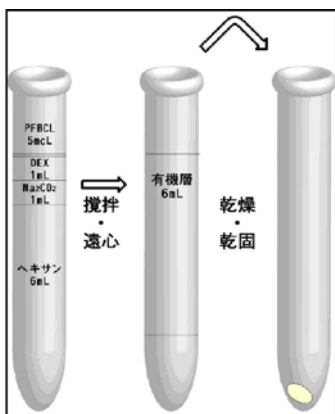
(4) 本手法のバリデーション

バリデーションは通常的手法を用いた。低濃度のデクスメデトミジン標準溶液を作成し、本手法による検出限界を決定した。また各種デクスメデトミジン標準溶液を数本準備し、真度 (回収率)・精度 (回収率の RSD) を算出した。具体的には、デクスメデトミジン 10ng/mL, 1ng/mL, 0.1ng/mL などの濃度の異なる標準溶液について、繰り返し測定を行った。これらの値の平均値や標準偏差を算出し再現性の評価を行った。

4. 研究成果

(1) デクスメデトミジンの抽出法の確立

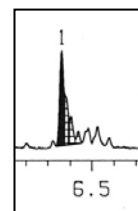
11mL スクリュー付き試験管に、デクスメデトミジン (DEX) を 1mL に希釈し、1M 炭酸水素ナトリウム 1mL にてアルカリ化した。誘導化試薬としてヘキサン 7mL、PFBCl 5mL を注入し、常温で攪拌・遠心を行い有機層と無機層に分離した。この過程によりデクスメデトミジンが有機層に移動することが確認できた。GC-MS に注入するために、デクスメデトミジンの乾燥、固定を遠心エバポレータを用いて行った。遠心エバポレータの設定は、遠心力 2,000G, 25°C, 1 時間の条件で行った。Vuorilehto らの現法と比較し、遠心エバポレータを利用した場合の効率は良く、同等の効果が得られることが確認できた。



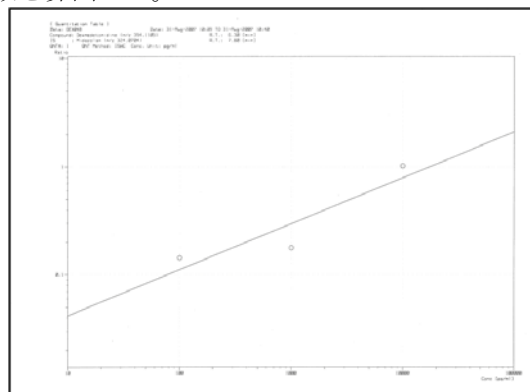
(2) 内部標準物質の決定

内部標準物質としてミダゾラム、ジアゼパムとも、デクスメデトミジン測定と同条件で検

出が可能であり、内部標準物質としての利用が可能であることが確認できた。しかし、ミダゾラムの場合、クロマトグラフィにて tailing を来してしまい、精度は十分とは言えなかった。ジアゼパムは、tailing もせず、精度も良好であった。内部標準物質としての精度を保ったジアゼパムの検出可能な濃度は 2mcg/mL であった。



(3) デクスメデトミジンの検量線の作成
デクスメデトミジン標準溶液を数種類準備し (0.1, 0.5, 0.7, 1.0, 10ng/mL)、GC-MS のピーク面積を計算し、回帰直線を決定し相関係数を算出した。



(4) 本手法のバリデーション

検出限界として、30pg/mL 濃度のデクスメデトミジンを検出することが可能であった。回収率は 96.0-104.7%、RSD は 2%以下であり、良好な真度と精度を確認した

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 3 件)

Kunisawa T, Kurosawa A, Hayashi D, Suzuki A, Takahata O, Iwasaki H. Importance of model fitting when a non-commercial TCI system was used: taking Kataria's parameter as an example. J Anesth. 2011 Apr;25(2):314-5.

Kunisawa T, Hanada S, Kurosawa A,

Suzuki A, Takahata O, Iwasaki H.
Dexmedetomidine was safely used for
sedation during spinal anesthesia in a very
elderly patient.
J Anesth. 2010 Dec;24(6):938-41.

Hayashi D, Kunisawa T, Kurosawa A,
Nagashima M, Takahata O, Hiroshi I.
Effect of the initial loading dose of
dexmedetomidine on hemodynamics in
pediatric patients undergoing cardiac
surgery
Masui. 2010 Mar;59(3):362-5.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

黒澤 温 (KUROSAWA ATSUSHI)
旭川医科大学・医学部・助教
研究者番号：30463756

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：