

物を指定されることが多い。そこで今回も急性中毒という想定に基づき、中毒患者の症状を検査試料送付時に添付資料として同封した。この資料の作成にあたっては、実際に、ある市中の病院から広島大学医学部法医学講座に分析依頼のあった事例を参考にした。

本来、検出された中毒原因物質の定量値と臨床症状との相関まで考慮し、中毒原因物質を推定（ならびに特定）するべきであるが、今回は、検出された中毒原因物質の定量値と臨床症状との相関が有るか否かは、論点とせず、実際の中毒例においても、このような形で依頼分析のあることを御了解いただきたい。ちなみに、ここまで丁寧に臨床症状や原因と思われる薬物名を明記して依頼されてくるケースは稀である。

#### 4. 本トライアルの募集方法

本トライアルの企画は、前回と同様にインターネット（広島大学医学部法医学講座にて主催しているメーリングリスト）および企業主催のセミナーで参加者を募ることに加え、厚生労働省（当時、厚生省）の予算において分析機器を配備した高度救命救急センター、救命救急センターのセンター長および分析担当者宛にトライアルの企画主旨参加依頼を送付し、トライアル参加に依頼を行った。

募集期間は1ヶ月間とし、締め切り間近には再度参加の依頼を行った。

#### 5. 結果および考察

薬毒物検査トライアルの参加者は、43名であり、40名より何らかの検査結果が返送された。返送結果をもとに、血清中、尿中薬物の定量値ならびに同定・定量方法をまとめた（Table 1~15）。予めヒト血清に添加した薬毒物（ジアゼパム）を定量できたと25名（62.5%）から報告を受けた。しかし、その中にはトリアゾラムを定量していた結果もあった。尿中の代謝物を検出したという結果を返送してきた参加者は8名のみであった。血清中のジアゼパムを同定、定量している参加者は多かったが、尿中の代謝物を同定している参加者は少なかった。以前のアンケート調査で、多くの参加者がベンゾジアゼピン系薬物の分析を希望されていたが、思った以上に苦慮されたと考える。中でも標準品が入手できないために定量を断念された参加者も多いことが示唆された。本検討は、ジアゼパムの代謝物限らず、標準品の供給体制の整備が切望された事例でもあった。

今回の大きな目的は、薬毒物の代謝経路を把握し、代謝物を如何に（前処理を含めて）すれば生体成分から単離し、機器分析できる状態になるかを会得することである。各参加者なりの操作マニュアルを作成し、一層薬毒物分析のノウハウが蓄積されるものと期待する。しかし、参加者各人が独自で分析法を蓄積することは非常に困難であり、今後も継続してこのようなトライアルを行うことが重要であると考えられる。参加者の大半も継続してこのようなトライアルの実施を要望しており、重要性が認識された。また、実施するのみではなく、実際に中毒事例に直面した場合、即座に相談、質問できる体制を整えることも今後の課題である。

また、新しい試みとして、トライアル実施中にインターネットを利用できる環境を整え、疑問が生じた時点での活発な質疑応答を期待したが、数名からの質問があっただけであった。質問の必要もなく熟知しているのかと思ったが、課題（標準品の入手など）を抱えている参加者が多いようであった。トライアルという性質上、質問しにくかったのかもしれないが、より積極的に情報を収集する姿勢をとるべきではないかと考えさせられた。

(トライアルの募集)

平成 13 年 7 月 31 日

薬毒物検査トライアルについて

本メールは、Poison ML ならびに Anal ML に送信しております。両 ML に登録されている方には同じメールが送信されますが、御容赦願います。

一昨年より広島大学医学部法医学教室主催で薬毒物検査トライアルと称して、薬物を添加した生体試料を配布して試料中の薬毒物を分析(同定・定量)する企画を実施しております。第一回目はバルビツール酸類、第二回目は農薬を市販の血清に添加した試料から薬毒物を分析(同定・定量)していただきました。参加者も病院の検査部や薬剤部、大学、衛生試験所など薬毒物分析に携わる幅広い分野に及んでおりました。トライアル終了後も参加者の皆さんからトライアルの継続実施の御要望がありましたので、今回もトライアルを企画しました。

当初、法規制薬物(覚せい剤類)を企画して各関係機関の方々から御助言を頂きましたが、検体の搬送など現行の法律では種々の問題が回避できなかつたため断念せざるを得ませんでした。そこで今回は、“医療機関などで遭遇する機会が多い医薬品”の中毒を想定して薬毒物検査トライアルを実施したいと考えております。検査試料は9月上旬に配布し、10月中旬に検査結果を提出していただく予定です。この予定は変わることがありますので御了承ください。

参加費は無料です。参加は個人であり、所属機関ではありません(一機関から複数人お申込み頂いても結構です)。また、検査結果は登録番号で集計し、個人名は公表しません。

このMLの皆さんでトライアルに参加を希望される方は下記(申込用紙)の項目に必要事項を記入して、可能な限り E-mail にてお申込み下さい(FAXでも可)。subject は、“トライアル参加申し込み”として下さい(準備の都合上、8月31日までに御送付願います)。多くの参加を望んでいます。なお、お申込み頂きました参加者には追って詳細をお知らせします。

申込先:

〒734-8551

広島市南区霞一丁目2番3号

広島大学医学部法医学教室

西田まなみ

FAX:082-257-5174

E-mail:nishidam@hiroshima-u.ac.jp

-----ここから申込用紙-----

広島大学医学部法医学教室

西田まなみ 行

FAX: 082-257-5174

E-mail:nishidam@hiroshima-u.ac.jp

申 込 書

薬毒物検査トライアルの趣旨を認め、下記の通り参加します。

所属機関名：

部署（科）：

担当者名：

住 所：

電話番号：

FAX 番号：

E-mail：

（連絡はメールで行う予定です）

備考欄：

-----ここまで-----

## 薬毒物トライアルの概要ならびに諸情報

今回は、皆さんからの御要望が多かった眠剤についてです。

### 1. 概要：

28歳、女性。

某日、20時頃に薬物を飲むと友人宅へ電話があった。

同日 22 時頃、友人が自宅を訪ねたところ、ベッドに寝ていた。何度呼んでも起きないため、119 番通報し、近医へ搬送された。

患者の部屋からは、ベンゾジアゼピン系の薬物の飲み後が発見され、患者から採取された尿を Triage で検査した結果、ベンゾジアゼピン系薬物に陽性反応が認められた。

### 2. 同封している検査試料：

1. 標準薬物添加血清 ・ ・ ・ ・ ・ 血清（表示ラベル） 1本
2. 薬物服用者の尿 ・ ・ ・ ・ ・ 尿（表示ラベル） 2本

標準薬物添加血清および薬物服用者の尿中の薬物（定量値）を検査して下さい。

### 注意：

- 1) 今回の血清は、市販のヒト血清を使用しましたが、感染等には十分注意して下さい。
- 2) 標準薬物添加血清には、実際の患者の事例を参考にして薬物を添加しております。
- 3) 青酸やヒ素などの無機薬毒物は、検査対象から除いて下さい。
- 4) フタル酸エステルなどの可塑剤由来やカフェインなどの嗜好品由来の化合物は、検査対象から除いて下さい。

### 3. 分析結果の記載方法についての注意事項

分析結果は、次ページに添付しているフォーマット（分析結果返送用）を使用して下さい。

記載方法は、以下の例に示したように、標準薬物添加血清および薬物服用者の尿から検出した薬物名、その薬物の定量値、薬物の同定に至るまでの予試験、前処理方法（具体的に）、定性方法（具体的に）、定量方法（具体的に）、定量分析時の内部標準物質の有無（化合物名：）を検査試料別に記載して下さい。（具体例を明示したくない場合は記載されなくても結構ですが、可能な限り記載することに御協力下さい）

予試験、前処理方法（具体的に）、定性方法（具体的に）、定量方法（具体的に）についても記載して下さい。予試験などの記載選択枝を添付しておりますので、記載する際の参考にして下さい。

1. 検出した薬物名

a ; 定量値

b ; 予試験 (具体的に)

c ; 前処理方法 (具体的に)

d ; 定性方法 (具体的に)

e ; 定量方法 (具体的に)

f ; 定量時の内部標準物質の有無 (化合物名 : )

例 :

検査試料 : 標準薬物添加血清

1. メタンフェタミン

a ; 1.2  $\mu$ g/ml

b ; Triage

c ; Sep-Pak を使用、TFA にて誘導体化

d ; full scan にて分析し、mass fragmentation にて同定

e ; SIM にて定量

f : 有 (d 5-アンフェタミン)

検査試料 : 薬物服用者の尿

1. メタンフェタミン

a ; 13  $\mu$ g/ml

b ; Triage

c ; Sep-Pak を使用、TFA にて誘導体化

d ; full scan にて分析し、mass fragmentation にて同定

e ; SIM にて定量

f : 有 (d 5-アンフェタミン)

2. アンフェタミン

a ; 1.0  $\mu$ g/ml

b ; Triage

c ; Sep-Pak を使用、TFA にて誘導体化

d ; full scan にて分析し、mass fragmentation にて同定

e ; SIM にて定量

f : 有 (d 5-アンフェタミン)

トライアル番号：\_\_\_\_\_

＜分析結果返送用＞

#### 分析結果

中毒患者の検査血清より、以下の薬物が検出されました。

（複数の薬物が検出された場合には、検出できた薬物の数だけ“検出した薬物名”を各自で増やし、各検出した薬物名ごとに定量値などの記載事項を記入して下さい）

検査試料：標準薬物添加血清

- 1.
- a;
- b;
- c;
- d;
- e;
- f;

検査試料：薬物服用者の尿

- 1.
- a;
- b;
- c;
- d;
- e;
- f;

・今回のトライアルについての御感想、御意見、コメントなどをお聞かせ下さい。

・その他、分析を行う上での問題点など、御意見をお聞かせ下さい。

・最後に

- 1) 貴機関での分析機器の配備は、昨年度の厚生省の予算によるものですか。
  1. はい
  2. いいえ
- 2) 機器の配備後、救急などから薬毒物の検査依頼はありましたか。
  1. はい
  2. いいえ

3) 今後もこのようなトライアルに参加してみたいですか。

1. はい
2. いいえ

#### 予試験、前処理方法、定性方法、定量方法の選択枝

##### ・予試験

- 1 : 呈色反応 (塩化第二鉄反応、ドラーゲンドルフ反応、シモン反応など)
- 2 : 免疫的検査法 (Triage、Visualine など)
- 3 : 酵素的検査法 (コリンエステラーゼ阻害反応 など)
- 4 : 自動分析装置 (acaSX、TDX、REMEDi など)
- 5 : その他 (Toxi-Lab、GC/MS、HPLC/MS など)

##### ・前処理方法

- 1 : 沈殿法による除蛋白 (有機溶剤や無機塩を使用)
- 2 : 限外濾過法
- 3 : 液液抽出
- 4 : 固相抽出
- 5 : 固相マイクロ抽出
- 6 : 誘導体化
- 7 : その他

##### ・定性方法、定量方法

- 1 : 薄層クロマトグラフ (TLC)
- 2 : ガスクロマトグラフ (GC)
- 3 : 高速液体クロマトグラフ (HPLC)
- 4 : イオンクロマトグラフ (IC)
- 5 : 質量分析計 (直接導入法) (MS)
- 6 : ガスクロマトグラフ/質量分析計 (GC/MS)
- 7 : 高速液体クロマトグラフ/質量分析計 (HPLC/MS)
- 8 : キャピラリー電気泳動 (CE)
- 9 : 蛍光X線分析装置
- 10 : 原子吸光光度計
- 11 : ICP 発光分析計
- 12 : ICP/質量分析計
- 13 : その他



Table 1 血清中薬毒物の定量値

番号	同定した化合物	定量値	予試験	前処理方法	内部標準物質
1	ジアゼパム	6352ng/ml		Extrelut NT1を使用	クロルアゼボキサイド
2	ピテルタノール	定量不能		限外濾過法	
3	ジアゼパム	15 $\mu$ g/ml	Triage	液液抽出	ブラゼパム
4	ジアゼパム	6.425 $\mu$ g/ml		試料0.5mlを0.5Mリン酸で4倍希釈。NEXUSにロード。1ml/アセトニトリルにて溶出。窒素還流(50度)で乾固後アセトニトリルで再溶出。5倍濃縮	セルシンの散剤10mg/gのものをMeOHで溶解。1mg/mlの溶液にし、10000回転10分の遠心。上清を希釈して。標品としました。最初の段階での溶出が100%と仮定して上での定量です。
5	ロラゼパム	定量値は不可	トライエージ ベンゾジアゼピン系が陽性にできました。他の定性試験は実施しておりません		
6	diazepam	9.0 $\mu$ /ml		HP LC-NEXUS GC/MS-Elut Centify	
7	ジアゼパム	10 $\mu$ g/ml		アセトニトリルで除蛋白	
8	Diazepam	5.5 $\mu$ g/ml	限外ろ過後、Triage8	アルカリ性クロロホルム液液抽出	Bromazepam
9					
10	ジアゼパム	75.2 $\mu$ g/ml		OasisHLB(waters)	
11	ジアゼパム	7.610 $\mu$ g/ml		アセトニトリルによる除タンパク	クロチアゼパム
12	トリアゾラム	6.0 $\mu$ g/ml	Triage	固相抽出 (NEXUSカ-リッジ)	
13	トリアゾラム	5.9 $\mu$ g/ml	Triage	absolut NEXUS カ-トリッジ使用	
14	D i a z e p a m	8.43ug/ml	Triage 8 および R E M E D 1	試料0.5mlに内部標準液25ulと飽和炭酸水素ナトリウム0.5mlを加えて混和さらに、食塩0.25gとトルエン2mlを加え、振とう後遠心。有機層を濃縮乾固。残差をトルエン30ulで溶解し、1ulをGCMSに注入	Flumitrazepam20ug/ml液サイレース錠を使用

Table 2 血清中薬毒物の定量値

番号	同定した化合物	定量値	予試験	前処理方法	内部標準物質
15					
16	Diazepam	測定できず	尿のトライエージによる定性であったりをつける	アセトニトリルの倍量による除蛋白	
17	Diazepam	6.8 $\mu\text{g}/\text{mL}$	Triage	アセトニトリルによる除蛋白	ニトラゼパム
18	ジアゼパム	223 $\text{ng}/\text{mL}$		c-1; 定性分析の場合は、Sep-Pakにより抽出、MeOHで溶出し、誘導体化せず試料とした。c-2; 定量分析の場合は、内部標準を加えた後、除蛋白処理し試料とした。	
19	Diazepam	7.974 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (7974 $\text{ng}/\text{ml}$ )		Oasis HLB固相抽出カートリッジ 60 $\text{mg}/3\text{cc}$ で抽出	
20	ジアゼパム	11.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$		(旧)血清(または尿)を500 $\mu\text{l}$ 取り、アセトニトリル1000 $\mu\text{l}$ 加える。(旧)よく攪拌したのち、遠心分離器で分離し、その上澄液を取り出す。	
21					
22	ジアゼパム	7.4 $\text{ppm}$ ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	トライエージ+TCA	Oasis HLBゼネラルメソッドで抽出(血清は0.5 $\text{ml}$ 添加)	エチゾラム
23	ジアゼパム	7.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$	塩析液抽出後GC-FTDとHPLC-gradient(210 $\text{nm}$ , 240 $\text{nm}$ )にて検査	n-ブチルクロライドで液液抽出(誘導体化無し)	アルプラゾラム
24	ジアゼパム	9.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$		除蛋白(アセトン使用)、ネクサス(GL-サイエンス社)	
25	検体を室温に置いたため分解できないと連絡あり				
26	ジアゼパム	9.8 $\mu\text{g}/\text{ml}$		アセトニトリルによる除蛋白	
27	ジアゼパム		GC/MS	EXTrelute NTを使用	
28	ジアゼパム	13 $\mu\text{g}/\text{ml}$	Triage		
29	ジアゼパム	4980 $\text{ng}/\text{ml}$	Triage	液液抽出	エチゾラム
30	フェニトイン	定量出来ませんでした		沈殿法による除蛋白	

Table 3 血清中薬毒物の定量値

番号	同定した化合物	定量値	予試験	前処理方法	内部標準物質
31	ジアゼパム	定性までしかできませんでした。		沈殿法 (冷アセトニトリル)	
32	ジアゼパム	5.02 $\mu\text{g}/\text{mL}$		血清200 $\mu\text{L}$ にアセトニトリル400 $\mu\text{L}$ を加え、除タンパク	
33	ジアゼパム		Triage8	沈殿法による除蛋白 (アセトニトリル)	
34	ジアゼパム	定性のみ	尿試料による免疫的検査法 (Triage) の結果を参照	試料をpH9に調整し、エキストレルト (ケイソウ土カラム) に保持させ、酢酸エチルで溶出後、アセトンに転用、GC/MSにより同定	
35	ジアゼパム	定量分析はまだしておりません。	Triage	固相抽出 (Bond Elut Certify を使用)	
36	ジアゼパム	15.4 $\mu\text{g}/\text{ml}$		Waters製 OASIS HLBを用いて固相抽出	エスタゾラム (血清中エスタゾラム濃度が20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ になるよう添加した)
37	ジアゼパム	定性のみでやっています	Triage BZO(+)	アセトニトリルで除蛋白	
38				試料1ml、飽和NaHCO <sub>3</sub> 液1mlを加えて混和、NaCl0.5gを加えて混和後、トルエン3mlを加える。振盪後、遠心5分 有機層を窒素気流下で溶媒を留去 トルエン50 $\mu\text{L}$ に溶解。	
39	ジアゼパム			沈殿法による除蛋白 (血清200 $\mu\text{L}$ に冷アセトニトリル400 $\mu\text{L}$ を加え攪拌後、12000 rpmで3分間遠心分離し、その上清をサンプルとした。)	
40	できなかったと連絡あり				
41	ジアゼパム		コリンエステラーゼの測定	沈殿法による除蛋白 (アセトニトリルを使用)	
42	ジアゼパム	7.7 $\mu\text{g}/\text{ml}$		oasis HLBを使用	d5-ジアゼパム
43	トリアゾラム	22 $\mu\text{g}/\text{dl}$		アセトニトリルで除蛋白後遠心後上清をHPLC	ハルシオン

# 血清中ジアゼパムの定量結果

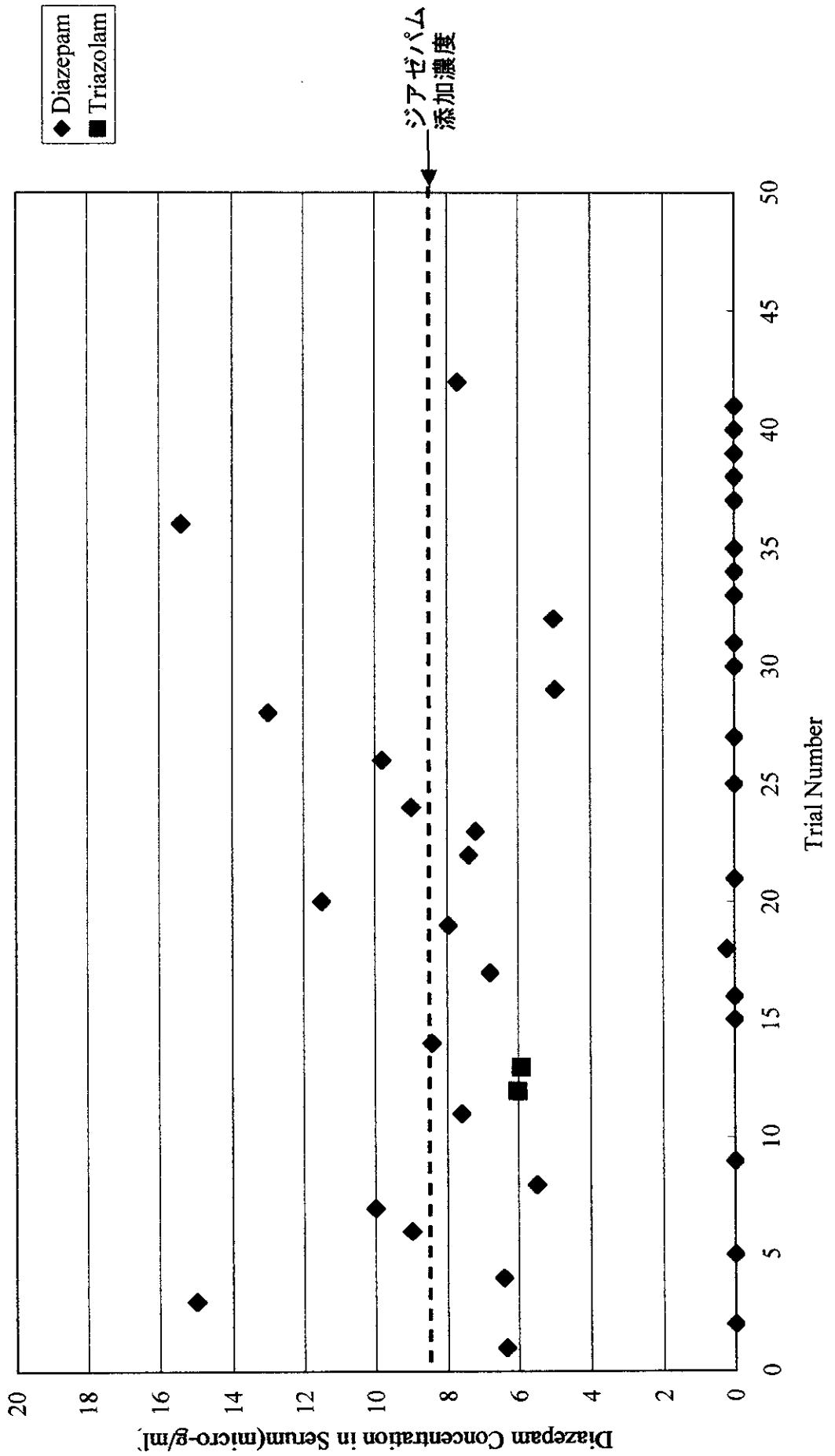


Table 4 血清中薬毒物の同定・定量方法

番号	同定方法	定量方法
1	GC/MS full scanにて分析し、mass fragmentationにて同定	HPLCにて定量
2	日立HPLCにて実施	日立HPLCにて実施
3	full scanにて分析し、mass fragmentationにて同定	GCにて定量
4	HPLC打ち込み量C；のサンプル2.0μl。CUT法(移動相A)ペンタンスルホン酸ナトリウム、3g+リン酸、13.5ml+ジエチルアミン、10ml/1L(精製水)移動相B)アセトニトリル(流量1ml/1min)カラム温度40度DAD200-400固定波長220nmグラジエント条件(分後)アセトニトリル(%) 10%□10 40%□15 60%□ 25 90%□35 100%	ジアゼパム/MeOH 100μg/ml・50μg/ml・25μg/mlで検量線 ジアゼパム100μg/ml/正常血清の内部標準を作成し、回収率算出し計算
5	島津HPLCの推奨方法にて分析をしました。□1)血清、尿とも冷アセトニトリルにて希釈後13000rpmにて遠心 2回希釈を実施 上澄みをHPLCにて分析 □血清 20ul 尿 10ul	
6	HPLC-LC-10Avp GC/MS-5050A full scanにて分析し、mass fragmentationにて同定	HPLC-外部標準法にて定量
7	HPLC フォトダイオードアレイ検出にてスペクトルを標準物質と照会	HPLC 絶対検量線法
8	GC/MS(EI法)にてフルスキヤン・マスアラゲメンテーションで同定	m/z 256を用いたSIMにて定量
9		
10	GC-MSを用いfull scanにて分析、mass fragmentationにて同定	SIMにて定量
11	HPLC: PDA検出器によるSpectrumをライブラリーと比較、同定	HPLC:210nmで外部標準物質との面積比から定量
12	HPLC UVスペクトル、RTにより推定	HPLC ピーク面積法
13	HPLCより得られたピークの保持時間及び吸収スペクトルをstdと比較	ピーク面積をstdと比較して計算
14	full scanにて分析し、mass fragmentation および リテンションインデックスにて同定	SIMにて定量(標準物質としてセルシン錠5mgのメタノール溶液を使用)
15		
16	トライエージ、HPLC	

Table 5 血清中薬毒物の同定・定量方法

番号	同定方法	定量方法
17	205-305nmの紫外部吸収を測定し、スペクトルのパターンと保持時間を付属のライブラリーと比較することにより同定	230nmでモニタリングし、同様にして得た標準品の検量線より定量
18	GC/MSを用い、full scanにて分析し、mass fragmentationにて同定した	HPLC (カラム：ODS、検出：A280nm、溶出液：リン酸/アセトニトリル系) を用い定量した。
19	GC/MS, HPLC	HPLC
20	HPLCにより標準品と比較	HPLCにより標準品と比較
21		
22	1 LC-MS (ESI, スキャン) □ コーン電圧30Vで分子量確認 □ コーン電圧60Vでマスパターンによる定性 □ 標品を用いて保持時間の確認 □ ダイオードアレイ検出器 (上記LC-MSと連動) □ 紫外吸収スペクトルによる確認	ダイオードアレイで定量
23	LC-MSにて分析し、保持時間とmass fragmentationにて同定	HPLC-UV検出器 (230 nm) にて定量
24	DAD (200-360) モニタ215nm スペクトル及びHRT時間の一致率にて同定	絶対検量線法にて定量
25		
26	HPLCで200~350nmの吸収スペクトルを付属のライブラリーとの比較によって同定	HPLCで230nmにおける標準物質 (ホリゾン注射液) との面積比による定量
27	GC/MS, full scanにて分析し、mass fragmentationにて同定	
28		
29	GC/MSを用いてfull scanにて分析し、mass fragmentationで同定	HPLCを用いて定量
30	高速液体クロマトグラフ (HPLC) 200~350nmの紫外部吸収を測定し、UV spectrumのパターンを付属のライブラリーと比較することにより同定	
31	HPLCでライブラリーと照合	
32	フォトダイオードアレイ検出器付きHPLCシステムにて、保持時間、スペクトルから同定	10μg/mLのジアセバム標準添加血清を同様に前処理し、ピーク高さから算出

Table 6 血清中薬毒物の同定・定量方法

番号	同定方法	定量方法
33	高速液体クロマトグラフ (HPLC) 島津、カラム: Develsoil ODS-UG-5	
34	full scanにて分析し、mass fragmentationをライブラリー検索	定性のみ
35	GC/MS EI法 (full scanにて分析し、mass fragmentationにて同定)	定量分析はまだしておりません。(GC/MS SIM法を使う予定です。)
36	HPLCで200~400nmの紫外部吸収を測定し、UVスペクトルパターンをシステム内のライブラリーにより同定した	HPLCで固定波長220nmで内部標準物質との面積比より定量した
37	高速液体クロマトグラフ (HPLC)	
38	full scanにて分析	
39	HPLC(LC-10ADvpシステム)により分析。Class-vp薬物分析ライブラリー検索にて、各ピークをライブラリー内の薬物と照合していった。結果、保持時間19.5分、類似度0.998でヒットしたため、ジアゼパムであるかと推察された。	
40		
41	HPLC (島津CLASS-VPライブラリーによる)	
42	GC/MSを用いてfull scanにて分析し、mass fragmentationで同定	マスフラグメントグラフ法にて定量
43	HPLC	ハルシオン1錠を水で溶解し、面積比にて計算

Table 7 尿中薬毒物の定量値

番号	同定した化合物名	定量値	予試験	前処理方法	内部標準物質
1	ジアゼパム	low (<5ng/ml)		Extrelut NT1を使用	クロルアゼボキサイド
	テマゼパムグルクロン酸抱合体	564ng/ml (テマゼパムとして)		ペーターグルクロニダーゼ反応後Extrelut NT1を使用	
2	イナベンフィド	定量不能	トライエージ	限外濾過法	
	覚せい剤(用)	定量不能			
3	2C-B	14 μg/ml	Triage	液液抽出	プラゼパム
4	ジアゼパム	4.503 μg/ml	トライエージ 8	試料0.5mlを0.5Mリン酸で4倍希釈。NEXUSにロード。1 ml/アセトニトリルにて溶出。窒素還流(50度)で乾固後アセトニトリルで再溶出。5倍濃縮。	セルシンの散剤10mg/gのものをMeOHで溶解。1mg/mlの溶液にし、10000回転10分の遠心。上清を希釈して。標品として。最初の段階での溶出が100%と仮定して上での定量です。
	プロムワレニル尿素	時間切れで出来ませんでした	【欄外に記載】	0.5Mリン酸で4倍希釈。NEXUSにロード。1 ml/アセトニトリルにて溶出。窒素還流(50度)で乾固後アセトニトリルで再溶出。5倍濃縮。	プロバリン散剤をMeOHで溶解。1mg/mlの溶液にし、10000回転10分の遠心。上清を標品としました。内部標品はNEXUSで固相抽出後の定性です。正常人尿に100 μg/mlの濃度で添加。0.5Mリン酸で4倍希釈。NEXUSにロード。1 ml/アセトニトリルにて溶出。窒素還流(50度)で元のボリュームに(0.5ml)
5					(前処理について) NBPF反応でテトラエチレンペンタミンを添加時には青色にしっかりと発色するも、ジエチルエーテルを加え攪拌後には色がありませんでした。蛍光X線でも正常の尿からは、臭素のBrは全く出ませんが、検体からは欄外です。HPLCでのRTもMeOHに溶解してたもの及び内部標準(RT12.45)と検体(RT12.35)で0.1の差です。ジアゼパムではRT(RT16.80から16.70の範囲)が全て0.01の差で有るところを考えると陰性にしようかとも思いましたが、グラジエントの時間を考えると微妙に動く可能性も否定できず、今回は陽性と判断しました。



Table 8 尿中薬毒物の定量値

番号	同定した化合物名	定量値	予試験	前処理方法	内部標準物質
6	diazepam	1.2 $\mu$ /ml	Triage	HPLC-NEXUS GC/MS-Elut Centify	
	Theobromine or Theophylline			GC/MS-Elut Centify	
7	検出できず			OASIS HLB	
8	Oxazepam	6.5 $\mu$ g/ml	Triage8	$\beta$ -グルクロニダーゼ加水分解後へキサン・クロホルム抽出、BSTFA+TMCS(99:1)でTMS誘導体化	d5-Oxazepam
9					
10	デスマルジアゼパム	111ng/ml.	Triage	グルクロニダーゼを用い加水分解後、酢酸エチルにて抽出	クロチアゼパム
	デスマルジアゼパム	標準品を持っていないため定量は不可			
11				$\beta$ -Glucuronidaseで処理後、分離濃縮	
12	トリアゾラム	8.8 $\mu$ g/ml	Triage	固相抽出 (NEXUSカートリッジ)	
	ジアゼパム	0.7 $\mu$ g/ml			
13	トリアゾラム	7.3 $\mu$ g/ml	Triage	absolut NEXUS カートリッジ使用	
	ジアゼパム	8.5 $\mu$ g/ml			
14	7-CL-1,3-DIHDRO1,4-BENZODIAZEPIN-2-ONE-TMS ETHTR	実施出来ませんでした	Triage 8 および REMEDI i。なお REMEDI i では検出できませんでした。	試料1mlに pH4.0のバッファを50ulとペーダグルクロニダーゼ50ulを加え、55 $^{\circ}$ C 2時間反応させる。つづいて、pH10のバッファを500ulとクロホルム：イソプロパノール (9:1) 2mlを加え攪拌後遠心。有機層を濃縮乾固。次にBSTFA50ulを加え攪拌、90 $^{\circ}$ C 60分で誘導体化 (TMS化) し、空冷後、1ulをGCMSに注入	

Table 9 尿中薬毒物の定量値

番号	同定した化合物名	定量値	予試験	前処理方法	内部標準物質
14	7-CL-1,3-DIHDRO1-5-PHENYL-1-TMS-DESMETHYLDIAZEPAM Hydroxydiazepam	実施出来ませんでした 実施出来ませんでした	Triage 8 および R E M E D 1。なお R E M E D 1 では検出できませんでした。	試料 1ml に pH4.0 のバッファを 50ul と ベー タ グ ル ク ロ ニ ダ ー ゼ 50ul を 加 え、556℃ 2 時 間 反 応 さ せ る。つづいて、pH10 の バ ッ フ ァ ー を 500ul と ク ロ ロ ホ ル ム；イソプロパ ノール (9:1) 2ml を 加 え 攪 拌 後 遠 心。有 機 層 を 濃 縮 乾 固。残 差 を ク ロ ロ ホ ル ム；イソプロ パ ノール (9:1) 30ul で 溶 解 し、1ul を G C M S に 注 入。	
15					
16	Diazepam	測定できず	Triage	アセトニトリルにて倍量で除蛋白	
17	Oxazepam Desmethyl-diazepam Temazepam	0.3 μg/ml 1.0 μg/ml 0.6 μg/ml	Triage	酵素処理後、固相抽出	
18	Nordazepam (デスマチルジアゼパム)	定量できず		尿試料をβグルクロニダーゼ処理後、Sep-Pakにより抽出、MeOHで溶出し、誘導体化せず試料とした。	
19	検出物なし				
20	ジアゼパム	19.9 μg/ml	trriage	旧血清 (または尿) を 500 μl 取り、アセトニトリル 1000 μl 加える。□ (用) よく攪拌したのち、遠心分離器で分離し、その上澄液を取り出す。	
21					

Table 10 尿中薬毒物の定量値

番号	同定した化合物名	定量値	予試験	前処理方法	内部標準物質
22	ジアゼパム	6.7 ppb	同上	$\beta$ -グルクロニダーゼで加水分解後、Oasis HLBで抽出 (尿は0.5 ml添加)	エチゾラム
	オキサゼパム	240 ppb			
23	ジアゼパム	0.03 $\mu$ g/ml	Triage	n-ブチルクロライドで液液抽出 (誘導体化無し)	アルプラゾラム
24	ジアゼパム	1.38 $\mu$ g/ml	塩化第二鉄反応, インドフェノール反応, NBP法, FPN法	グルクロニダーゼ処理37°C 24時間 除蛋白 (アセトン使用), ネクサス (GL-サイエンス社)	
	カフェインかテオフィリンかどちらか?	無		除蛋白 (アセトン使用), ネクサス (GL-サイエンス社)	
25					
26	トライエージでベンゾジアゼピン類, HPLCで同定出来ず		トライエージ8	アセトニトリルによる除蛋白	
27	ジアゼパム		GC/MS	EXtrelute NTを使用	
28	同定できず				
29	ジアゼパムの代謝物らしき化合物	790 ng/ml	Triage	液液抽出 (塩酸で加水分解を行い、水酸化カリウムでpH9にした後、抽出)	
30	検出できませんでした テオフィリン (標準薬物添加血清の3)	定量出来ませんでした		沈殿法による除蛋白	
31	ベンゾジアゼピン系薬物 (呈色反応にて)		呈色反応 (ホルマリン-硫酸試験にて橙色を呈する。)	沈殿法 (冷アセトニトリル)	$\alpha$ -ナフトール
	DCPA			アセトニトリルによる除蛋白	$\alpha$ -ナフトール

Table 11 尿中薬毒物の定量値

番号	同定した化合物名	定量値	予試験	前処理方法	内部標準物質
32	ジアゼパム	0.33 $\mu$ g/mL(334.3ng/mL)	Triage	尿2mLをNaOHでアルカリ性にし、酢酸エチル5mLで抽出。有機層を窒素気流中で蒸発乾固し移動相500 $\mu$ Lで再溶解	
33	エチゾラム		Triage8	沈殿法による除蛋白 (アセトニトリル)	
34	ベンゾジアゼピン系向精神薬	定性のみ	免疫的検査法 (Triage) によりベンゾジアゼピン系向精神薬と同定	試料をpH9に調整し、エキストレレート (ケイソウ土カラム) に保持させ、酢酸エチルで溶出後、アセトン に転用、GC/MSにより同定	
35	検出されず	定量分析はまだしておりません。	Triage	固相抽出 (Bond Elut Certifyを使用)	
36	ミダゾラム	1.4 $\mu$ g/ml		Waters製 OASIS HLBを用いて固相抽出	エスタゾラム (尿中エスタゾラム濃度が20 $\mu$ g/mlになるよう添加した)
37	フルラゼパム リドカイン	1.2 $\mu$ g/ml 定性のみでやっていません	Triage BZO(+)	アセトニトリルで除蛋白	
38				試料1ml、飽和NaHCO <sub>3</sub> 液1mlを加えて混和。NaCl0.5gを加えて混和後、トルエン3mlを加える。振盪後、遠心5分 有機層を窒素気流下で溶媒を留去 トルエン50 $\mu$ lに溶解。	
39	オキサゼパム			沈殿法による除蛋白 (尿200 $\mu$ lに冷アセトニトリル400 $\mu$ lを加え攪拌後、12000 rpmで三分間遠心分離し、その上清をサンプルとした。)	
40					
41			Triage	沈殿法による除蛋白 (アセトニトリルを使用)	