

# 改良型QuEChERS-GC-MS/MS分析法の臨床および法医学応用

メタデータ	<p>言語: Japanese</p> <p>出版者: 東都大学</p> <p>公開日: 2023-09-22</p> <p>キーワード (Ja): 薬毒物, 治療薬物モニタリング, 改良型QuEChERS法, GC-MS/MS, 高精度・高感度, 逐次刊行物</p> <p>キーワード (En): Drugs and poisons, therapeutic drug monitoring, modified QuEChERS, CG-MS/MS, high-resolution and high-precision</p> <p>作成者: 中内, 暁博, 藤城, 雅也, 草野, 麻衣子, 長谷川, 智華, 熊澤, 武志, 松山, 高明</p> <p>メールアドレス:</p> <p>所属: 東都大学沼津ヒューマンケア学部看護学科, 昭和大学医学部法医学講座, 昭和大学医学部法医学講座, 昭和大学医学部法医学講座, 昭和大学医学部法医学講座, 東邦大学医学部法医学講座, 昭和大学医学部法医学講座, 聖隷クリストファー大学看護学部, 昭和大学医学部法医学講座</p>
URL	<p><a href="https://doi.org/10.50818/0002000004">https://doi.org/10.50818/0002000004</a></p>

## 【総説】

## 改良型 QuEChERS-GC-MS/MS 分析法の臨床および法医学応用

Development and application of the modified QuEChERS-GC-MS/MS in clinical and forensic medicine

中内 暁博<sup>1),2)</sup> 藤城 雅也<sup>2)</sup> 草野 麻衣子<sup>2)</sup> 長谷川 智華<sup>2),3)</sup> 熊澤 武志<sup>2),4)</sup> 松山 高明<sup>2)</sup>  
 Akihiro NAKAUCHI Masaya FUJISHIRO Maiko KUSANO Chika HASEGAWA  
 Takeshi KUMAZAWA Takaaki MATSUYAMA

## 要 旨

人体試料中微量薬毒物について、d-SPE 精製技術を用いた改良型 QuEChERS 法による迅速・簡便・効率的試料前処理とガスクロマトグラフィー／タンデム型質量分析法 (Gas chromatography-tandem mass spectrometry; GC-MS/MS) による高選択性・高感度かつ高精度分析法は、環境性、再現性および信頼性に優れ、ヒト試料中薬毒物のハイスループット分析システムとして、臨床および法医学領域への応用が期待される。

キーワード：薬毒物、治療薬物モニタリング、改良型 QuEChERS 法、GC-MS/MS、高精度・高感度

## はじめに

平成26年度診療報酬改訂により「救命救急センターにおける急性薬毒物治療の評価」の項目が改訂され、「急性薬毒物中毒加算1（機器分析）5000点」の算定が可能な施設が、救命救急センター（全国263施設）にまで拡大された<sup>1),2)</sup>。それに伴い、救急医療現場における薬毒物分析体制の構築と効率的な運用が求められている。一方、臨床並びに法医実務上問題となる薬毒物は覚せい剤、麻薬類、向精神薬類、農薬類など多岐にわたっており、臨床における診断・治療・予後予測並びに法医学における司法解剖何れの実務において、起因物質を簡便・迅速かつ確実に同定することが救急および死因究明において極めて重要である。

従来の薬毒物分析法ではガスクロマトグラフィー (Gas chromatography; GC) 法、GC/質量分析法 (Mass spectrometry; MS) 法、高速液体クロマトグラフィー (High performance liquid chromatography; HPLC) 法、HPLC/MS法などが用いられているが、これらの分析法には検出感度や同定精度の低さと長時間分析による迅速性の低さ、さらには有機溶媒移動相の大量使

用なども問題点として指摘されている<sup>3),4)</sup>。ヒト試料中薬物の微量分析では夾雑イオンの重複が常に問題となる。必要不可欠である試料前処理法はこれまで複雑な従来法に依存し、有機溶剤大量使用の環境性を含めて効率性および再現性などの欠点が多く存在し、高感度分析の同定において正確性・信頼性を低下させているのが現状で、改善が急務である。

本稿では、迅速・簡便・効率的かつ少量な有機溶媒で試料前処理が可能な改良型 QuEChERS 法と高選択性・高感度かつ高精度分析が可能な GC-タンデム質量分析 (Tandem mass spectrometry; MS/MS) 分析システムによる簡便・迅速かつ高精度な分析法について概括するとともに、ヒト試料を用いた薬毒物分析への臨床および法医学実務応用を我々の経験を交えながら紹介する。

## 1. 改良型 QuEChERS 試料前処理法

QuEChERS 法は Anastassiades らによって開発された残留農薬分析の簡易前処理法である<sup>5)</sup>。この技術はポリプロピレンチューブ内でアセトニトリル抽出・塩析・脱水を行った後、遠心分離した抽出溶液に固相抽出に用いる充填剤を直接混合し、クリーンアップするという迅速で簡易な手法であることから、「迅速 (Quick)、簡単 (Easy)、安価 (Cheap)、効率的 (Effective)、堅牢 (Rugged)、安全 (Safe)」の試料前処理法として、食品衛生分野で広く利用されてい

<sup>1)</sup> 東都大学沼津ヒューマンケア学部看護学科

<sup>2)</sup> 昭和大学医学部法医学講座

<sup>3)</sup> 東邦大学医学部法医学講座

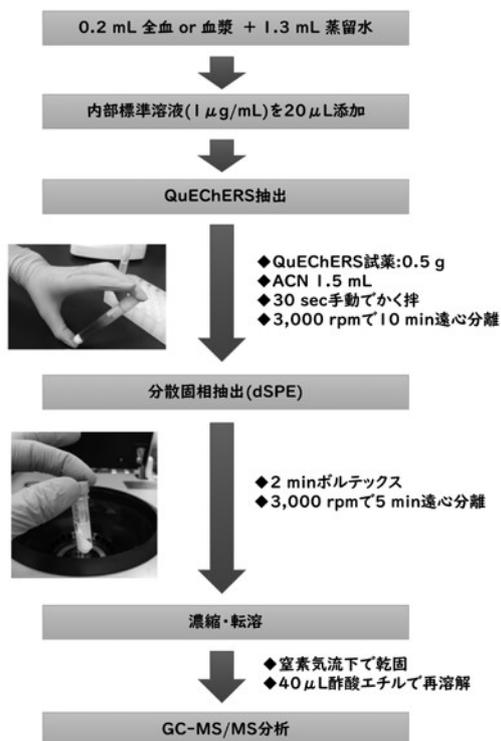
<sup>4)</sup> 聖隷クリストファー大学看護学部

E-mail: akihiro.nakauchi@tohto.ac.jp

る。しかし、抽出には50 mLのPPチューブが用いられ、1回の前処理には大量の試料（約5～10 g）と多量な有機溶媒（約40 mL）が必要で、何れにおいても臨床および法医学分析には不向きである。さらに、夾雑成分の多いかつ複雑なヒト試料は、そのままのQuEChERS法で得られたサンプルには夾雑イオンが多く存在し、大きなマトリックス効果による高感度・高精度分析は不可能のため、更なる試料の精製は必要不可欠である。そこで、我々はd-SPE (dispersive solid phase extraction, 分散固相抽出) 精製技術を用いてQuEChERS法の改良および抽出ボリュームの小型化を行った。d-SPE法は、5 mLサイズのPPチューブを用いて行い、1回目のQuEChERS法で得られた上清をC18固相吸着剤粉末と脱水用のMgSO<sub>4</sub>を入れた2.5 mLマイクロチューブに移し、更に振とう分離した上清をGC-MS/MS分析に供する方法であり、他のSPEカラムよりも簡便、迅速かつ安価である。また、d-SPEのC18固相によりリン脂質など夾雑イオンの除去効果並びにMgSO<sub>4</sub>により脱水効果が得られ、GC-MS/MS分析による高感度・高精度分析に

は必要不可欠の試料精製と考える<sup>6-13)</sup>。

臨床および法医学領域の分析対象には、血液などの液体試料から組織などの固体試料まで様々であるが、何れも改良型QuEChERS法により前処理は可能であり、しかも、使用される試料量も少なく、例えば、血漿の場合は0.2 mL以下、尿は0.5 mL以下、組織は0.1 g以下で、他の臨床検査として行われる採血の際の余りで分析も可能である。液体試料はそのまま蒸留水で希釈して用いるが、組織などの固体試料も秤量しホモジナイズ処理を行った後、内部標準物質、塩析用QuEChERS試薬 (NaClとMgSO<sub>4</sub>) および抽出用アセトニトリルを添加し、更に粉碎促進用のステンレス製のボール (直径4 mm) を入れ、振とう遠心分離を行う。d-SPEを用いる精製ステップも遠心下において行われるため、人的要因の影響は少なく、サンプル間のバラッキも少ない。簡便・迅速な実用性のある試料前処理法と言える。しかも、通常の遠心機ローターでも多検体 (6～12) 同時にセットしたままでコンディショニングから溶出までの一連の操作が行うことができる (図1)<sup>11-13)</sup>。



## QuEChERS:

- Quick (迅速)
- Easy (簡便)
- Cheap (安価)
- Effective (効率的)
- Rugged (堅牢)
- Safe (安全)

### 改良型QuEChERS前処理プロトコル

図1 改良型 QuEChERS 試料前処理法のプロトコルおよび特徴 (文献 11 より一部改め引用)

## 2. GC-MS/MSによる高精度・高感度分析法

近年、質量分析機器の進歩に伴って薬毒物分析には多数分の一斉検出のみならず、絶えず高感度の検出も求められている。特に、臨床および法医学実務の領域では、各種複雑な試料におけるターゲットあるいはノンターゲット分析のため、GC-MSの選択イオン検出 (Elected ion monitoring; SIM) モードだけでは検出が極めて困難な場合も遭遇するのが日常である。勿論、試料中マトリックス成分は試料特性を考慮した前処理法で除去を行うが、全てのマトリックスを除去するには限界がある。更に、試料特性を考慮した前処理法で得られた試料サンプルのクロマトグラフにおける分離はそもそも不可能な場合や不完全である場合が多いのも現状である。

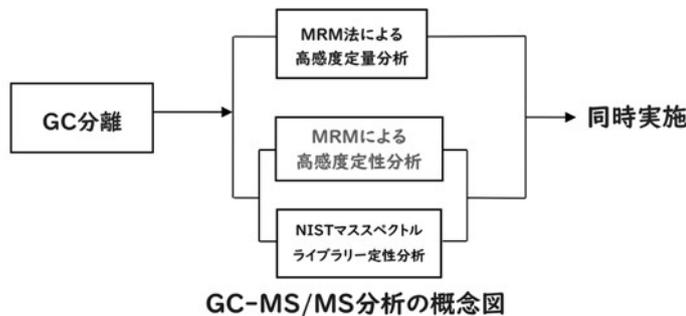
これら従来法の問題点を解決できる分析法としてGC-MS/MS方が最近注目されており、従来の分析法では不可能であった高速化とハイスループット化が実現できる画期的な方法である。トリプル四重極型GC-MS/MSは多彩な分析モードを備え、マルチプルリアクションモニタリング (multiple reaction

monitoring; MRM) は2段階の質量分離を行うため、S/N (Signal/Noise) 比としての感度が大きく向上し、従来のスキャンやSIMでは分離できない成分も分離して検出することが可能である。加えて、高選択性で夾雑成分や干渉する成分の影響を減らして分析できるため、高感度かつ多成分一斉分析が可能となる、という利点がある。しかもGC-MS/MSシステムはMRM定量分析とプロダクトイオンスキャン (total ion scan; TIC) による高感度の定性分析が同時に実施できる (図2)。そのため、このGC-MS/MS法を用いるヒト試料からの高感度薬毒物分析への応用も報告されている<sup>11-16)</sup>。

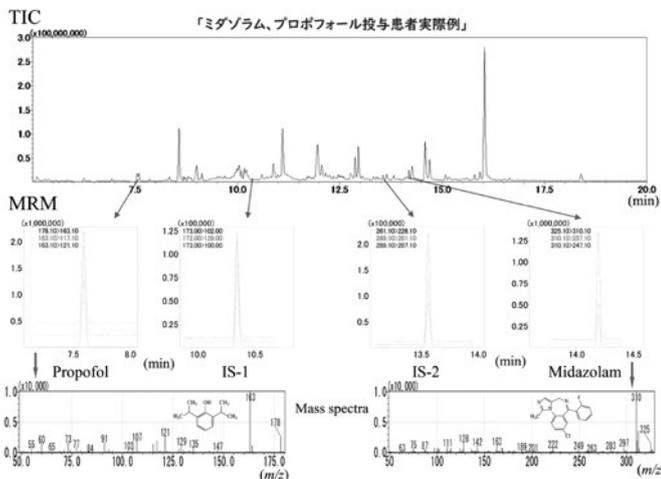
## 3. 臨床および法医学実務の応用

### 3.1. ミダゾラムならびにプロポフォール

ミダゾラムおよびプロポフォールは内視鏡検査を始め外科手術・処置時並びに急性脳症と心肺停止蘇生後における体温管理療法の麻酔導入・静鎮薬として広く使用されているが、呼吸抑制、遷延性意識障害及び横紋筋融解などの副作用以外、過量投与による死亡事



GC-MS/MS分析の概念図



## GC-MS/MS特徴:

- ・高選択性 (MRM)
- ・高感度 (S/N比)
- ・優れた定量性
- ・高速スキャン/MRMの同時測定
- ・多成分の一斉分析

図2 GC-MS/MS分析の概念図および特徴

故も頻発し大きな社会問題となっている<sup>17-20)</sup>。昨今、HPLC-MS/MS法は臨床検査にも普及され、ミダゾラムの測定も可能となっている。しかし、分析所要日数は依然4～6日が必要で、迅速なTDMは不向きである<sup>21)</sup>。従って、ミダゾラム及びプロポフォールをヒト試料から迅速かつ確実に同定・定量ならびに薬物血中濃度モニタリング (therapeutic drug monitoring: TDM) することは、臨床および法医学領域において極めて重要である。本研究では、ヒト血漿中ミダゾラム及びプロポフォールについて、改良型 QuEChERS 法と GC-MS/MS 法を組み合わせた簡便かつ高感度な分析法の開発を行った。

図1はヒト血漿中ミダゾラムおよびプロポフォールの改良型 QuEChERS 試料前処理法による抽出操作法を示す<sup>9)</sup>。試料の調製としては、ヒト血漿0.2 mLに内部標準としてセコバルピタール-*d*<sub>5</sub>およびジアゼパム-*d*<sub>5</sub>を添加した後、蒸留水1.3 mLで希釈し遠心分離を行った。その上清は QuEChERS 法を用いて抽出・乾固した後、40  $\mu$ L 酢酸エチルで再溶解し、その1- $\mu$ Lを GC-MS/MS 分析に供した。EI法を用いたスキャ

ン/MRM同時測定によってミダゾラムおよびプロポフォールは感度良く検出され、同時同定分析ではマススペクトルおよびMRMトランジションを用い、各々同定された。抽出効率は約91.0～111%で、再現性を示す日内CVは2.1～10.7%であった。内部標準法を用いて作成したヒト血漿検量線は5～1000 ng/mLの範囲で良好な直線性が得られ、検出限界はそれぞれ2 ng/mLおよび5 ng/mLであった。昭和大学医学部における「人を対象とする研究等に関する倫理委員会」の承認 (No. 2715) を得て、ミダゾラムとプロポフォール併用したJ波症候群患者の体温管理療法の血漿 (12時間～第6病日) からミダゾラムおよびプロポフォールが何れも感度良く同定・定量され、TDMが可能であった<sup>11)</sup>。本法は、ヒト試料中ミダゾラム及びプロポフォールについて、少量の有機溶媒で試料前処理が可能な改良型 QuEChERS 法と高選択性・高感度分析が可能な GC-MS/MS 分析システムから成る簡便・迅速かつ高精度な分析法である。更に抽出効率、再現性および定量性も優れており、実サンプルを用いた高精度分析を可能とすることが明らかとなった (図3, 4)。

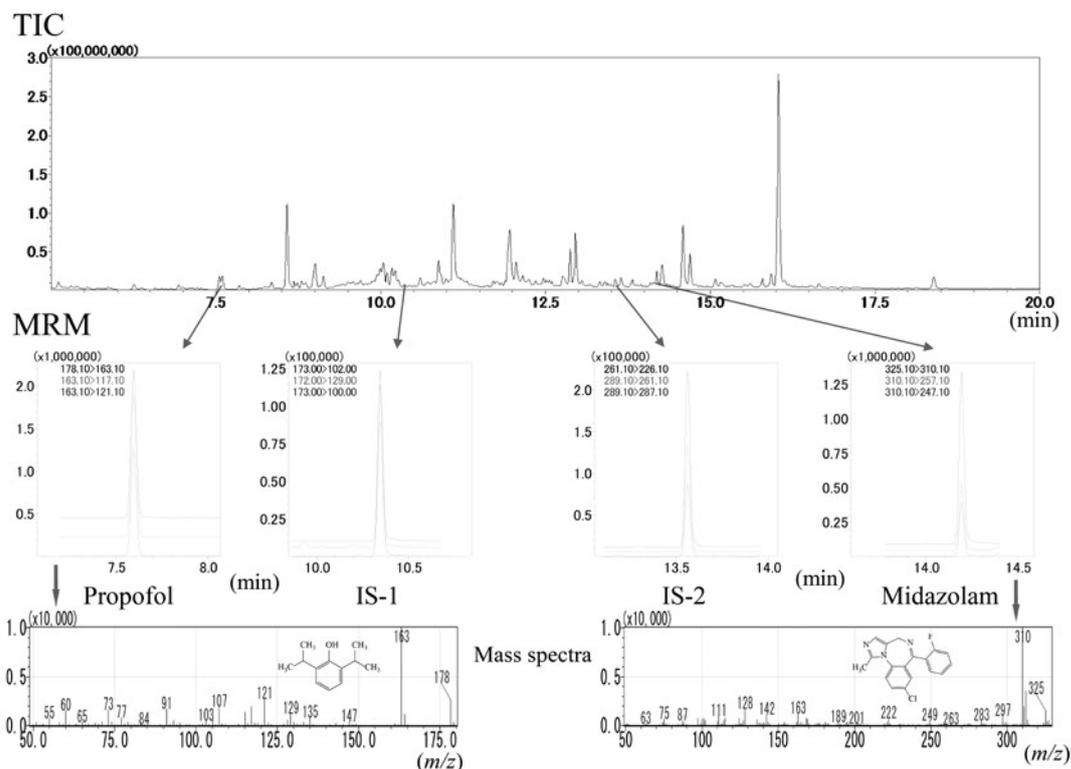


図3 改良型 QuEChERS-GC-MS/MS 分析を用いた J 波症候群患者の脳保護目的の 34～36℃の体温管理療法経過 13 時間の血中プロポフォールおよびミダゾラムの MRM クロマトグラムおよび NIST ライブラリーマススペクトル「200  $\mu$ L の血漿に対して、2 種類の IS を各々 20 ng ずつ添加して抽出を行った (文献 9 より一部改め引用)」

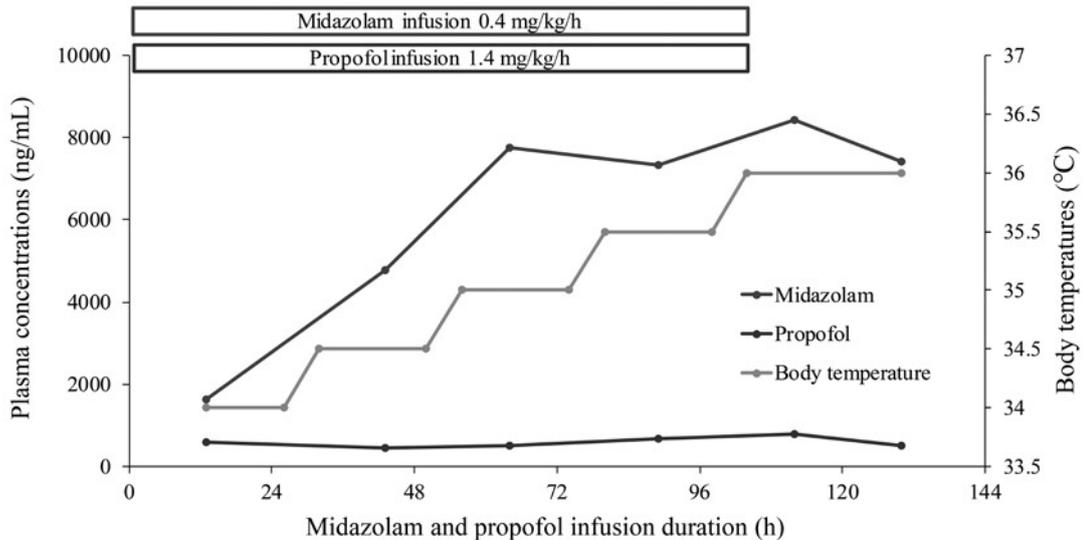


図4 改良型 QuEChERS-GC-MS/MS 分析を用いた J 波症候群患者の脳保護目的の 34 ~ 36°C の体温管理法 5 日間の血中プロポフォールおよびミダゾラムの TDM [200  $\mu$ L の血漿に対して, 2 種類の IS を各々 20 ng ずつ添加して抽出を行った (文献 9 より一部改め引用)]

### 3.2. バルプロ酸

バルプロ酸は, てんかん, 躁状態, 衝動行動, 片頭痛などの治療薬として臨床領域で幅広く使われている。しかし, 高用量 (400 ~ 1200 mg/日) の投与が必要なため, 副作用以外に多量服用による自殺例も報告されている<sup>22-24)</sup>。従って, バルプロ酸をヒト試料から迅速かつ確実に同定・定量ならびに TDM することは, 臨床および法医学領域において極めて重要である。しかし, 臨床におけるバルプロ酸測定はいまだに酵素抗体法 (Enzyme immunoassay; EIA) が用いられ, その偽陽性, 低感度ならびに長い分析所要日数 (2 ~ 3 日) などの欠点が存在し, 迅速な TDM は不向きである<sup>21)</sup>。一方, バルプロ酸は水に易溶で極性が高く, 従来から GC 分析が困難なため, HPLC 分析が主流であった。しかし, HPLC には煩雑な試料前処理および有機溶媒の多量使用などが問題点として指摘されている。本研究では, ヒト体液中バルプロ酸について, 改良型 QuEChERS 法と GC-MS/MS 法を組み合わせた簡便かつ高感度な分析法の開発を行った。

ヒト血漿および尿中からバルプロ酸は感度良く検出され, 同時同定分析ではマススペクトルおよび MRM トランジションを用い, 各々同定された。抽出効率は約 71-104% で, 再現性を示す CV は日内変動が 8.2% 以下, 日間変動が 18.5% 以下であった。内部標準法を用いて作成したヒト血漿検量線は, 50 ~ 5000 ng/mL

の範囲で良好な直線性が得られ, 検出限界は 10 ng/mL, 定量下限は 50 ng/mL であった。昭和大学医学部における「人を対象とする研究等に関する倫理委員会」の承認 (No. 2272) を得て, バルプロ酸 200 mg を経口投与したボランティア 2 名からの実サンプルを用いた定量を行ったところ, いずれも血漿からバルプロ酸が同定・定量され, 投与後 48 時間までの TDM が可能であった (図 5)。また, 昭和大学医学部法医学講座で行われたバルプロ酸過量摂取による自殺例の司法解剖で得られた心臓血など多組織からバルプロ酸が同定され, 高濃度 (393 ~ 4193  $\mu$ g/mL or g) に検出された<sup>12)</sup>。本法は, ヒト試料中バルプロ酸について, 迅速・簡便・効率かつ少量な有機溶媒で試料前処理が可能な QuEChERS 法と高選択性・高感度かつ高精度分析が可能な GC-MS/MS 分析システムによる簡便・迅速かつ高精度な分析法であり, 従来 GC 分析が困難とされるバルプロ酸分析を可能とした。しかも, 抽出効率, 再現性および定量性も良好で, 実サンプルを用いた高精度分析ができることが明らかとなった (表 1)。本研究はヒト体液中バルプロ酸の簡便かつ高感度分析だけでなく, 他の強親水性薬物分析への応用が可能で, 臨床および法医学領域において有用であることが示唆された。

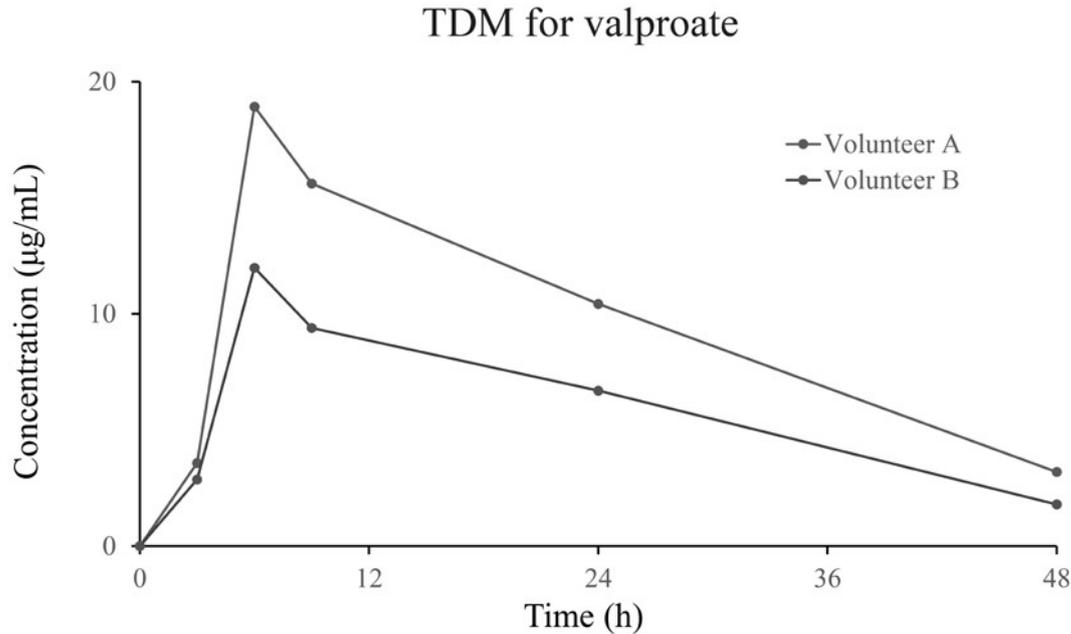


図5 改良型 QuEChERS-GC-MS/MS 分析を用いたバルプロ酸ナトリウム (200 mg) の経口投与したボランティア 2 名の血漿中バルプロ酸の TDM 「200  $\mu$ L の血漿に対して、2 種類の IS を各々 20 ng ずつ添加して抽出を行った (文献 10 より一部改め引用)」

表 1 改良型 QuEChERS-GC-MS/MS 分析を用いた剖検試料臓器別のバルプロ酸濃度<sup>a</sup>

Material	Concentration (n = 4) ( $\mu$ g/mL or g)
Blood	
Subdural	1390 $\pm$ 120 <sup>b</sup>
Heart	1090 $\pm$ 140
Femoral vein	2120 $\pm$ 71
Urine	3620 $\pm$ 320
Stomach contents	4190 $\pm$ 150
Brain	393 $\pm$ 41

<sup>a</sup> 昭和大学医学部法医学講座で実施されたバルプロ酸過量摂取自殺の司法解剖例

<sup>b</sup> The values are mean  $\pm$  SD

### 3.3. ジフェンヒドラミン

ジフェンヒドラミンは第一世代抗ヒスタミン薬として臨床領域および市販薬として幅広く使われている。自殺目的の過量摂取のほか、強い抗コリン作用が惹起する急激な意識喪失など重篤な副作用も頻発し、中毒症例の増加が懸念されている<sup>25, 26)</sup>。そのため、ヒト試料からのジフェンヒドラミンのハイスループット分析は、臨床および法医学領域において極めて有用である。本研究では、ヒト体液中ジフェンヒドラミンについて、改良型 QuEChERS 法と GC-MS/MS 法を組み合わせたハイスループット分析法の検討を行った。

ヒト血漿および尿中からジフェンヒドラミンは感度良く検出され、各々同定された。抽出効率率は約 95-109% で、日内 CV は 2.6-6.6% であった。内部標準法を用いて作成したヒト血漿検量線は 20-500 ng/mL の範囲で良好な直線性が得られ、検出限界は 5 ng/mL であった。昭和大学医学部における「人を対象とする研究等に関する倫理委員会」の承認 (No. 1248) を得て、レスタミンコーワ錠 50 mg を経口投与したボランティアからの実サンプルを用いた分析では、投与 2 時間後の血漿および尿からいずれもジフェンヒドラミンが感度良く同定・定量された。また、昭和大学医学

部法医学講座で行われたジフェンヒドラミン関連する低体温症死亡例の司法解剖で得られた試料からジフェンヒドラミンが血中0.44  $\mu\text{g}/\text{mL}$ および尿中2500  $\mu\text{g}/\text{mL}$ それぞれ検出同定された<sup>10)</sup>。本法は、迅速・簡便・効率的かつ少量の有機溶媒で試料前処理が可能な改良型 QuEChERS法と高選択性・高感度かつ高精度分析が可能な GC-MS/MS法を組み合わせることにより、ヒト体液中ジフェンヒドラミンのハイスループット分析が実現できた(図6)。他の薬毒物分析への応用も期待でき、臨床および法医学領域において有用な分析システムと考える。

### 3.4. 向精神薬およびバルビツール酸系薬物

ベンゾジアゼピンおよびバルビツール酸系薬物などは臨床治療薬として広く用いられており、その乱用、誤薬による中毒例も数多く報告されている。臨床および法医学上問題となる重要な薬物である<sup>27, 28)</sup>。救急ならびに死因究明において迅速かつ確実に中毒原因物質の同定は極めて重要で強く求められている。一方、

HPLC-MS/MS法によるこれら向精神薬類の分析は臨床検査にも応用されているが、所要分析が数日かかるのが現状で、依然迅速な TDM には不向きである<sup>21)</sup>。本研究では、ヒト体液中向精神薬について、改良型 QuEChERS法と GC-MS/MS法を組み合わせた簡便かつ高感度な分析法の開発を行った。ヒト血漿からジアゼパム、アモバルビタールなどは何れも感度良く検出され、同時同定分析ではマススペクトルおよびMRM トランジションを用い、各々同定された。内部標準法を用いて作成したヒト血漿検量線は20-250 ng/mLの範囲で良好な直線性が得られ、定量限界は0.7 ~ 3.3 ng/mLであった。再現性を示す真度は90 ~ 116%で良好であった。昭和大学医学部における「人を対象とする研究等に関する倫理委員会」の承認(No.860およびNo.861)を得て、アモバルビタール300 mgまたはジアゼパム10 mgを経口投与したボランティアの血漿からアモバルビタールが2920 ng/mL、ジアゼパムが336 ng/mL何れも感度良く同定・定量された<sup>13)</sup>。本研究では、改良型 QuEChERS法と GC-MS/MS法は

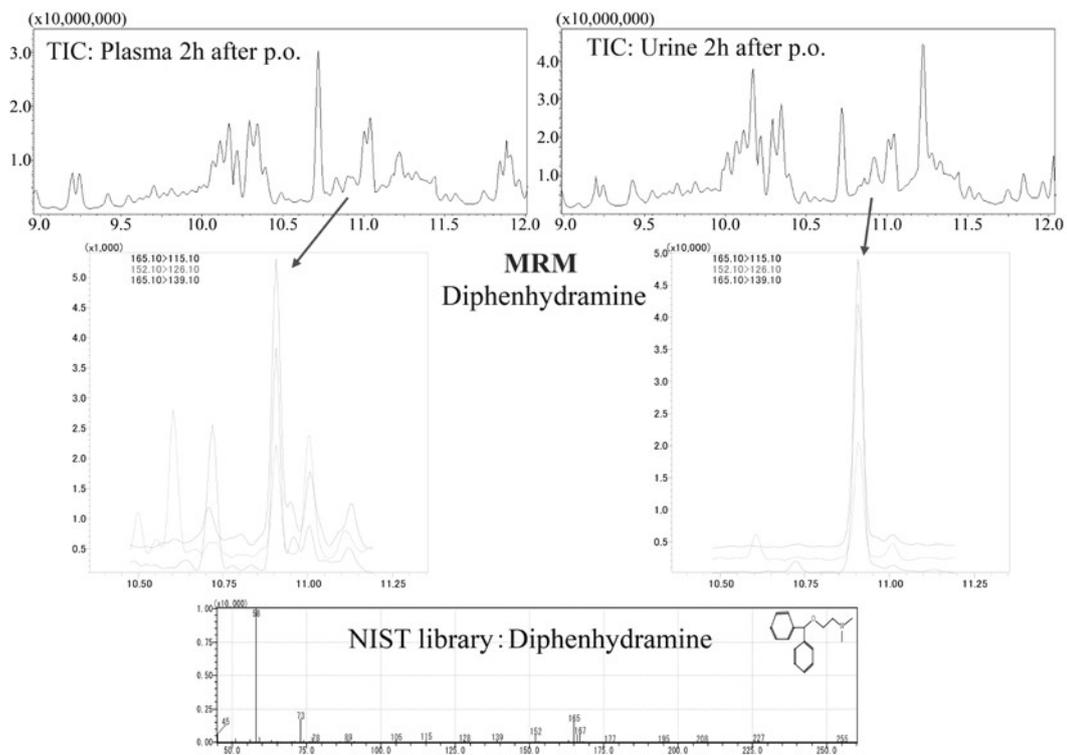


図6 改良型 QuEChERS-GC-MS/MS 分析を用いたレスタミンコーワ錠 (50 mg) の経口投与したボランティア 2 時間後血漿中ジフェンヒドラミンの MRM クロマトグラムおよび NIST ライブラリーマススペクトル「200  $\mu\text{L}$  の血漿に対して、2 種類の IS を各々 20 ng ずつ添加して抽出を行った」

定量・同定分析が高い実用性・信頼性を示し、ヒト血中薬物の簡便かつ高感度分析が可能であった。法医学および救急医学領域に有用な分析システムと考える。

## まとめ

迅速・簡便・効率的かつ少量の有機溶媒で試料前処理が可能な改良型 QuEChERS 法と高選択性・高感度かつ高精度分析が可能な GC-MS/MS 分析法との組み合わせは、煩雑、低環境性、ハイコストなど欠点を改善し、ヒト試料中薬毒物について簡便・迅速、高精度かつ高感度な分析ができると分析システムである。本稿で紹介した改良型 QuEChERS 法 GC-MS/MS 分析法はハイスループット分析法として、他の薬毒物分析への応用も期待でき、臨床救命救急実務への応用のみならず、法医学領域、食品衛生、環境などの分析への波及効果も期待できる。

## 謝辞

本稿で紹介した筆者らの研究の一部は株式会社島津製作所分析計測事業部坂本雄紀氏と共同で実施したものであり、ここに深謝いたします。

## 利益相反

本研究において、申告すべき利益相反はない。

## 文献

- 厚生労働省保険局医療課：平成26年3月5日版「平成26年度診療報酬改定の概要」。 <https://www.kyoukaikenpo.or.jp/~media/Files/shared/direction/dai53kai/26031914.pdf> (最終閲覧2023年3月1日)
- 日本救急医学会保険委員会：<https://www.jaam.jp/info/2014/info-20140512.html>。(最終閲覧2022年9月9日)
- 高木総吉, 長谷川有紀, 小池真生子：GC/MS ターゲットスクリーニング分析法の水道原水および浄水への適用。環境科学会誌。35 (2) : 78-87, 2022
- 石本憲司, 中川晋作：機能性食品開発を目指した非晶質固体分散技術の利用法。オレオサイエンス。20 (2) : 53-60, 2020
- Anastassiades M, Lehotay SJ, Štajnbaher D: Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce. J AOAC Int. 86 (2) : 412-431, 2003
- Dawidowicz AL, Dybowski MP, Rombel M: Oleamide as analyte protectant in GC analysis of THC and its metabolites in blood. J Pharm Biomed Sci. 215: 114800, 2022
- Tuzimski T, & Szubartowski S: Application of d-SPE before SPE and HPLC-FLD to analyze bisphenols in human breast milk samples. Molecules. 26 (16) : 4930, 2021
- Mouskeftara T, Virgiliou C, Iakovakis A: Liquid chromatography tandem mass spectrometry for the determination of nine insecticides and fungicides in human postmortem blood and urine. J Chromatogr B. 1179: 122824, 2021
- Kusano M, Sakamoto Y, Natori Y: Development of “Quick-DB forensic”: A total workflow from QuEChERS-dSPE method to GC-MS/MS quantification of forensically relevant drugs and pesticides in whole blood. Forensic Sci Int. 300: 125-135, 2019
- Kusano M, Fujishiro M, Nakauchi A: An unusual case of fatal hypothermia involving topical diphenhydramine. Forensic Toxicology. 40 (2) : 1-6, 2022
- Kaki Y, Fujishiro M, Lee XP: Sensitive determination of midazolam and propofol in human plasma by GC-MS/MS. Forensic Toxicology 38 (2) : 409-419, 2020
- Mizuno S, Lee X-P, Fujishiro M: High-throughput determination of valproate in human samples by modified QuEChERS extraction and GC-MS/MS. Legal Med. 31: 66-73, 2018
- 李 曉鵬, 藤城 雅也, 草野 麻衣子：薬毒物データベース Quick-DB Forensic を用いた全血中薬毒物の高感度分析 (Higher sensitive analysis of toxic substances in whole blood using Quick-DB Forensic Database)。テクニカルレポート。島津製作所。2017。 <https://www.an.shimadzu.co.jp/gcms/support/lib/pdf/c146-0375a.pdf> (最終閲覧2022年9月9日)
- Dybowski MP, Dawidowicz AL: Application of the QuEChERS procedure for analysis of  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol and its metabolites in authentic whole blood samples by GC-MS/MS. Forensic Toxicol. 36: 415-423, 2018
- Mochizuki A, Nakazawa H, Adachi N: Identification and quantification of mepirapim and acetyl fentanyl in authentic human whole blood and urine samples by GC-MS/MS and LC-MS/MS. Forensic Toxicol. 36: 81-87, 2018
- Kohyama E, Chikumoto T, Furukawa R: Regioisomeric differentiation of synthetic cannabinoids with an N-fluorobenzyl indole core by gas chromatography-tandem mass spectrometry. Forensic Chem. 6: 28-35, 2017

- 17) Arayakarnkul P, Chomtho K: Treatment options in pediatric super-refractory status epilepticus. *Brain Dev.* 41: 359-366, 2019
- 18) Fukuoka N, Aibiki M, Tsukamoto T: Biphasic concentration change during continuous midazolam administration in brain-injured patients undergoing therapeutic moderate hypothermia. *Resuscitation.* 60: 225-230, 2004
- 19) Kwon W, Kim JY, Suh S: Simultaneous determination of creatinine and uric acid in urine by liquid chromatography-tandem mass spectrometry with polarity switching electrospray ionization. *Forensic Sci Int.* 221 (1-3) : 57-64, 2012
- 20) Zaporowska-Stachowiak I, Szymański K, Oduah MT: Midazolam: safety of use in palliative care: a systematic critical review. *Biomed Pharmacother.* 114: 108838, 2019
- 21) 薬毒物検査：株式会社LSI メディエンス「検査項目解説」.  
<https://data.medience.co.jp/compendium/list-02.html>  
(最終閲覧2023年3月1日)
- 22) Glauser TA, Cnaan A, Shinnar S: Ethosuximide, valproic acid, and lamotrigine in childhood absence epilepsy. *NEJM.* 362 (9) : 790-799, 2010
- 23) Watson WA, Litovitz TL, Rodgers GC: 2004 annual report of the American association of poison control centers toxic exposure surveillance system. *Am J Emerg Med.* 23 (5) : 589-666, 2005
- 24) French JA, Kanner AM, Bautista J: Efficacy and tolerability of the new antiepileptic drugs I: Treatment of new onset epilepsy [RETIRED]: Report of the Therapeutics and Technology Assessment Subcommittee and Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology and the American Epilepsy Society. *Neurology.* 62 (8) : 1252-126, 2004
- 25) 鈴木恵輔, 加藤晶人, 土肥謙二: ジフェンヒドラミン中毒により心肺停止をきたした1例. *日本救急医学会関東地方会雑誌.* 42 (2) : 35-38, 2021
- 26) Jang DH, Manini AF, Trueger NS: Status epilepticus and wide-complex tachycardia secondary to diphenhydramine overdose. *Clinical Toxicology.* 48 (9) : 945-948, 2010
- 27) 吉田徹, 堤健, 栗栖美由希: 重症ARDSをきたしVVA-ECMOで救命しえた向精神薬および交感神経刺激薬過量服薬の1例. *日本救急医学会関東地方会雑誌.* 40 (3) : 221-225, 2019
- 28) 富永綾, 伊関憲, 林田昌子, 篠崎克洋: 大量内服後3日以上経過して搬送されたフェノバルビタール急性

中毒の1例. *中毒研究.* 26 : 61-63, 2013

受付日：2022年9月20日 受諾日：2023年3月16日

【Review】

## Development and application of the modified QuEChERS-GC-MS/MS in clinical and forensic medicine

Akihiro NAKAUCHI<sup>1,2)</sup> Masaya FUJISHIRO<sup>2)</sup> Maiko KUSANO<sup>2)</sup>  
Chika HASEGAWA<sup>2,3)</sup> Takeshi KUMAZAWA<sup>2,4)</sup> Takaaki MATSUYAMA<sup>2)</sup>

### Abstract

To simultaneously determine and analyze drugs, like midazolam, propofol, valproate, and diphenhydramine in human plasma samples by gas chromatography-tandem mass spectrometry (GC-MS/MS), a sensitive method was developed via modified quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe extraction. Good extraction efficiency, linearity, and reproducibility were achieved in our established method under optimized conditions. GC-MS/MS analysis enabled the identification and sensitive quantitation of these drugs. Additionally, its performance was comparable to that of HPLC-MS/MS. The GC-MS/MS method can be integrated into screening and simultaneous quantification methods for multiple drugs and poisons in clinical and forensic fields.

Key words : Drugs and poisons, therapeutic drug monitoring, modified QuEChERS, CG-MS/MS, high-resolution and high-precision

---

<sup>1)</sup> Faculty of Numazu Human Care, Tohto University

<sup>2)</sup> Department of Legal Medicine, Showa University School of Medicine

<sup>3)</sup> Department of Legal Medicine, Toho University School of Medicine

<sup>4)</sup> Seirei Christopher University School of Nursing

E-mail: akihiro.nakauchi@tohto.ac.jp