

Simultaneous Determination of Propofol and Drugs used in General Anesthesia by Developed and Validated Liquid Chromatographic Methods: A Preclinical Study for Drug-drug Interaction Analysis

(液体クロマトグラフィー-タンデム質量分析法によるラット血漿中プロポフォールおよび麻酔時に併用される薬物の同時定量：非臨床・薬物動態学的薬物-薬物相互作用分析への応用)

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科生命薬科学専攻

Mohamed Aboelhamd Ibrahim Hussein

[目的]

鎮静薬であるプロポフォール (Pro) は、迅速な作用発現と作用消失を特徴とし、完全静脈麻酔 (total intravenous anesthesia: TIVA) に用いられている。また Pro 減量を目的としてレミフェンタニル (Rem) 等との併用が行われており、Pro および Rem の薬物相互作用に関する報告は少なく^{1, 2)}、有効なエビデンスの蓄積が待たれるところである。

これまでに Pro および Rem の分析法は多く報告されているが、いずれも単独で薬物を測定する方法であり、両薬物の迅速かつ高感度な同時定量法を開発することで、薬物動態学的な薬物相互作用の解明が進むものと考えられる。

そこで本研究では、ポジティブおよびネガティブイオン化可変型の質量分析装置を備えた液体クロマトグラフィー-タンデム質量分析 (LC-MS/MS) 法によるラット血漿中 Pro および Rem の同時定量法を開発し、次に、これら薬物をラットへ単独あるいは併用投与し、薬物動態解析に基づく薬物-薬物相互作用の評価を行った。

[実験方法]

血漿試料の前処理：Wistar 系雄性ラットから採取した血漿 200 μ L にカルバマゼピン (内標準物質, IS) 20 μ L を添加し、アセトニトリル 100 μ L を加えて除タンパクを行った。これに炭酸緩衝液 (100 mM, pH 10) 100 μ L および tert-ブチルメチルエーテル 700 μ L を加えて液-液抽出を行った。遠心後、有機層を採取し、窒素気流下で乾固させ、アセトニトリル 50 μ L を加えて再溶解し、分析試料とした。

LC-MS/MS 条件：薬物の分離には、Chromolith Performance RP-18e (100×4.6 mm) カラムおよび溶離液としてアセトニトリル - 酢酸アンモニウム緩衝液 (10 mM, pH 3.5) の混液を用いた。Pro はネガティブイオン化および Rem と IS はポジティブイオン化モードにて分析を行った。トランジションは m/z 176.94 $[M-H]^- \rightarrow$ 160.87 (Pro), m/z 377.04 $[M+H]^+ \rightarrow$ 317.04 (Rem) and m/z 237.07 $[M+H]^+ \rightarrow$ 220.01 (IS) を用いた。

投与実験：ラットに 60 分間、Pro は 125 mg/kg/min、Rem は 125 ng/kg/min で静脈内持続投与し、その間、10, 15, 25, 30, 40, 45, 50, 55, 60 および 65 分に血液を採取した。投与方法は、Pro、Rem を単独で投与する場合、あるいは、最初の 30 分間各薬物を単独で投与した後、60 分まで併用投与を行った。

[結 果]

今回、測定中にポジティブおよびネガティブイオン化モードの変更を行うことで、Pro および Rem の同時定量を可能にすることができた。Pro, Rem および IS の保持時間は 3.6, 7.0 および 3.2 分であり、迅速分析が可能であった。検出下限はシグナル / ノイズ比 3 の場合でそれぞれ 0.16 mg/mL (Pro) および 0.10 ng/mL (Rem) であった。この他、正確さ (<20%) および繰り返し測定における精度 (<12.7%) 等のバリデーションパラメータも許容可能な範囲であった。

一方、投与実験においてはそれぞれ単独投与を行った場合の血漿中濃度は、薬物投与時間中に差がみられなかった (Fig. 1A) のに対し、Pro 静脈内持続投与下、30 分から Rem 併用に切り替えた場合、Rem の濃度は上昇し、area under the plasma concentration-time curve (AUC) に有意な上昇がみられた ($P=0.01$)。一方、Rem 静脈内持続投与下、Pro 併用に切り替えた場合

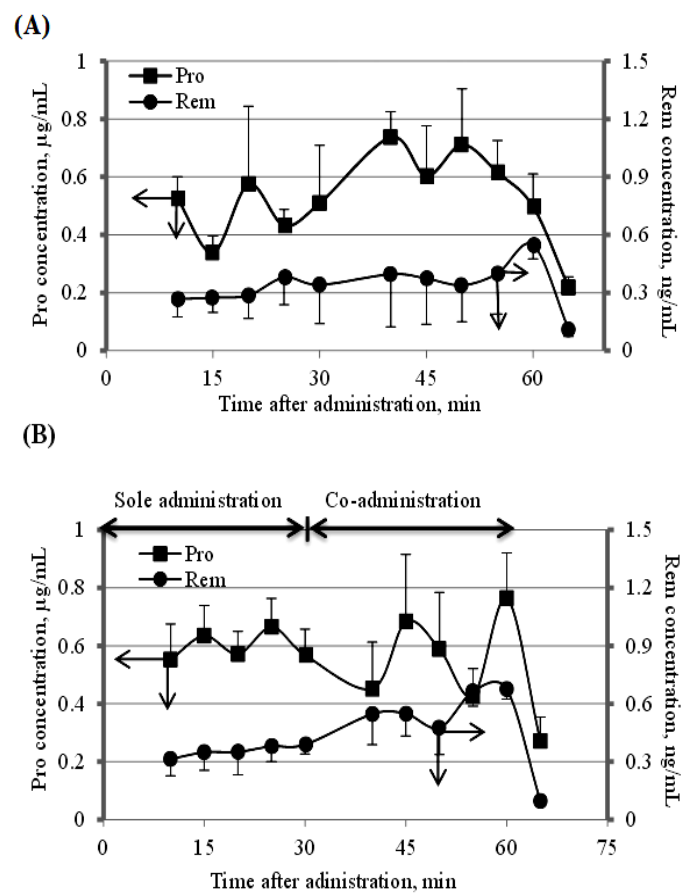


Fig. 1. Plasma concentration-time profiles after sole administration (A); sole and co-administration of Pro and/or Rem (B).

の AUC に有意な影響はみられなかった ($P=0.44$) (Fig. 1B)。

[考 察]

今回開発した LC-MS/MS 法では、Pro および Rem の迅速な同時定量が可能であった。また、本分析法のバリデーション評価を行うことで、信頼性の高い方法であることを明らかにすることができた。ラットにおける体内動態解析の結果、Pro 静脈内持続投与下、Rem を併用投与することで Rem の血漿中濃度が上昇する可能性が示された。本知見は、ヒトにおける既報^{1, 2)}の結果と一致している。以上、今回開発した LC-MS/MS 法による血漿中 Pro および Rem の同時定量法は、薬物動態学的な薬物相互作用の解析において有用な方法となるものと考えられる。

[文 献]

- 1) Thomas Bouillon, Joergen Bruhn, Lucian Radu-Radulescu, Edward Bertaccini, Sang Park, Steven Shafer. *Anesthesiology*, **97**, 1350-1362 (2002).
- 2) Martijn J Mertens, Jaap Vuyk, Erik Olofsen, James G Bovill, Anton GL Burm. *Anesthesiology*, **94**, 949-957 (2001).

[基礎となった学術論文]

Mohamed A. El Hamd, Mitsuhiro Wada, Rie Ikeda, Shigeru Kawakami, Naotaka Kuroda, Kenichiro Nakashima. *Biomed. Chromatogr.*, in press (2014).