

■ 睾酮及其代谢物的同时分析

通常情况下，服用的药物主要在肝脏通过细胞色素P450（CYP）进行代谢。

CYP是一种酶，可将摄入人体的异物转换为易于排出体外的形式。

CYP包含多个分子种类，其中9种(CYP1A2, 2A6, 2B6, 2C8, 2C9, 2C19, 2D6, 2E1, 3A4)主要和药物的代谢有关。尤其是其中的**CYP3A4**，据说半数以上的市售医药品可受其代谢。

本文介绍以**CYP3A4**为指标物质的睾酮和睾酮的代谢生成物 **6β-羟基睾酮** 的分析。

* 本反应乃是作为药物代谢评价中HLM（人肝微粒体）活性评价指标的代谢反应。

◆ 睾酮及其代谢物的同时分析 ◆

样品 睾酮（人肝微粒体反应液）

睾酮代谢物（6β-羟基睾酮、6β-OH TES）是一种类固醇激素，将其添加至市售人肝微粒体(HLM)。

【样品前处理方法】

0.2 mg/mL	人肝微粒体
10 mM	Kpi (pH 7.4)
200 μM	睾酮
NADPH 生成系统	
共计	200 μL

在 37°C 下培养 30 分钟

用 2 mL CH₂Cl₂ 终止反应

添加浓度为 3 M 的 NaCl 1 mL

添加浓度为 20 μM 的皮质酮 20 μL 作为内标物

Vortex vigorously

以 2,000 rpm 的转速离心分离 5 分钟

收集有机物层

氮气干燥

用 200 μL 流动相溶解

进样 10 μL 至 HPLC

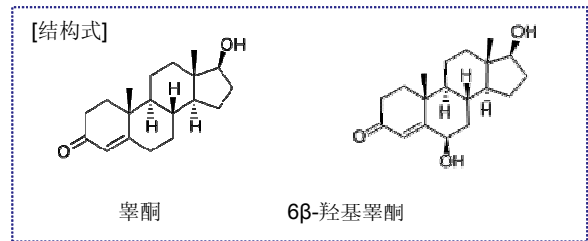
【色谱条件】

色谱柱	HITACHI LaChrom C18 (5 μm) 4.6 mm × 150 mm
	HITACHI LaChrom C18 (3 μm) 4.6 mm × 100 mm
流动相	50% CH ₃ OH /10 mM 磷酸钾缓冲液 (pH 7.4)
流速	1.0 mL/min
柱温	35°C
检测波长	UV 240 nm
进样量	10 μL

【仪器配置】

5110 泵
5210 自动进样器
5310 柱温箱
5420 紫外-可见检测器
Empower2 色谱工作站

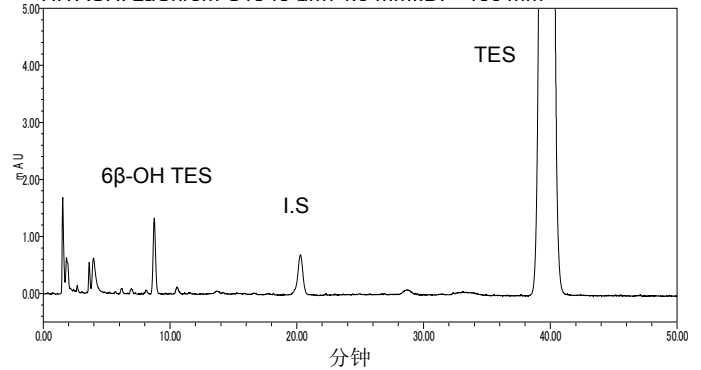
注意：本资料所示数据仅为测定例的数据而非可保证装置性能的数据。



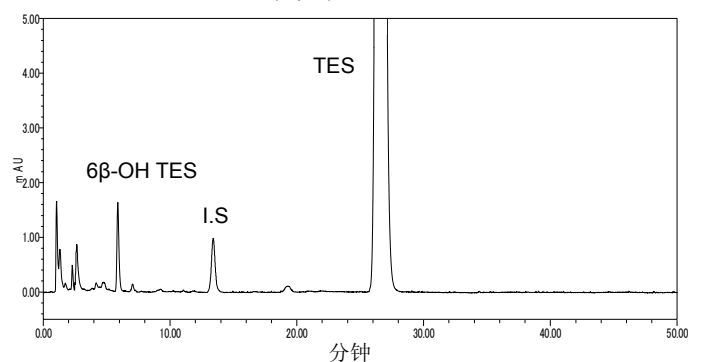
【分析结果】

* 使用两种不同尺寸色谱柱实验结果。

HITACHI LaChrom C18 (5 μm) 4.6 mm.I.D. × 150 mm



HITACHI LaChrom C18 (3 μm) 4.6 mm.I.D. × 100 mm



* 本分析样品由金沢大学医药保健研究领域药理学系中岛美纪副教授提供。