

Chromaster

■ テストステロン及び代謝物の同時分析

通常、服用した薬物は、主に肝臓でシトクロムP450(CYP)による代謝を受けます。

CYPは、生体内に取り込まれた異物を体外に排泄しやすい形に変換する酵素です。

CYPには多数の分子種が同定されていますが、そのうち主に9種類(CYP1A2, 2A6, 2B6, 2C8, 2C9, 2C19, 2D6, 2E1, 3A4)が薬物の代謝に関与しています。中でも、CYP3A4は市販されている医薬品の過半数を代謝するといわれています。

今回はCYP3A4の指標基質であるテストステロンと、テストステロンから生成した代謝物 6 β -ヒドロキシテストステロンの分析例についてご紹介します。

* 本反応は、薬物代謝評価における、HLM(ヒト肝ミクロソーム)活性評価のための、指標となる代謝反応です。

◆テストステロン及び代謝物の同時分析◆

試料: テストステロン(ヒト肝ミクロソーム反応液)

ステロイドホルモンの一種であるテストステロン(TES)を、市販Human liver microsomes (HLM)に加えて反応させ、代謝物(6 β -ヒドロキシテストステロン、6 β -OH TES)を生成させたもの。

【試料調製法】

0.2 mg/mL Human liver microsomes
10 mM KPi (pH 7.4)
200 μ M Testosterone
<u>NADPH generating system</u>
Total 200 μ L

Incubate at 37°C for 30 min

Stop reaction with 2 mL of CH₂Cl₂

Add 1 mL of 3 M NaCl

Add 20 μ L of 20 μ M Corticosterone as internal standard

Vortex vigorously

Centrifuge at 2,000 rpm for 5 min

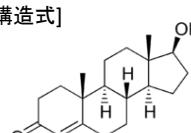
Collect organic layer

Dry under N₂ stream

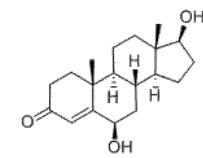
Reconstitute with 200 μ L of mobile phase

Inject 10 μ L to HPLC

[構造式]



テストステロン

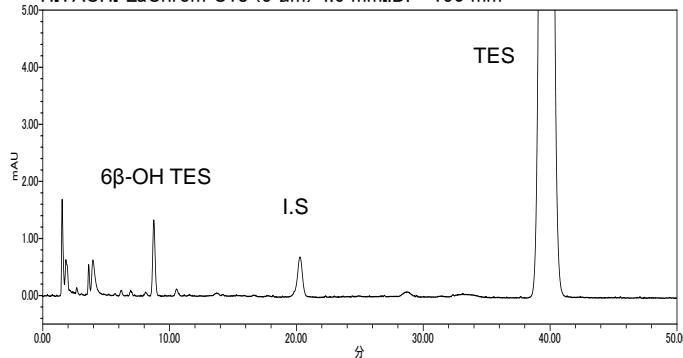


6 β -ヒドロキシテストステロン

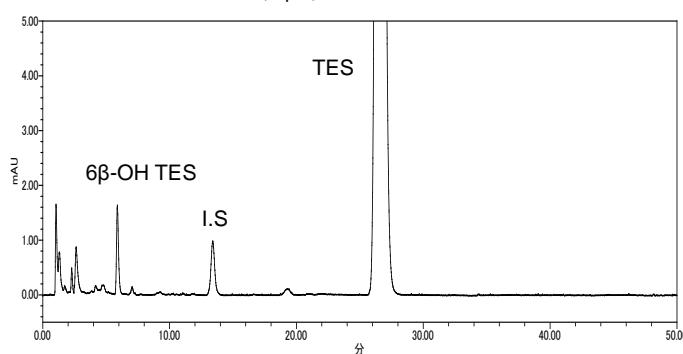
【分析結果】

* サイズの異なる2種類のカラムを使用して、検討した結果です。

HITACHI LaChrom C18 (5 μ m) 4.6 mmI.D. \times 150 mm



HITACHI LaChrom C18 (3 μ m) 4.6 mmI.D. \times 100 mm



* 本分析試料は、金沢大学医薬保健研究域薬学系
中島美紀 准教授よりご提供いただきました。

【分析条件】

カラム	HITACHI LaChrom C18 (5 μ m) 4.6 mmI.D. \times 150 mm HITACHI LaChrom C18 (3 μ m) 4.6 mmI.D. \times 100 mm
溶離液	50% CH ₃ OH /10 mM potassium phosphate buffer (pH 7.4)
流量	1.0 mL/min
カラム温度	35°C
検出	UV 240 nm
注入量	10 μ L

【装置構成】

Chromaster 5110 ポンプ
Chromaster 5210 オートサンプラー
Chromaster 5310 カラムオーブン
Chromaster 5420 UV-VIS 検出器
Empower2 データ処理システム

注意: 本資料に掲載のデータは測定例を示すもので、性能を保証するものではありません。