

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 **6β-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(ヒト肝マイクロソーム)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(ヒト肝マイクロソーム反応液)

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(6β-ヒドロキシテストステロン、6β-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 μM	Testosterone
<u>NADPH generating system</u>	
Total	200 μL

Incubate at 37°C for 30 min

Stop reaction with 2 mL of CH₂Cl₂

Add 1 mL of 3 M NaCl

Add 20 μL of 20 μM Corticosterone as internal standard

Vortex vigorously

Centrifuge at 2,000 rpm for 5 min

Collect organic layer

Dry under N₂ stream

Reconstitute with 200 μL of mobile phase

Inject 10 μL to HPLC

【分析条件】

カラム	HITACHI LaChrom C18 (5 μm) 4.6 mmI.D. × 150 mm HITACHI LaChrom C18 (3 μm) 4.6 mmI.D. × 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 μL

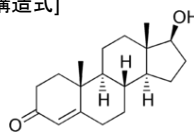
【装置構成】

Chromaster 5110 ポンプ
Chromaster 5210 オートサンブラ
Chromaster 5310 カラムオープン
Chromaster 5420 UV-VIS 検出器
Empower2 データ処理システム

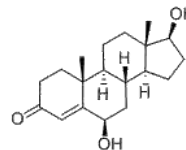
注意: 本資料に掲載のデータは測定例を示すもので、性能を保証するものではありません。

(株)日立ハイテクノロジーズ
分析システム営業本部 マーケティング一部

【構造式】



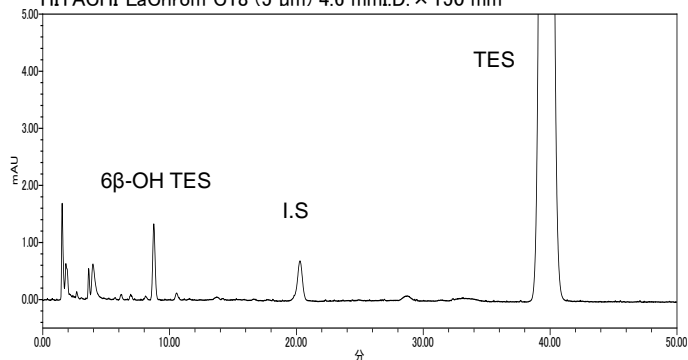
テストステロン



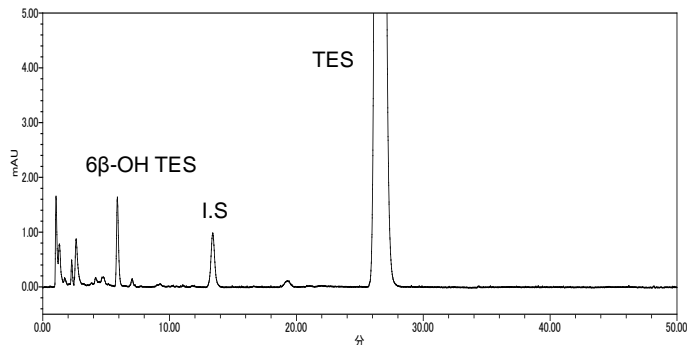
6β-ヒドロキシテストステロン

【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 μm) 4.6 mmI.D. × 150 mm



HITACHI LaChrom C18 (3 μm) 4.6 mmI.D. × 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。