

Chromaster

■ クロルゾキサゾ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。

今回はCYP2E1の指標基質であるクロルゾキサゾンと、クロルゾキサゾンから生成した代謝物 **6-ヒドロキシ-クロルゾキサゾン**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。

◆クロルゾキサゾン及び代謝物の同時分析◆

試料:ヒト肝ミクロソーム細胞抽出液

Human liver microsomes (HLM)を酵素源とし、基質としてクロルゾキサゾン(CZX)を加えて反応させた際に生成する代謝物:6-ヒドロキシクロルゾキサゾン

* クロルゾキサゾン:中枢性筋弛緩薬

【試料調製法】

0.2 mg/mL	Human liver microsomes
50 mM	KPi (pH 7.4)
200 μM	Chlorzoxazone
<u>NADPH generating system</u>	
Total	200 μL

Incubate at 37°C for 30 min

Stop reaction with 100 μL of acetonitrile

Add 20 μL of 0.1 mM coumarin as internal standard

Centrifuge at 15,000 rpm for 5 min

Inject 10 μL of supernatant to HPLC

【装置構成】

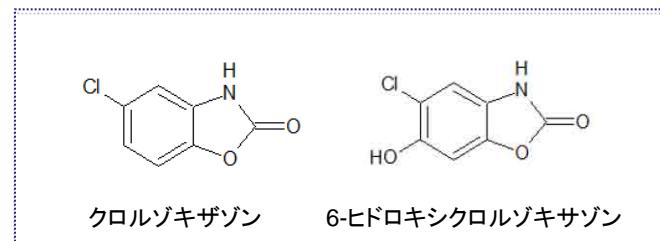
Chromaster 5110 ポンプ
Chromaster 5210 オートサンプラー
Chromaster 5310 カラムオーブン
Chromaster 5420 UV-VIS 検出器
Empower2 データ処理システム

【分析条件】

カラム	LaChrom C18 (5 μm) 4.6 mmI.D. × 150 mm
	LaChrom C18 (3 μm) 4.6 mmI.D. × 100 mm
溶離液	(A)50 mM KH ₂ PO ₄ (pH 4.5), (B)CH ₃ CN, *(A)/(B)=80/20
流量	1.0 mL/min
カラム温度	35°C
検出	295 nm
注入量	10 μL

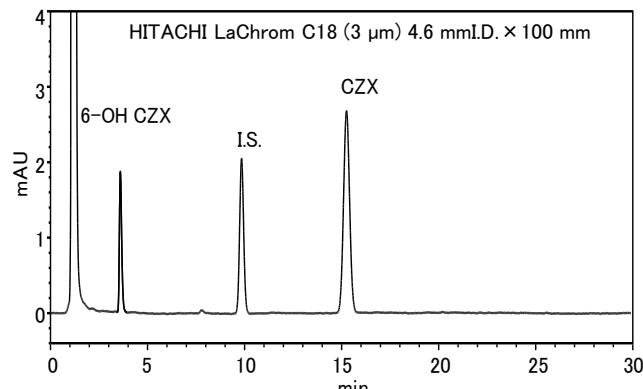
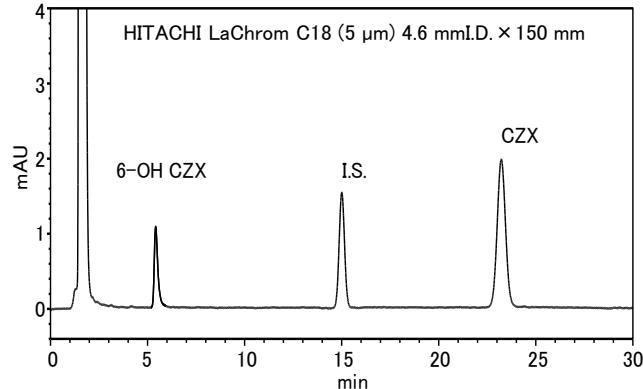
注意: 本資料に掲載のデータは測定例を示すもので、性能を保証するものではありません。

(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



【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。



* 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。