

フェニトインの代謝反応経路の解析

代謝反応が遅く、2D 培養系での解析が難しい薬物に対して、代謝活性を長期間維持する特性を活かして代謝反応解析ができます。

【実験】

- ・薬物 フェニトイン (DPH)
- ・薬物濃度 20 $\mu\text{mol/l}$
- ・培地量 100 μl
- ・反応時間 6 days
- ・培養条件 37°C
- ・3D ミニ肝臓 1 個
- ・培養6日後の培地の HPLC/MS/MS 測定

【結果】

- ・HPLC/MS/MS 測定から、代謝産物が4種あることがわかった(図1)。
- ・各 HPLC ピークの MS スペクトルならびに親イオンの MS/MS スペクトルから代謝産物の化学構造を推定した。代謝産物-3 についてのスペクトルと各フラグメントピークの同定結果を図2に示した。各ピークの精密質量数は理論値と 10 ppm 以内の精度で一致していることを確認した。
- ・代謝産物の化学構造から、代謝反応経路を推定した(図 3)。その結果、CYP による DPH の酸化反応、UGT によるグルクロン酸抱合反応、nonCYP 酵素の mEH によるエポキシドの加水分解反応といった多段階反応が3D ミニ肝臓中で進行することがわかった。

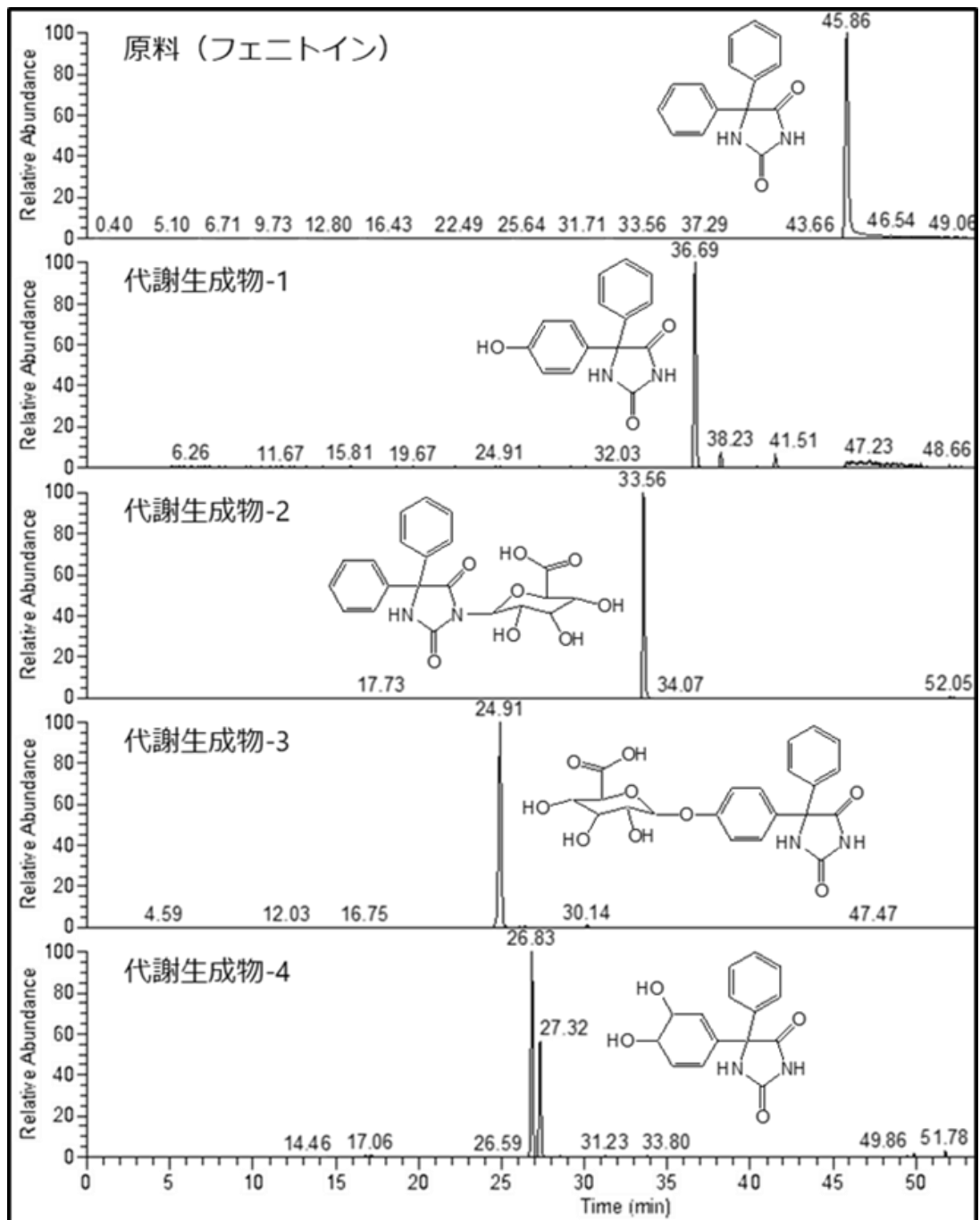
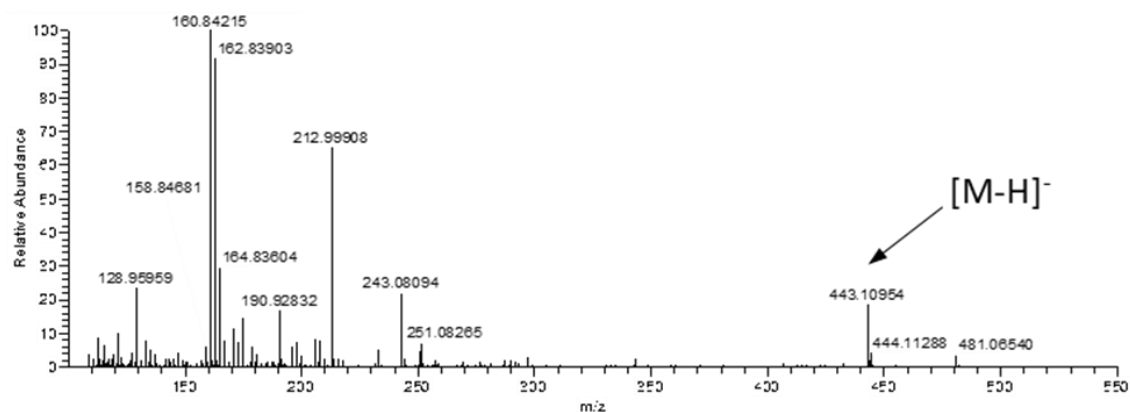


図1 DPHを含む培地中で3Dミニ肝臓を6日間培養した後の培地のHPLCクロマトグラム

MS spectrum of metabolite-3



MS/MS spectrum of parent ion

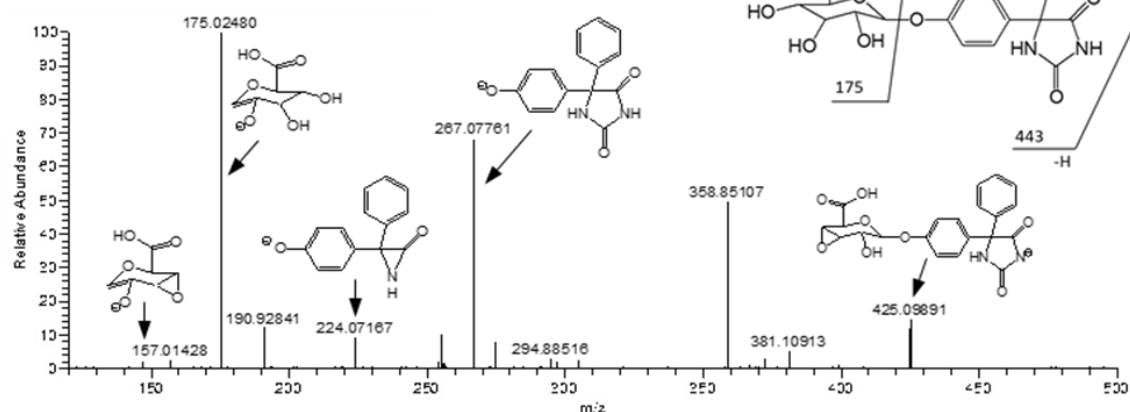


図 2 代謝産物-3 の MS スペクトル(上段)ならびに親イオンの MS/MS スペクトル
MS/MS スペクトルの各フラグメントピークから代謝産物-3 の化学構想を推定した

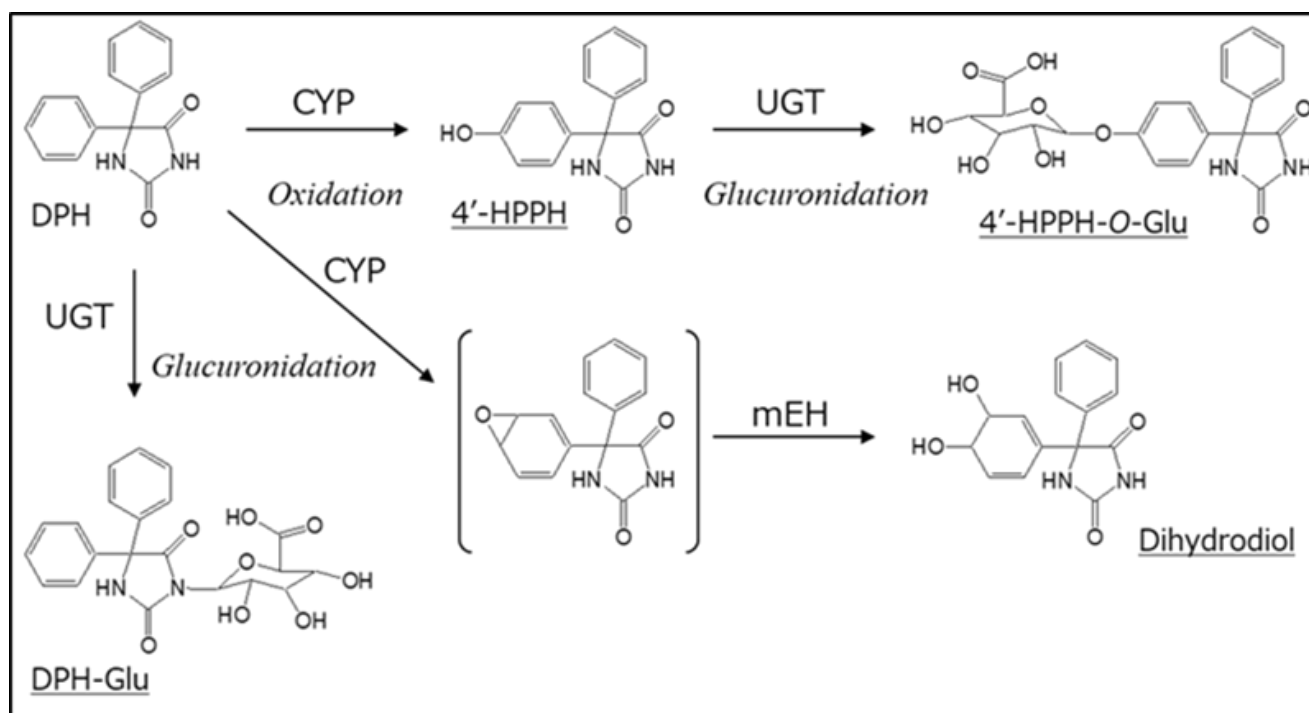


図 3 フェニトインの 3D ミニ肝臓中での代謝反応経路