

培養細胞中のソラフェニブおよび代謝物定量法の構築

○大川 星美<sup>1</sup>, 鈴木 裕之<sup>2</sup>, 森 大<sup>2</sup>, 前川 正充<sup>2</sup>, 島田 美樹<sup>1,2</sup>, 眞野 成康<sup>1,2</sup>  
(<sup>1</sup>東北大院薬, <sup>2</sup>東北大病院薬)

【目的】ソラフェニブは、腎細胞癌や肝細胞癌に対する分子標的治療薬の一つであるが、時に重篤な肝不全や肝性脳症などの副作用を発することがある。しかしながら、こうした副作用と、ソラフェニブ及び代謝物との関連性については未だ不明である。そこで本研究では、ソラフェニブおよび代謝物 *N*-オキサイドの細胞内濃度と肝機能障害との関連を精査するため、ヒト肝がん由来の HepG2 細胞に添加したそれらの、細胞内および培地中濃度の HPLC による定量法を構築することとした。

【方法】まず、培地にトルナフエート (IS)を含むアセトニトリル溶液を加えて攪拌した後、遠心して得られた上清をアセトニトリル含有量が 40%になるように希釈し、Bond Elut C18 カートリッジカラムに通導した。その後 40%アセトニトリル溶液で洗浄し、続いてアセトニトリルで溶出した画分を窒素気流下で蒸発乾固し、残渣を移動相に再溶解したものを分析用試料とした。試料の 5  $\mu$ L を HPLC に注入し、以下の条件で分析した。すなわち、分析カラムには Inertsil ODS-3 (2.1 mm i.d.  $\times$  150 mm, 5  $\mu$ m)を用い、移動相として 20 mM 酢酸アンモニウム緩衝液 (pH 4.0)/アセトニトリル (30:70, v/v)を用いて、流速 200  $\mu$ L/min に設定し、UV 265 nm で分析対象物を検出した。

【結果・考察】分析対象物は、1) 40%以上のアセトニトリルを含有する溶液に溶解すること、2)40%アセトニトリル溶液を用いても Bond Elut C18 に十分に保持されることから、前処理の全工程において 40%アセトニトリルを用いた。また、ソラフェニブ、*N*-オキサイドともに 30-30,000 ng/mL の範囲において、 $R^2=0.999$  と良好な直線性を示した。培地 200  $\mu$ L を用いた分析法バリデーションにおいて、RSD および RE がともに  $\pm 15\%$ 以内となり、本法が真度および精度に優れる定量法であることが明らかとなった。