

通过 Agilent RapidFire/MS 系统进行 高通量体外 ADME 分析：细胞色素 P450 抑制

应用简报

作者

Vaughn Miller
安捷伦科技公司
美国马萨诸塞州韦克菲尔德

引言

细胞色素 P450 (CYP) 抑制分析是药物发现过程的重要组成部分，因为药物之间的不利相互作用将导致药物开发计划终止、药物撤市或限制治疗用途。由于需要在药物发现过程的早期淘汰表现不佳的候选药物，使得体外 ADME 分析也需尽早开展，这就意味着需要评价更大量的样品。因此，需要一种能快速且经济地进行细胞色素 P450 分析的有效手段。Agilent RapidFire/MS 系统将高通量样品处理与三重四极杆 (QQQ) 或飞行时间 (TOF) 质谱 (MS) 相结合，从而简化了 ADME 分析。



Agilent Technologies

直接细胞色素 P450 抑制

RapidFire/MS 系统已被证实可用 FDA 推荐的药物探针进行细胞色素 P450 分析 (表 1)。直接 CYP 抑制实验按如下方式进行: 通过之前经过验证的分析方法¹, 采用 FDA 推荐或认可的药物探针底物, 分别用混合的人肝微粒体 (HLM) 孵育, 测定了一系列阳性对照抑制剂 (7 种非零抑制剂浓度) 的 IC_{50} 值。探针底物代谢物用稳定标记的同位素作为内标。样品分别用 RapidFire/MS/MS 系统和传统 LC/MS/MS 进行分析。结果的相关性见图 1, 表明用 RapidFire 系统得到了与 LC/MS/MS 相当的结果²。RapidFire 分析每个样品的时间约为 6 秒, 与 LC/MS/MS 的 2-4 分钟相比, 提供了一种在目前实验室工作流程下评价 P450 试验的高效手段。

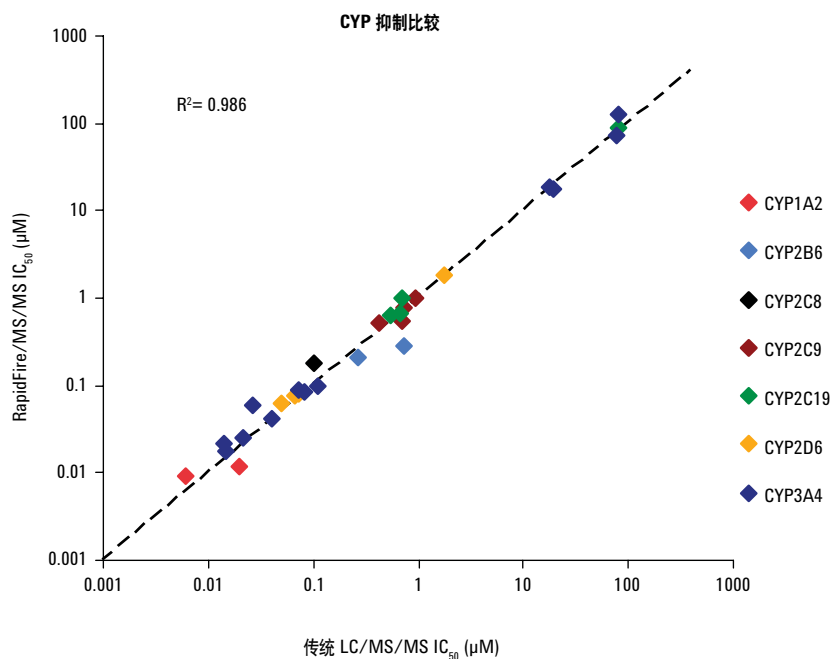


图 1. 用传统 LC/MS/MS 和 RapidFire/MS/MS 所得的 IC_{50} 值的相关性。数据显示了 8 种不同的酶/底物对, 各使用 1 到 3 种抑制剂。虚线代表一致线

表 1. RapidFire/MS 系统可以分析 FDA 推荐的药物探针

CYP1A2	他克林, 褪黑素
CYP2B6	安非他酮
CYP2C8	amodiaquol, 紫杉酚
CYP2C9	甲糖宁, 双氯芬酸
CYP2C19	S-mephenoin, 奥美拉唑
CYP2D6	右美沙芬, 丁哌洛尔
CYP2E1	氯唑沙宗
CYP3A4/5	咪达唑仑, 奎酮, 硝苯地平, 红霉素

时间依赖性细胞色素 P450 抑制

用相似的方法进行了时间依赖性 CYP 抑制试验¹。用 FDA 推荐的 CYP3A4 药物探针底物（咪达唑仑和睾酮），对一系列抑制剂用标准稀释法重复进行 HLM 孵育试验，作 7 点曲线，计算 IC_{50} 值。 IC_{50} 结果的相关性如图 2 所示，再次表明 RapidFire/MS/MS 系统得到的结果与 LC/MS/MS³ 法相当，而分析效率却提高了 20 倍左右。

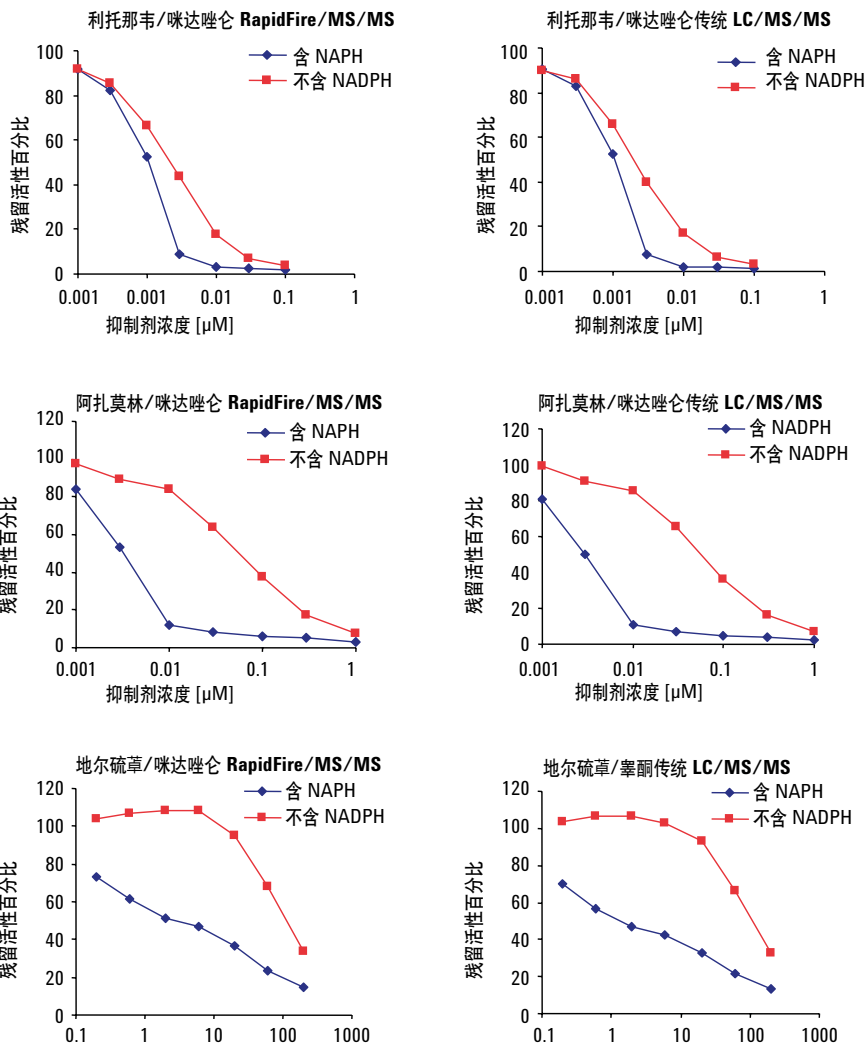


图 2. 用 CYP3A4 药物探针底物，通过 RapidFire/MS/MS 和传统 LC/MS/MS 法测定的一系列抑制剂的 IC_{50} 值（时间依赖性抑制）对比，表明结果相当。但是，通过 RapidFire/MS/MS 可以用不到 LC/MS/MS 分析一个数据点的时间分析完整条 IC_{50} 曲线（7 个点）。

结论

用 Agilent RapidFire 高通量质谱系统对细胞色素 P450 抑制试验进行了分析。我们针对 FDA 批准的标准底物分子开发了 CYP 抑制的 RapidFire 分析方法。两套实验得到的结果表明，RapidFire 系统与常规 LC/MS 方法相比具有如下主要优势：抑制试验的分析通量增加了 10 倍以上（每个样品处理时间为 6-10 秒），但结果相当（IC₅₀ 值）。因此，RapidFire 系统明显提高了常规实验室此类试验工作流程的效率和通量。

参考文献

1. Perloff, E. *et al.* Validation of cytochrome P450 time-dependent inhibition assays: a two-time point IC₅₀ shift approach facilitates kinact assay design. *Xenobiotica*, **2011**, 39(2):99-112.
2. Perloff, E. *et al.* Comparison of RapidFire Ultra High Throughput LC/MS/MS with Traditional LC/MS/MS for Cytochrome P450 Inhibition Testing. *Abstract #106*, Presented at the 11th European ISSX Meeting, May 17-20, **2009**, Lisbon, Portugal.
3. Miller, V. *et al.* Evaluation of High Throughput Screening Methods for Time-Dependent Inhibition of CYP3A4 Utilizing RapidFire LC/MS/MS Technology. Presented at the 11th European ISSX Meeting May 17-20, **2009**, Lisbon, Portugal.

www.agilent.com/lifesciences/rapidfire

仅适用于研究，不可用于诊断。本文所含的信息仅供参考，只适用于研究目的。安捷伦科技公司对您的特殊应用不提供本文数据的质量或适用性保证。

本资料中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2011
2011 年 9 月 15 日，中国出版
5990-9081CHCN



Agilent Technologies