

●タンパク結合率測定

TN198

【概要】

生体内に吸収された医薬品のうち、血清タンパクや組織タンパクと結合していない非結合型薬物が、作用や副作用を発揮することから、薬物のタンパク結合率を測定することは重要です。当社では目的に応じて、平衡透析法、限外ろ過法および超遠心法の3種類の方法により、開発化合物の各種タンパク結合率測定が可能です。とくに、超遠心法については化合物の分解を抑制し、かつ化合物の吸着の影響を回避した方法を確立しました。

【特長】

1. LC-MS/MS法により非結合型薬物濃度を高感度に測定するため、タンパク結合率が非常に高く、また、非結合型薬物濃度が低い化合物においても臨床薬物濃度での評価が可能です。LC-MS/MS測定法の開発も対応します。
2. 併用薬との共存/非共存下で、タンパク結合における薬物相互作用の評価も実施いたします。
3. 信頼性基準またはGLP対応での実施も可能です。

【実施内容】

1. 各種タンパク

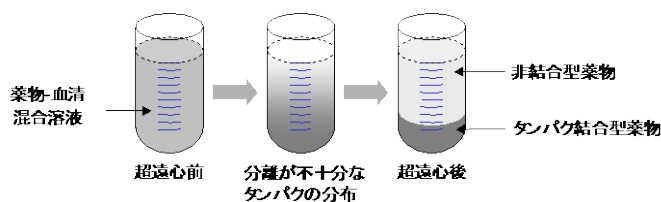
ヒトおよび各種動物の血清、血漿、各種血漿タンパク成分、肝ミクロソームタンパク など

2. 処理法

- 1) **平衡透析法**：薬物を添加した血清等のタンパク溶液と等張緩衝液を、透析膜で隔離したセルの両側へ入れ、37°Cで一定時間平衡透析後、両側セル中の薬物濃度を測定します。(注意点：透析膜への吸着、容器への吸着、等張緩衝液への溶解性、透析時間の設定)
- 2) **限外ろ過法**：限外ろ過膜をセットしたカートリッジに薬物を添加した血清等のタンパク溶液を入れ、遠心ろ過後のろ液中薬物濃度を測定します。(注意点：限外ろ過膜への吸着、容器への吸着)
- 3) **超遠心分離法**：薬物を添加した血清等のタンパク溶液をチューブに入れて超遠心分離した後、上清中の薬物濃度を測定します。(注意点：リポタンパク質結合薬物の上清混入)



平衡透析セル



超遠心分離法によるタンパク結合率測定(概念図)

[実施例]

各手法による phenytoin の血清タンパク結合率 (%)

Phenytoin 濃度		0.25 μ g/mL	2.0 μ g/mL	20 μ g/mL
超遠心分離法	37 °C、5 分間プレインキュベーション 80,000 rpm、10 °C、4 時間	—	91.6	91.2 (93.3)
平衡透析法	37 °C、18 時間 (pH 7.4-1/15 mol/L リン酸塩緩衝液)	—	82.3	82.3 (87.9)
限外ろ過法	1,200 rpm、室温、45 分間	90.4	89.3	—

() : 血漿蛋白結合率。Verbeeck RK *et al.*, *Arzneimittelforschung*. 35(6), 903-906, 1985 より引用。