

中分子医薬品（核酸およびペプチド）のバイオアナリシスにおけるLC-MS/MS (Triple Quad™7500) の有用性

大阪ラボラトリー 浜田 梨沙

1 はじめに

バイオアナリシスとは、医薬品の非臨床および臨床試験において得られた生体試料中の薬物や代謝物などの濃度分析のことです。医薬品の生体内濃度はその薬効や安全性を評価する上で重要な指標であるため、それを高感度でかつ正確に定量することが求められます。液体クロマトグラフィー-タンデム質量分析計 (LC-MS/MS) を用いるバイオアナリシスは、従来の低分子医薬品のみならず、近年注目が集まる中分子医薬品でも活用されています。本稿では、この中分子医薬品における LC-MS/MS 分析をご紹介します。

2 中分子医薬品のバイオアナリシスの課題

低分子（細胞内標的が狙える、化学合成可能）と高分子（標的への高い特異性／強い親和性）の長所を兼ね備えた中分子医薬品として核酸およびペプチドが挙げられますが、いずれのバイオアナリシスにも LC-MS/MS が有用なツールとして期待されています。

LC-MS/MS の基本原理は、イオン化させた分析対象（プリカーサーイオン）を分解して得られる特定のプロダクトイオンを検出することです。比較的分子量大きい中分子では、プリカーサーイオンが複数発生するうえに、そこから多数のプロダクトイオンが発生することから、検出する特定イオン量が低下することが一般的です。また、分析対象が装置配管へ吸着する場合もあります。これらが中分子医薬品の LC-MS/MS による高感度分析を妨げる要因となっています。

3 事例紹介

当社が導入した LC-MS/MS は、低吸着仕様 LC : Nexera™XS inert（島津製作所）および高感度 MS/MS : Triple Quad™7500（SCIEX）からなり、中分子医薬品の高感度分析に有用です。当該装置を使用して環状ペプチドおよびアンチセンス核酸を分析した事例を紹介します。

①ラット血漿中の環状ペプチド Cyclorasin9A5 の高感度分析

ペプチドは実験器具や装置配管への吸着が懸念されます。また、環状ペプチドは一般的な直鎖状ペプチドより特定のプロダクトイオンが発生しにくい特徴があります。そのため、吸着低減を目的とした前処理方法や、特定イオンの生成量を上げるために MS/MS 条件を最適化しました。その結果、ラット血漿 50 μ L を除タンパク処理後、逆相クロマトグラフィーで分析することで、Cyclorasin9A5 の検量線は、1 ~ 1000 ng/mL の範囲で直線性を示し、国際的なガイドライン

ICH-M10 の基準を満たしました。なお、同社の一つ下位機種 (Triple Quad™6500) と比較すると Signal to Noise 比で約 4 倍の高感度化に成功しています (図 1)。

②ラット肝臓中のアンチセンス核酸 Mipomersen および代謝物 12 種の一斉分析

核酸医薬品は代謝により鎖長の異なる核酸となり、鎖長の違いにより金属への吸着性や分析カラムへの保持能など物性が異なっ

てきます。これら物性の異なる核酸（代謝物含む）を一斉に分析できる条件を設定しました。その結果、ラット肝臓ライセート 50 μ L を塩基性条件下で固相抽出後、イオンペア試薬含有の移動相を使用した逆相クロマトグラフィーにより分析したところ、各成分のピークは相互に分離し、機器への吸着も抑えられ、良好なピーク形状を得ることができました (図 2)。また、全 13 成分ともに検量線の直線性は 0.1 ~ 50 μ g/g の範囲で国際的なガイドライン ICH-M10 の基準を満たしました。

このように、低吸着仕様 LC と高感度 MS/MS を組み合わせることにより、ペプチドおよび核酸の高感度分析を可能にしました。なお、本結果は、当社が参画する日本医療研究開発機構 (AMED) の「4 種の新規モダリティ医薬品を対象とする薬物動態評価のための生体試料中濃度等分析法の開発と標準化に関する研究」のもとで取得したものです。

4 おわりに

Triple Quad™7500 の導入により、これまで難しかった中分子医薬品の LC-MS/MS 高感度分析が可能となりました。お客様の研究開発に新たなオプションとしてご活用いただけるものと思います。さらに、高感度分析による生体試料の使用量の削減、分析法確立の迅速化など研究開発の加速化が期待できます。

当社は LC-MS/MS に強みを有しており、さらに向上すべく最新装置の導入や技術開発を進め、新たな価値を提供できるよう努めてまいります。

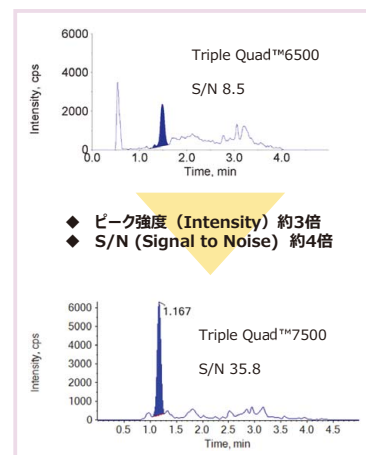


図1 Cyclorasin9A5分析における Triple Quad™ 6500および 7500の感度比較

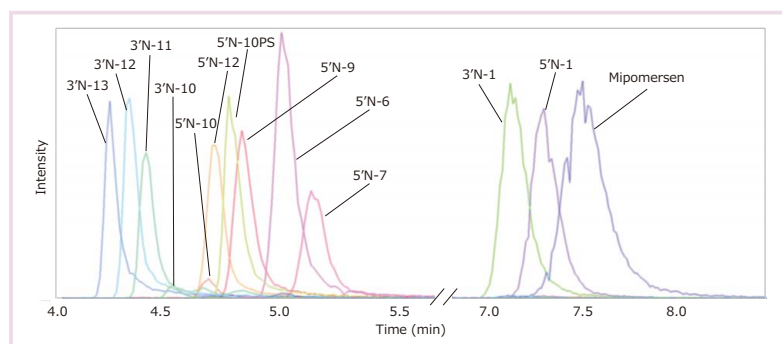


図2 アンチセンス核酸医薬品Mipomersenおよび代謝物12種のクロマトグラム



浜田 梨沙
(はまだ りさ)
大阪ラボラトリー