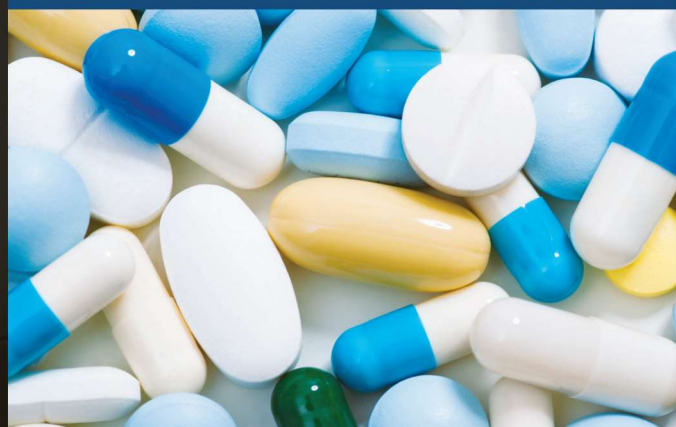




Thermo Scientific
early Drug Discovery



高分解能質量分析計が

探索薬物動態の常識を変える

さらなるスループットの向上とランニングコストの削減

探索薬物動態試験のためのオービトラップ質量分析計

高分解能・精密質量分析計 **Q Exactive Focus**

探索薬物動態研究では、さまざまな *in vitro* ADME 試験によって、日々数百もの化合物 (NCEs: New Chemical Entries) のスクリーニングが行われています。通常これらの試験では、トリプル四重極質量分析計を用いたMRM法を利用して、目的化合物の定量分析が行われます。しかし、このMRM法では、感度、特異性、スループット能を補うために、各々の化合物に対してメソッドを最適化する必要があり、結果として時間とコストがかかります。さらに、MRM法はターゲット分析の手法であるため、生体試料中の代謝物のようなノンターゲット化合物の情報を取得することができません。

近年、このような課題を克服し、さらなるスループットの向上、コスト削減を実現するために、オービトラップ質量分析計を活用した探索スクリーニングが行われています。なかでもThermo Scientific™ Q Exactive™ Focusは、スクリーニングのためにデザインされた四重極とオービトラップのハイブリッド質量分析計であり、高い分解能と質量精度により定量分析だけでなく定性分析も行えます。



Q Exactive Focus

Q Exactive Focusの探索薬物動態試験におけるメリット

- 定量分析におけるメソッドの最適化が不要で生産性が向上
- 試験に合わせて選べる多彩な定量メソッド (フルスキャン、SIM、PRM)
- 高分解能・精密質量のフルスキャンデータとともにMS/MSデータを取得可能
対象化合物の代謝安定性の評価だけでなく、同時に代謝物のプロファイリングも実行でき、探索薬物動態研究を効率化
- フルスキャンにより多成分の同時定量が可能
タンパク質結合試験やPAMPAなどのカセットインキュベーションにも対応し、さらなるスループットの向上とコスト削減を実現
- SIM法あるいはPRM法によって、トリプル四重極よりも高い選択性と同等以上の感度を提供
in vivo PKスクリーニングにも対応可能



代謝安定性試験 & 代謝物同定

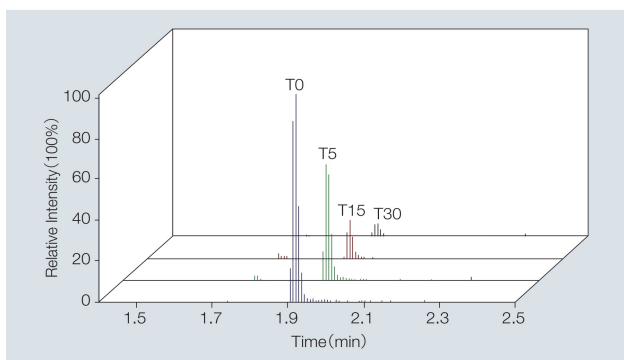
探索薬物動態研究の生産性を大幅に向上

Background

薬物の体内動態は、代謝の受けやすさに大きく影響されるため、創薬の初期段階で代謝安定性試験を実施することが必須となっています。また、代謝的に安定な化合物を創出するために代謝部位を特定したり、毒性を回避するために代謝物を検索することも、創薬初期段階において重要です。

Solution

Q Exactive Focusは、薬物の代謝安定性を定量的に評価できるだけでなく、同時に主要な代謝物の情報を取得することができます。高分解能・精密質量のフルスキャンデータから、サンプル中の薬物の濃度推移をモニタリングでき、同時に生成した代謝物の検出・プロファイリングもできます。またQ Exactive Focusは、UHPLCを用いたハイスループット分析にも対応し、探索薬物動態研究の生産性を大幅に向上させます。



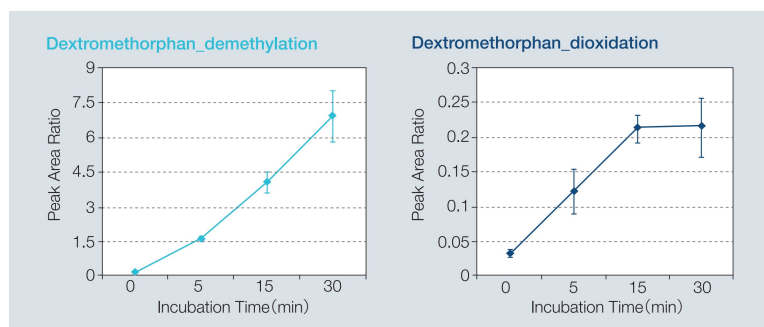
Diclofenacの*in vitro*代謝安定性試験を実施した時の薬物消失推移（分解能:50,000で測定した時のクロマトグラムデータ）

Parent drug	$t_{1/2}$ (min)	
	By MRM	By HRMS (50K)
Warfarin	225	208
Propranolol	52.4	55
Dextromethorphan	46	41
Bufuralolol	46.3	51.5
Testosterone	7.33	6.54
Diclofenac	7.53	6.73
Midazolam	3.37	3.03

各種テスト薬物の*in vitro*代謝安定性試験を実施した時の半減期における各装置間の比較データ。高分解能MS（分解能50,000）の定量データは、トリプル四重極（MRM）のデータと高い相関性が見られた。

Met ID	RT (min)	Putative modification	Formula	Mass accuracy	Peak time (ppm)	% Parent peak
M1	0.73	Glucuronidation (O, N, S) & demethylation	C ₂₃ H ₃₁ NO ₇	1.2	T30	0.5
M2	1.00	Mono-oxidation & demethylation	C ₁₇ H ₂₃ NO ₂	0.7	T30	0.3
M3	1.11	Hetero oxide reduction & hydrogenation	C ₁₈ H ₂₇ N	-1.9	T30	0.3
M4	1.11	Demethylation	C ₁₇ H ₂₃ NO	-0.9	T30	88.9
M5	1.15	2X-Demethylation	C ₁₆ H ₂₁ NO	0.2	T30	0.9
M6	1.27	Mono-oxidation	C ₁₈ H ₂₅ NO ₂	0.8	T30	1.3
M7	1.37	Di-oxidation	C ₁₈ H ₂₅ NO ₃	0.3	T15-T30	0.2
M8	1.46	Mono-oxidation	C ₁₈ H ₂₅ NO ₂	0.2	T30	5.1
M9	1.46	Demethylation	C ₁₇ H ₂₃ NO	0.2	T30	4.5
M10	1.63	Glucuronidation (O, N, S)	C ₂₄ H ₃₃ NO ₇	-0.2	T15	0.4

高分解能MSによって同定されたdextromethorphanの主要代謝物と同時に取得した定量情報。ピークタイム (Peak time) は、各代謝物が最大量になった時のタイムポイントを表示。% Parent peakは、未変化体のピークレスポンスに対する各代謝物の相対値 (%) を表示



インキュベーション中のdextromethorphanの主要代謝物の濃度推移。各代謝物は高分解能MSによって同定し、定量

CYP阻害試験、タンパク質結合試験・膜透過試験

アッセイの時間を短縮し、ランニングコストも削減

Background

薬物の相互作用による影響を評価するCYP阻害試験や薬物の吸収率を評価する膜透過試験、さらに薬物と血漿タンパク質との結合率を評価するタンパク質結合試験などは、薬物の体内動態や有効性、安全性を決定する上で非常に重要です。これらの試験では、しばしば複数の化合物（4～8化合物）を同時にカセットインキュベーションし、定量分析で評価されています。

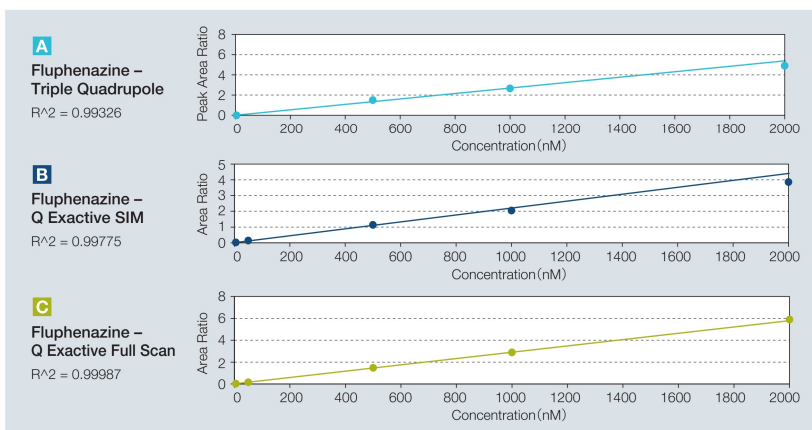


Solution

Q Exactive Focusなら、高分解能のフルスキャンデータを取得できるため、化合物数をほぼ制限なく同時にモニタリングでき、優れた定量パフォーマンスを提供します。トリプル四重極と同等のデータが得られるだけでなく、アッセイの時間を80%も短縮でき、90%以上のコストを削減できる*可能性を持っています。

Compound	Q Exactive (SIM) % Free	Q Exactive (Full Scan) % Free	Triple Q (MRM) % Free	Average	StdDev	% CV
Propranolol	30.03	30.45	30.00	30.16	0.21	0.68
Diltiazem	26.36	29.80	27.70	27.95	1.42	5.06
Imipramine	13.73	13.67	13.10	13.50	0.28	2.10
Halperidol	9.38	8.73	9.50	9.20	0.34	3.68
Carbamazepine	27.75	30.74	26.40	28.30	1.81	6.41
Chlorpheniramine	27.60	29.79	27.00	28.13	1.20	4.26
Phentolamine	36.84	38.43	33.80	36.36	1.92	5.28
Buspirone	20.33	20.22	23.30	21.28	1.43	6.70
Verapamil	16.66	15.29	16.20	16.05	0.57	3.55
Desipramine	18.37	18.32	16.10	17.60	1.06	6.02
Clozapine	7.45	7.10	6.70	7.08	0.31	4.33
Acebutolol	82.00	72.00	65.10	73.03	6.94	9.50
Retonavir	1.61	1.59	2.00	1.73	0.19	10.89
Thioridazine	0.60	0.69	0.50	0.60	0.08	13.01
Nefazadone	1.00	0.80	0.90	0.90	0.08	9.070
Timolol	73.40	67.20	88.10	76.23	8.76	11.50
Minaprine	25.05	34.90	28.60	29.52	4.07	13.80
Fluphenazine	1.53	1.38	1.20	1.37	0.13	9.85
Metoprolol	62.92	58.52	79.00	66.81	8.80	13.17
Bendamustine	0.18	0.19	0.20	0.19	0.01	4.30

各テスト薬物における血漿タンパク質結合試験の結果と各装置間の比較。% Freeは各化合物における非結合率、%CVは各装置間の変動係数(%)を表示。高分解能MS (SIMおよびフルスキャン)の定量データは、トリプル四重極 (MRM)のデータと良い相関性が見られた。



タンパク質結合試験のブランク溶液で希釈 (5 nM ~ 2000 nM)したFluphenazineの各装置における検量線
A トリプル四重極 (MRM) **B** Q Exactive (SIM) **C** Q Exactive (フルスキャン)

*出典: Jun Zhang, *et al.*

Cassette incubation followed by bioanalysis using high-resolution MS for *in vitro* ADME screening assays. *Bioanalysis* 4 (5), 581–593, 2012

in vivo PK/TKスクリーニング

マトリックスを排除し、高感度かつ信頼あるデータを提供

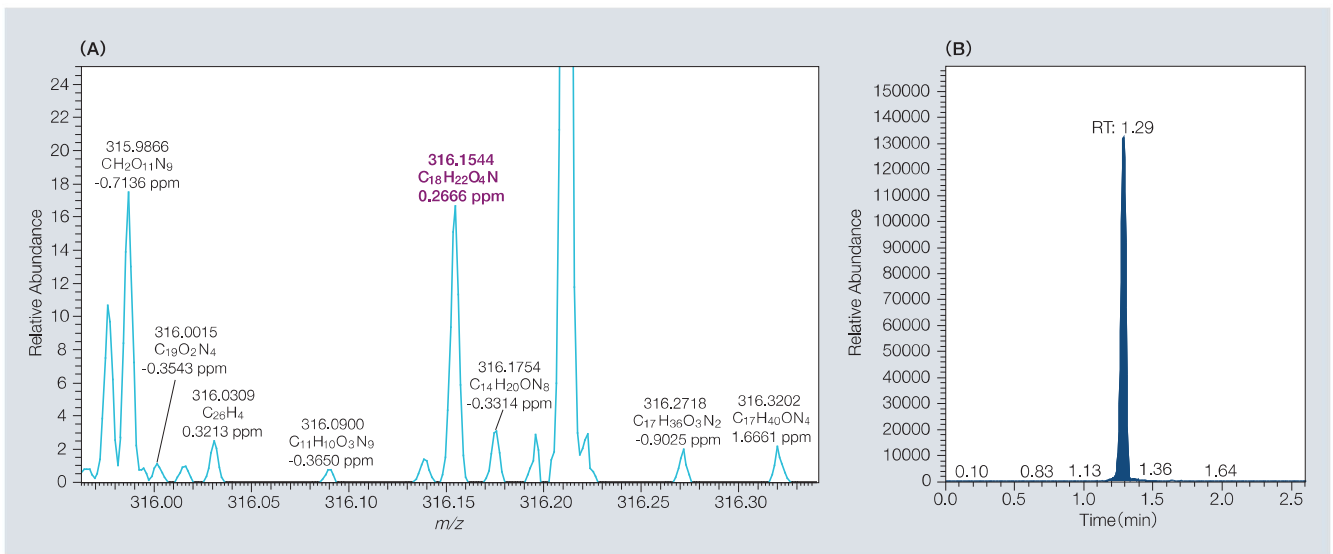
Background

創薬初期段階における *in vivo* PK/TKスクリーニングは、投与された薬物の濃度とその時間的推移を調べることで *in vitro* 試験との相関性を評価し、薬物の吸収、分布、代謝、排泄、あるいは毒性を説明する上でも重要な試験です。 *in vivo* のサンプルは、複雑なマトリックスのため多くの夾雑成分が含まれており、分析における高い選択性と感度が求められます。

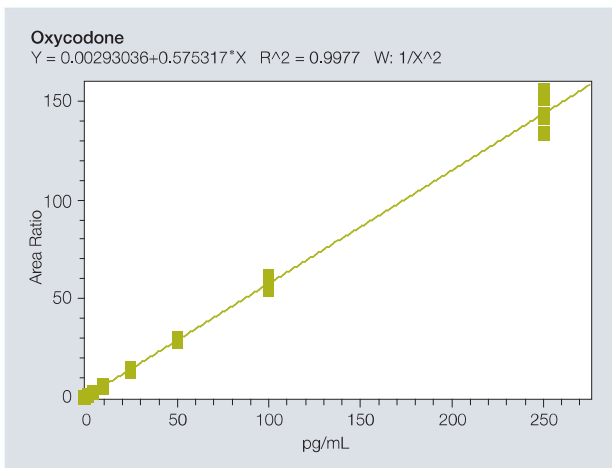


Solution

Q Exactive Focusは、高い分解能と質量精度により、複雑なマトリックスでも目的成分と夾雑成分を識別できる、高い選択性により高感度定量分析を実現します。また、検量線における良好な直線性と優れた精度、真度をもたらし、さらにトリプル四重極のMRM法のようなメソッドの最適化が不要なため、PK/TKスクリーニングの生産性も向上します。



ラット血漿にスパイクしたOxycodoneの定量下限値 (5 pg/mL) におけるMSスペクトル (A) と抽出イオンクロマトグラム (B)



ラット血漿にスパイクしたOxycodone (5~250,000 pg/mL, n=6) の検量線 (5~250 pg/mL付近を拡大して表示)

Std Conc (pg/mL)	Avg Calc Conc	Avg % Diff	Replicate %RSD
5	4.94	1.2%	6.0%
10	10.4	3.9%	9.4%
25	24.2	3.3%	4.2%
50	50.0	0.1%	2.0%
100	99.4	0.6%	2.8%
250	242	3.1%	2.7%
500	503	0.6%	1.3%
1000	1020	2.0%	1.8%
2500	2420	3.2%	3.5%
5000	5048	1.0%	2.4%
10000	10252	2.5%	1.3%
25000	24592	1.6%	2.7%
50000	50423	0.8%	2.3%
100000	100008	0.0%	4.8%
250000	255576	2.2%	6.1%

ラット血漿にスパイクしたOxycodone (5~250,000 pg/mL, n=6) の平均濃度、精度および真度

探索薬物動態試験を支える



Vanquish UHPLC システム

Thermo Scientific Vanquish™ UHPLCシステムは、探索スクリーニングを新たなレベルに引き上げます。このシステムでは、これまでよりも良好かつ高速な分離が可能です。卓越したコントロールおよび安定性により比類無い再現性を実現し、重要な知見を得ることができます。

- 最大化された分離能、フローおよびグラジエント精度を提供
- 再現性の高いサーモスタットによる分離コントロールを実現
- Vanquishチャージャーモジュールによる多検体分析も可能



TraceFinderソフトウェア

Thermo Scientific TraceFinder™は、探索薬物動態試験に最適な定量分析用のソフトウェアです。化合物情報をインポートするだけで簡単に構築できるメソッドや包括的なデータのレビュー、カスタマイズ可能なレポート機能など、分析に即したワークフローを提供します。探索スクリーニング分析に必要な機能が含まれており、ラボでの作業効率を最大限に高めます。

©2015 Thermo Fisher Scientific K.K. 無断複写・転載を禁じます。

ここに記載されている会社名、製品名は各社の商標、登録商標です。
ここに記載されている内容は、予告なく変更することがあります。
ここに記載されている製品は研究用機器であり、医療機器ではありません。

サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社
分析機器に関するお問い合わせはこちら

TEL 0120-753-670 FAX 0120-753-671
〒221-0022 横浜市神奈川区守屋町3-9

E-mail: Analyze.jp@thermofisher.com
www.thermoscientific.jp

LCMS048_A1509CE

Thermo
SCIENTIFIC
A Thermo Fisher Scientific Brand