

マイクロドーズ投与における LC/ESI-MS/MS を用いたヒト血漿中薬物濃度測定

(JCL バイオアッセイ¹・東京大学大学院薬学系研究科²・北里大学大学院医療系研究科³・北里大学東病院 治験管理センター⁴)

やまねなおえ¹ とづかぜんざぶろう¹ すぎやまゆういち² やまざきあきら³ くまがいゆうじ⁴
山根尚恵¹・戸塚善三郎¹・杉山雄一²・山崎晃³・熊谷雄治⁴

Determination of Drug Concentration in Human Plasma using LC/ESI-MS/MS at a Microdose

(JCL Bioassay Corporation¹, Graduate School of Pharmaceutical Sciences The University of Tokyo², Kitazato University Graduate School of Medicine³, Clinical Investigation Center, Kitazato University East Hospital⁴)

N.Yamane¹, Z.Tozuka¹, Y.Sugiyama², A.Yamazaki³, Y.Kumagai³

Short Abstract: The first clinical trial at a microdose with cold drug, not radioisotope-labeled drug, has been conducted. For support the determination of drug concentration in the trial, we validated the analytical method using LC/ESI-MS/MS which was expected high-sensitive analysis. The instrument used generally for quantitation that gives us prompt analysis and user-friendliness. Therefore we tried to develop high-throughput methods from the sample preparation to the data acquisition. In this presentation, we will discuss on the basis of the analytical data how the determination of drug concentration using LC/ESI-MS/MS is useful and effective in microdosing study.

Keywords: microdose, LC/ESI-MS/MS, analytical validation

1. はじめに

マイクロドーズ臨床試験における血漿中薬物濃度測定は、薬物投与量が予想臨床投与量の 100 分の 1 以下あるいは $100 \mu\text{g}/\text{man}$ 以下のうちいずれか低い用量と制限されているために超高感度測定が求められ、欧米においては、 $10^{-21} \sim 10^{-18}$ mol まで測定可能な加速器質量分析計 (AMS) が用いられている^{1) 2)}。ただし、この装置を用いて血漿中薬物濃度測定をするには、ヒトへの投与に放射性同位体元素でラベル化したいいわゆる hot の化合物が必要である²⁾。hot の化合物は、合成やその血漿中薬物濃度測定に時間を要するため、医薬品開発の律速段階とならざるを得ない。その上、AMS は、世界に約 50 施設にしかなく、そのうちわずか 3 施設のみが bioanalysis に使用されているにすぎない。また、日本においては、hot の化合物を用いた臨床試験は受け入れられにくいのが現状である。そこで、放射性同位体元素でラベル化していない、すなわち cold の化合物を投与することにより、その血漿中薬物濃度測定が LC/ESI-MS/MS により可能になる

ことに着目した。LC/ESI-MS/MS 法は、測定試料の調製が簡便で、試料処理から測定データ取得までの迅速性において優れており、定量においては最も汎用性が高い。日本でも LC/ESI-MS/MS は普及している装置であり、我々のラボにおいても、今や技術の向上により、化合物の感度が良ければ、pg/mL オーダーまで定量可能である³⁾。今回、我々は日本初の試みとして、この cold の化合物を用いたマイクロドーズレベルの臨床試験を実施することにした。本講演では、その試験の目的のひとつである「血漿中薬物濃度測定に LC/ESI-MS/MS は、有用か？」について発表する。

2. 試料処理法

LC/ESI-MS/MS を用いて生体試料中薬物濃度を高感度に測定するには、試料処理においてマトリックス成分をいかに除去し、目的化合物のイオン化を促進するかに寄与している。試料処理法には、主に、除タンパク法、液-液抽出法、固相抽出法が用いられている。その中でも固相抽出法は、試料のクリーンアップ、使用有機溶媒量の削減、処理時間の短縮、処理操作の簡便性に優れている。今回の試験において、試料処理には 96-well プレートを用いた固相抽出法を取り入れ、多検体処理の効率化についても検討したので報告する。

3. LC/ESI-MS/MS による血漿中薬物濃度測定

LC/ESI-MS/MS による測定法の開発は、定量用ソフトウェアで自動化されており、目的化合物の最適なメソッドを容易に作成することが可能である。また、測定のシーケンス作成からデータ取得、データ解析に至るまでひとつのソフトウェアで実行可能であるため、操作性が高い。測定法が確定すれば、次に、定量の再現性、信頼性を確保するために分析法バリデーションを実施する必要がある。今回の試験のためのバリデーションは、マイクロドーズレベルの投与に対応して pg/mL オーダーの血漿中薬物濃度が測定可能となる濃度範囲において実施した。最後に、マイクロドーズ投与の測定試料から得られる薬物動態プロファイルと臨床用量を投与した場合のそれを比較することにより、その薬物の線形性を考察すると共に、マイクロドーズ投与における LC/ESI-MS/MS を用いた血漿中薬物濃度測定の有用性及び可能性について考察する。

参考文献

- 1) Position Paper on non-clinical safety studies to support clinical trials with a single microdose. The European Medicines Agency (EMA), Evaluation of medicines for Human Use, CPMP/SWP/2599/02/Rev 1, London, June 23, 2004.
- 2) Lappin G., Garner R.C. Big Physics, Nature Reviews Drug Discovery, **7**, 233-240 (2003).
- 3) 馬屋原宏, 山根尚恵, 菊池基康, 臨床薬理, **36**, 7-18 (2005).