

CE-MS 技术对蛋白类药物稳定性的体内研究

目的

采用 CC1 型阳离子涂层分离毛细管和 EMASS-II 型 CE-MS 联用离子源, 通过 CE-MS 技术对蛋白药物在体内的稳定性进行研究。

背景

在药物发现、开发和上市后监测的整个生命周期中, 对药物代谢和药代动力学 (DMPK) 的研究是提供关于药物的吸收、分布、代谢和排泄 (ADME) 特性信息的关键要素。同时随蛋白质工程的发展, 开发“下一代生物制剂” (NGB) 已成为热点研究方向。NGB 具有复杂蛋白结构, 通常在其开发过程中存在一些困难。为了解 NGB 药物在体内的 DMPK 过程和得到体内研究数据, 需开发新的分析方法, 以便对 NGB 药物实现全面的生物转化评估。本研究利用 CE-MS 方法对生物药在体内的稳定性实现在线表征分析。

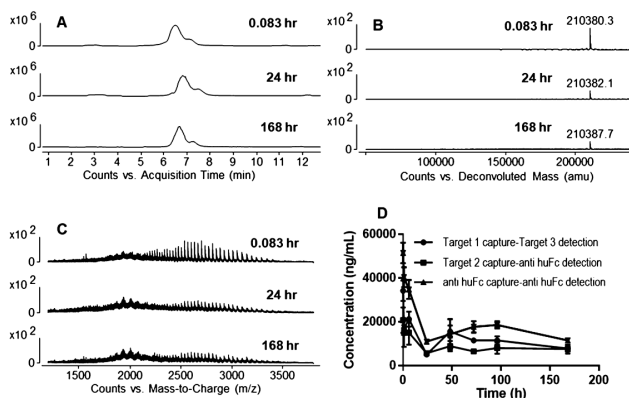


图1. 小鼠体内特异性单抗的 CE-MS 分析结果。

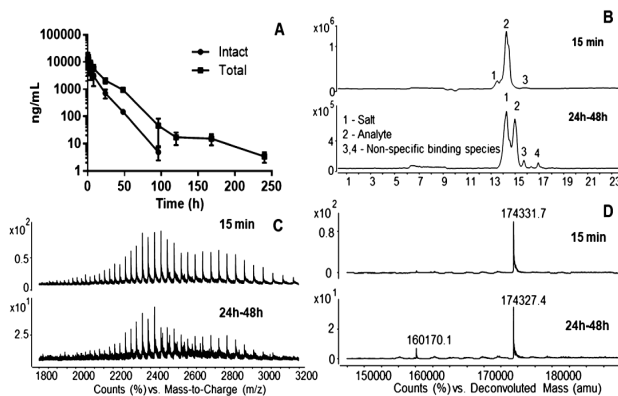


图2. 猕猴体内双特异性抗体的 CE-MS 分析结果。

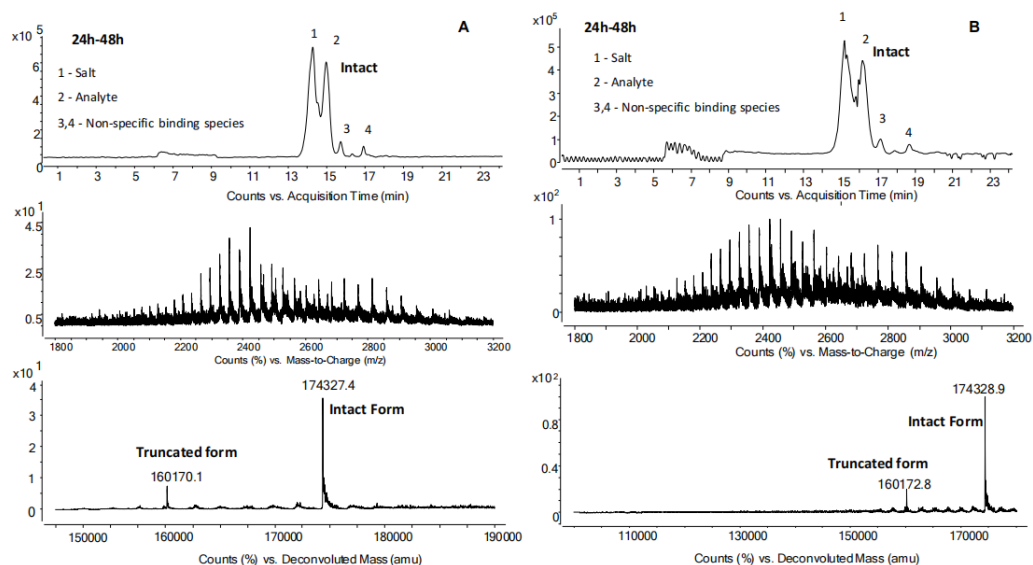


图3. 体内生物样品稳定性的研究结果。

解决方案

仪器试剂:

CMP Scientific ECE-001 型毛细管电泳仪。EMASS-II 型 CE-MS 联用离子源 (CMP Scientific, P/N: EM3001-A)。70 cm CC1 型阳离子涂层分离毛细管 (CMP Scientific, P/N: E-SC-CC1-360/150-50-70-B1)。BGE 为 30% 的乙酸, SL 为 0.5% 甲酸和 10% 异丙醇。

实验方法:

样品进样 930 mbar, 10 s。分离电离电压 -30 kV。外接电源电喷雾电压 1.9-2.2 kV。喷嘴尖端到质谱距离 3.5-5 mm。

质谱参数:

采集范围 800-4,000 m/z。干燥气温度 350°C, 4 L/min。Fragmentor 电压 325-400V, Skimmer 电压 65 V, Vcap 0 V。

结果

图1 是对小鼠体内特异性抗体进行 CE-MS 分析的结果, 在三个时间点的体内稳定性评估中, 发现特异性抗体在体内表现十分稳定, 不同时间下药物在 CE-MS 上的响应变化与 ELISA 的结果整体趋势一致, 但 24 小时的 ELISA 实验数据出现明显异常。因此, CE-MS 作为 ELISA 的替代方法, 可减少假阳性或假阴性结果。图2 是猕猴体内双特异性抗体的 CE-MS 分析结果, 图2A 是测量的总蛋白和完整蛋白浓度, 可以发现完整蛋白在 100 小时后被完全清除。图2B 的峰1鉴定为盐, 峰 3 和 4 为未知的非特异性结合蛋白, 且除完整蛋白分子外, 还有存在截断形式。图3 是对蛋白药物在体内的稳定性研究结果, 分别对新鲜配置和经 -70°C 冻融后的样品进行 CE-MS 分析, 发现两组结果的差异不大, 冻融后重现性良好。

总结

在本方法中, 使用 CC1 型阳离子涂层分离毛细管和 EMASS-II 型 CE-MS 联用离子源, 成功实现了对体内生物药物的快速分析, 具有快速高效、灵敏度高、分离度好等优点。本方法可应用于 NGB 药物在体内的生物转化和稳定性的研究, 推动生物药的设计开发和在体内的 DMPK 研究, 满足 NGB 药物开发的技术需求。