

25P-am07S

生体模倣トラッピングカクテル：新規反応性代謝物評価法の開発研究

○保坂 周斗¹, 本多 拓人¹, 李 宣和¹, 大江 知行¹ (¹東北大院薬)

【背景・目的】薬物の代謝過程で生成する反応性代謝物は、タンパク質や DNA との共有結合を介して、種々の副作用を惹起し得る。現在リスク評価法として、*in vitro* の反応性代謝物を glutathione で捕捉し、LC-MS/MS 解析するトラッピングアッセイが汎用されている。しかし、反応点 (求核性官能基) を網羅できないため、共有結合性試験のデータと乖離することも多い。先に当研究室では、predicted multiple selected reaction monitoring によるヒト血清アルブミン上薬物修飾の解析システムを開発した^[1]。今回、リスク評価の更なる効率化のため、タンパク質上の求核性アミノ酸を単純モチーフ化し、各々対応する安定同位元素標識体を含め混合液とした『トラッピングカクテル』の有用性を、ミクロソーム代謝系に応用し検証した。

【実験】各アミノ酸モチーフは、対応する標識体と 1:1 の比で用いた (Arg 型, [²H₀]/[²H₃]-1-methylguanidine; Cys 型, [²H₀]/[²H₄]-2-mercaptoethanol; His 型, [²H₀]/[²H₅]-4-methylimidazole; Lys 型, [²H₀]/[²H₉]-*n*-butylamine)。各種モデル薬物とアミノ酸モチーフカクテルを、ラット肝ミクロソーム懸濁液中でインキュベート (37 °C、1.5 時間) し、LC/ESI-MS/MS 分析に付した。

【結果・考察】モデル薬物 42 種中 16 種から、反応性代謝物のアミノ酸モチーフ付加体が検出され、glutathione で補足されない代謝物も幾つか見出した。また付加体は、質量差の設定を Δ3, 4, 5, 9 Da とする mass tags triggered data dependent MS/MS を用いる時、選択的検出が可能であり、特徴的なダブルレットピーク幅により反応点を容易に同定できた。以上、本法が *in vitro* 代謝系における反応性薬物のアミノ酸ごとの反応性評価に有用である事が示された。

【文献】[1] Osaki, Goto, Lee, Oe: *Anal. Biochem.*, **449**, 59–67 (2014).