

疏水色谱模式下对抗体偶联药物的 DAR 分析

DAR Analysis of Antibody-Drug Conjugate by HIC

随着近年抗体药物市场的持续扩大，2012年全球销售额前10名的药物中有7个为抗体药物。而抗体-药物偶联物（Antibody-Drug Conjugate; ADC）是最有望成为仅次于抗体药物的下一代生物制药。ADC是将小分子化药通过化学结合到抗体（IgG）上形成的复合物。由于抗体中存在多个结合位点（Cys, Lys 残基等），结合部位以及结合数量的不同会导致不均一性。这些不均一性会对ADC药物的药效、甚至是安全性产生影响。由于小分子化药的疏水性比抗体要高，结合的数量不同也会导致ADC药物的疏水性发生变化。所以，利用这个原理通过疏水色谱模式可以对结合在抗体上的小分子化药的结合量（Drug to Antibody Ratio; DAR）进行分析。本报告中，使用了 TSKgel Butyl-NPR 色谱柱对ADC进行分离分析。

实验中使用的样品是将抗肿瘤药物（MMAE）通过化学结合到赫赛汀上的ADC药物（Herceptin-vcMMAE）。

在疏水色谱模式通常使用的硫酸铵梯度洗脱条件下，ADC无法很好的被洗脱出来。因此在洗脱液B中加入有机溶剂2-丙醇，并调整有机溶剂至合适的浓度，可以将（DAR=0、2、4、6、8）五个不同结合比例的组分峰很好的分离出来。（DAR是提取各组峰并通过LC-MS/MS进行定性鉴定）

参考文献

1. A. Wakankar, Y. Chen, Y. Gokarn and F. S. Jacobson. *mAbs* 2011, 3(2), 161-172
2. J. F. Valliere-Douglass, W. A. McFee, and O. Salas-Solano. *Anal. Chem.* 2012, 84, 2843-2849
3. N. S. Beckley, K. P. Lazzareschi, H.-W. Chih, V. K. Sharma, and H. L. Flores. *Bioconjugate Chem.*, 2013, 24 (10), 1674-1683

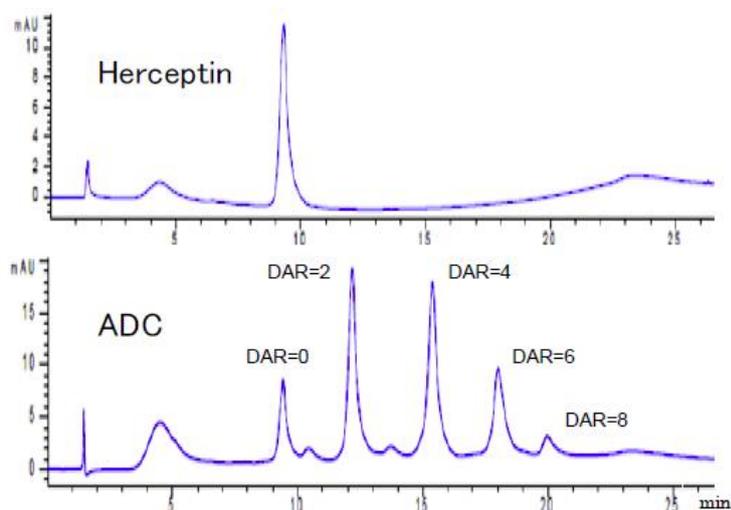


图1 HIC法分离赫赛汀和ADC药物

分析条件

色谱柱: TSKgel Butyl-NPR (4.6 mm I.D. X 10 cm)
 洗脱液: A) 25 mmol/L 磷酸盐缓冲液 (pH 7.0) + 1.5 mol/L 硫酸铵
 B) 25 mmol/L 磷酸盐缓冲液 (pH 7.0) / 2-丙醇 = 8 / 2
 梯度洗脱: 0 → 100% B (20分钟)
 流速: 0.5 mL/min
 检测: UV 280 nm
 进样量: 10 μL
 样品浓度: 赫赛汀:0.24 g/L, ADC (Herceptin-vcMMAE): 2.2 g/L