

# バイオアナリシス

バイオアナリシスは、生体試料中の医薬品及び開発化合物、並びにそれらの代謝物の測定を意味しており、近年盛んに行われているバイオマーカー探索における生体内化合物等のバイオマーカー候補物質の生体試料中濃度測定も含まれます。

当社では、1983年（昭和58年）より、医薬品薬物動態試験を開始し、医薬品の研究開発の様々なステージにおける生体試料中の開発化合物とその代謝化合物の濃度測定法の開発、分析法バリデーション、並びに非臨床試験及び臨床試験で採取される実試料中の薬物とその代謝物の濃度測定を各種ガイドラインに従って実施し、更に申請資料の信頼性の基準に基づき試験資料を作成しています。

また、この従来のガイドラインにおける薬剤濃度測定のノウハウと豊富なマーカー探索試験での分析経験を生かして、様々な濃度測定法を確立します。

## ● 薬物

薬物関連のガイドラインに対応した試験、当局申請データ用の試験の実施。生体試料中の薬物濃度測定を行い、新薬開発の支援を行う。

<代表的な試験実施例>

- ・ 創薬における候補化合物に関する、ミクロソーム・ヘパトサイトを用いた代謝安定性、主要CYPの特定と代表的プローブ化合物を用いた代謝阻害評価
- ・ TKを含む各種前臨床試験からの体液、細胞、組織中の対象化合物と関連化合物の濃度測定
- ・ 治験を含む各種臨床試験において実施される臨床薬物動態試験
- ・ 市販の有害事象発症に関連する薬物濃度測定

## ● 生体内化合物

分析法開発、分析法バリデーションの経験に基づき、生体内化合物の濃度測定を実施。新たなバイオマーカーの探索の結果、見出されたマーカーの定量を行う。

<代表的な試験実施例>

- ・ ヒト血漿中のD,L-アミノ酸

## ● 実測定までの流れ

### 分析法開発

標準品を用いて検討試験を行います。



### 分析法バリデーション

実際のマトリックスに標準品を添加し、確認試験を行います。



### 実測定

当局申請用で必要となる、信頼性基準試験も可能です。

## 分析法開発

当社は長年培ってきた分析技術を応用し、医薬品研究における向精神薬、抗がん剤などや、疾患マーカー化合物、機能性代謝物など、幅広い分野の分析法開発の支援サービスを行っています。  
(分析法を新たに確立する際には、分析法バリデーション(次項目)を実施する必要があります。)

### ● 既存試験における分析法の改善(高感度化、選択性向上等)

- ・ 現行法(従来法)の高感度化、選択性向上条件の検討
- ・ 測定法変更のための条件設定

### ● 薬物、生体内化合物の超微量分析法の確立

- ・ 幅広い生体試料を対象に、微量に含まれる薬物、生体内化合物の測定方法の開発
- ・ 開発した分析法は信頼性の基準の下において分析法バリデーションも実施可能

### ● 測定装置

- ・ LC-MS/MS、GC/MS

\* 質量分析装置を用いた分析法開発は下記の項目を検討する必要があり、標準品を用いて検討を行います。

### ● 定量法開発事例 : LC-MS/MS



LC条件最適化

ダイナミックレンジ      グラジエント選定

バッファー、pH、濃度      など

MS条件最適化

イオン化法、極性、溶媒選定      プレカークサーイオンの確認

プロダクトイオンの確認      MSパラメーターの最適化      など

### ● 定量法開発事例 : GC/MS



GC条件最適化

カラム選定      注入法選定

カラムオープンの昇温条件の最適化      など

MS条件最適化

イオン化法      scan測定でのフラグメントイオンの確認

SIMのイオン選定      検出器電圧の調整      など

# 分析法バリデーション

薬物を投与した後の、生体試料中の対象薬物、あるいはその関連化合物の測定濃度の信頼性を担保するために、実施される機器分析試験。分析法バリデーションによって、生体マトリックス（血漿、組織、尿、糞便など）中の薬物の定量範囲を決定づけます。

## 【フルバリデーション】

医薬品の当局への申請を目的として実施される分析法バリデーションです。非臨床、臨床試験で採取される試料中の薬物濃度測定が対象です。

フルバリデーション 試験項目		
選択性	定量下限	検量線
真度及び精度	マトリックス効果	キャリーオーバー
希釈の妥当性	安定性	—

## 【簡易バリデーション】

当局への申請を対象とせず、研究的に生体試料中の薬物濃度の測定が必要なときに、簡易的に取得する分析法バリデーションデータです。また、フルバリデーション実施前のプレデータとして取得します。主に選択性、検量線、真度及び精度の項目を実施します。

### 前処理検討

ヒト血漿を用いた検討

- 除タンパク剤選定
- 液-液抽出
- など

### 標準添加血漿

- 選択性検証
- 直線性検証
- 安定性検証

マトリックス効果検証  
Post-column Infusion  
Technique for ESI  
Consistency  
Assessment(PiTiCa)

など

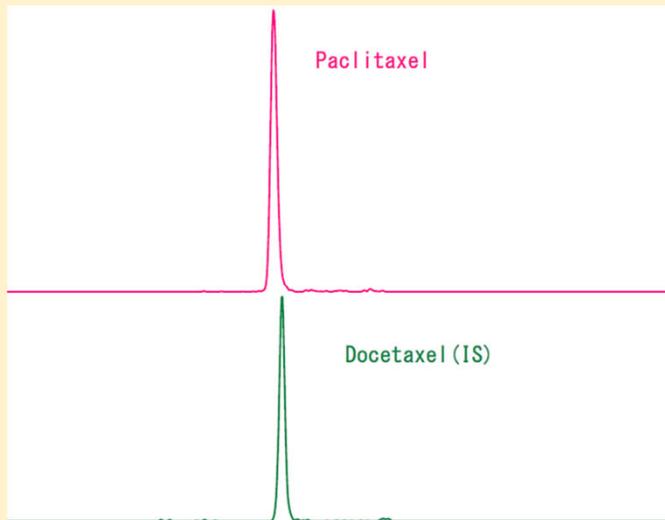
- **選択性**…生体試料中のほかの成分の存在下で、分析対象物質及び内標準物質を区別して検出することができる能力。少なくとも6個体から得られた個別のブランク試料を用いて評価する。
- **定量下限**…試料中において分析対象物質を信頼できる真度及び精度で定量することが出来る最も低い濃度。定量下限における分析対象物質のレスポンスは、ブランク試料の5倍以上である必要がある。定量下限における平均真度は、理論値の±20%以内、精度は20%以下でなければならない。
- **検量線**…分析対象物質の濃度とレスポンスの関係を示したもの。定量下限を含む6濃度以上の検量線用標準試料、ブランク試料及びゼロ試料（内標準物質（IS）を添加したブランク試料）から構成される。
- **真度及び精度**…真度は定量値と理論値との一致の程度  $\text{真度}(\%) = \left\{ \frac{\text{定量値}}{\text{理論値}} \right\} \times 100$   
精度は繰り返し分析して得られる定量値のばらつき程度  $\text{精度}(\%) = \left\{ \frac{\text{標準偏差}}{\text{平均値}} \right\} \times 100$
- **マトリックス効果**…試料中のマトリックス由来成分による分析対象物質のレスポンスへの影響。
- **キャリーオーバー**…分析機器に残留した分析対象物質が定量値に影響を与えること。
- **希釈の妥当性**…試料を希釈して分析する場合に、希釈が分析対象物質の定量値に影響を与えないことを確認するために評価される。
- **安定性**…所定の時間、特定の条件下での溶媒中又はマトリックス中における分析対象物質の化学的又は生物学的安定性。分析対象物質の安定性評価は、試料を採取してから分析するまでの各過程が分析対象物質の濃度に影響を及ぼさないことを保証するために実施される。

「医薬品開発における生体試料中薬物濃度分析法のバリデーションに関するガイドライン」参照

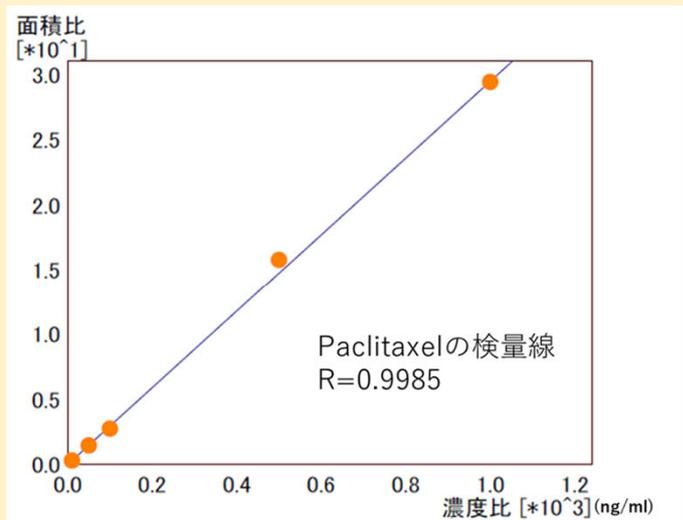
## 実測定

ご提供いただいた実際の試料を用いて実測定を行います。標準品を用いて下記のように検量線を作成し、そこから試料の濃度を計算します。当局申請データ用で必要となる、信頼性の基準（次項）下での実施も可能です。

### 抗がん剤測定例



Paclitaxel及びDocetaxel(IS)のクロマトグラム



上記検量線範囲は、Taxol®100mg/m<sup>2</sup>点滴静注時の血中濃度推移において、投与後2~24時間までをカバーしています。

### ● 定量分析手法における参考サンプル量

**例1)**  
GC/MSを用いた分子量200程度の物質の定量試験  
(定量下限 50ng、250pmol (目安) として算出\*)

サンプル種	存在量	必要最低量
組織 (固形)	1ng/mg	50mg
体液 (液性)	1ng/μL	50μL

**例2)**  
LC-MS/MSを用いた分子量200程度の物質の定量試験  
(定量下限 50ng、250pmol (目安) として算出\*)

サンプル種	存在量	必要最低量
組織 (固形)	0.1ng/mg	50mg
体液 (液性)	0.1ng/μL	50μL

サンプル内存在量が多ければ、必要最低量は少なくなります。

\*対象物質やサンプル組成（マトリックス）により、定量下限は異なります。事前に物質情報およびサンプル種情報のご提供をお願いします。

## 信頼性基準

当社では、当局申請用データで必要となる、信頼性の基準に対応した受託分析を実施しています。

### 【信頼性の基準とは】

新医薬品等の承認申請を行うために実施する臨床又は非臨床の薬物動態試験では、体内動態（吸収、分布、代謝及び排泄）、バイオアベイラビリティ、生物学的同等性、薬物間相互作用等の評価が行われます。その際に実施する生体試料中の薬物濃度測定は、信頼性の基準で行われなければなりません。

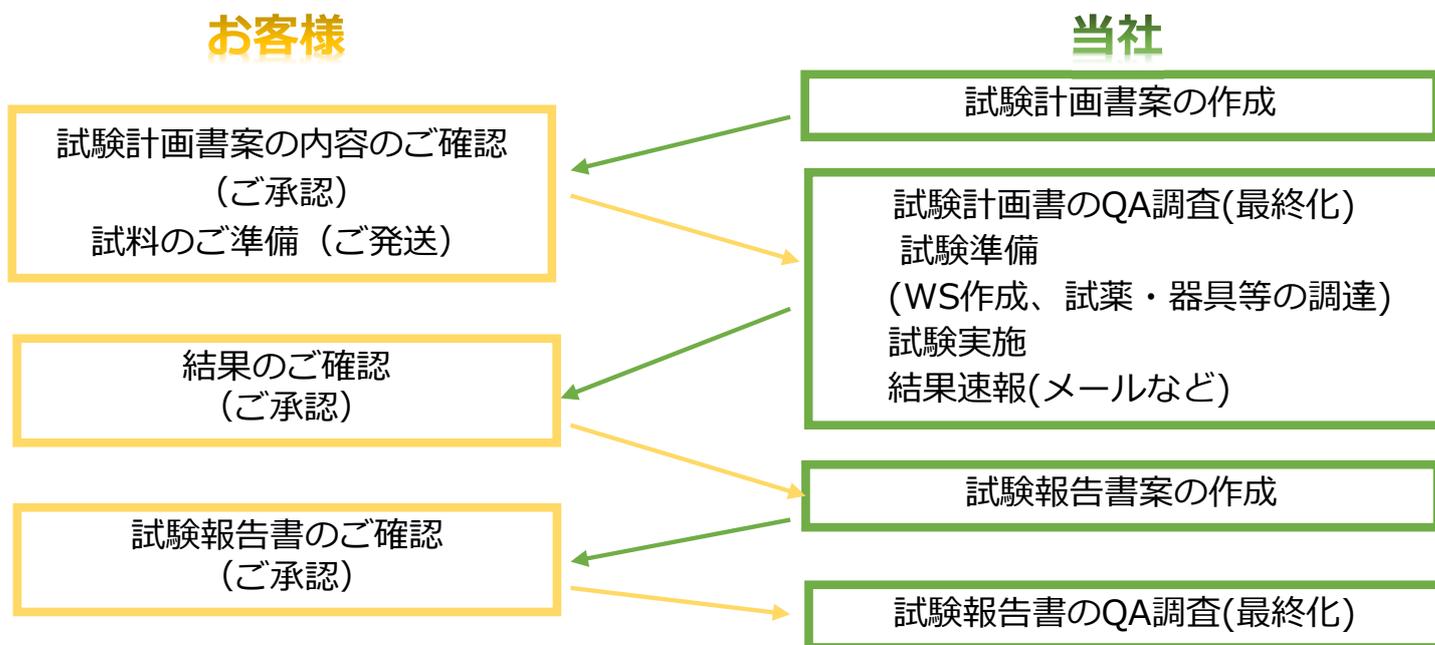
信頼性基準で作成する資料は、「正確性」、「完全性・網羅性」、「保存」が求められ、これら三つの規定より作成されたものでなければなりません。

- **正確性**：資料に転記ミス、誤字脱字、計算ミスがないこと。試験計画書、生データ、SOP、最終報告書の資料間に整合性があることなど。
- **完全性・網羅性**：承認審査資料として選出した基準・理由、経緯が明確であること。恣意的・作為的行為（改変、追加・削除、捏造）がないこと。再現性があること、生データから追跡、再構築が可能であることなど。
- **保存**：失敗データを含めて全てを保存すること。

なお、上記に対応するためには、信頼性の基準を遵守する体制下で実施する必要があります。

昭和36年厚生省令第1号 医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律 施行規則第43条より抜粋

## ● 信頼性基準の試験フロー



## 株式会社 島津テクノリサーチ

医薬ライフサイエンス事業部 営業部

本社 〒604-8436 京都市中京区西ノ京下合町1  
東京営業所 〒101-8448 東京都千代田区神田錦町1丁目3

<https://www.shimadzu-techno.co.jp>

TEL:075-811-3185  
TEL:03-3219-5718

お問い合わせ・依頼先