

# Application News

## No. B77

MALDI-TOF 質量分析法

### ポリエチレングリコール修飾医薬品の分析 — 卓上型リニア MALDI-TOF MS MALDI-8020 を用いたポリマー解析 —

ポリマーはモノマーと呼ばれるサブユニットの繰り返しからなる分子で、その物理的・化学的性質により、医学、薬学、工学、材料科学といった様々な分野において重要な役割を果たしています。ポリマーの分析には、SEC/GPC 分析や NMR/FT-IR 分光法などいくつかの分析手法が用いられますが、中でも MALDI-MS はポリマーの開始点/終結点の化学構造並びに分子量分布や多分散度の情報を迅速に得られるということで、製造業において、或いは品質管理ラボにおいて非常によく用いられています。

ポリマーは薬剤の輸送を制御して標的に送り届けるキャリアー分子として、治療現場における応用が期待されています。実際、ポリエチレングリコール 1000 (PEG 1000) -コハク酸に結合したビタミン E (ビタミン E-TPGS、図 1) は、薬剤の溶解性、浸透性、そして安定性を向上させることが証明されています。

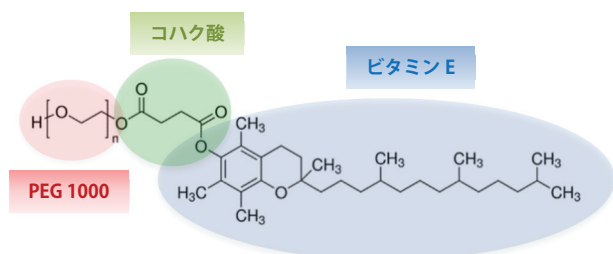


図 1 ビタミン E-TPGS の構造

ここでは、ビタミン E-TPGS ポリマー試料の解析ソリューション (図 2) として、卓上型リニア MALDI-TOF 型質量分析計 MALDI-8020 とポリマーデータ解析ソフト Polymerix (Sierra Analytics) とを組合せた分析例をご紹介します。

Simona Salivo, Tom K. Abban, Matthew E. Openshaw, Ei-ichi Matsuo

#### ■ 材料および方法

ビタミン E-TPGS はシグマアルドリッチから購入しました。サンプル溶液 (2 mg/mL、アセトニトリル/水=1/1) は、MALDI マトリックス溶液 ( $\alpha$ -シアノ-4-ヒドロキシ桂皮酸 (CHCA)、10 mg/mL、アセトニトリル/水=1/1) と混合して用いました。カチオン化試薬としては、塩化ナトリウム溶液 (1 mM、アセトニトリル/水=1/1) を用い、MALDI プレートのプレコートを行いました。サンプル・マトリックスの混合溶液 (1 mL) を上記塩化ナトリウムのプレコート上にスポットしました。MALDI-MS 分析は表 1 のパラメータにて行いました。

表 1 MALDI-MS データ取得用パラメータ

Tuning	linear
Polarity	positive
Mass range	100-3000 Da
Laser rep. rate	200 Hz
Accumulation rate (shots/profile)	50
Profiles	200

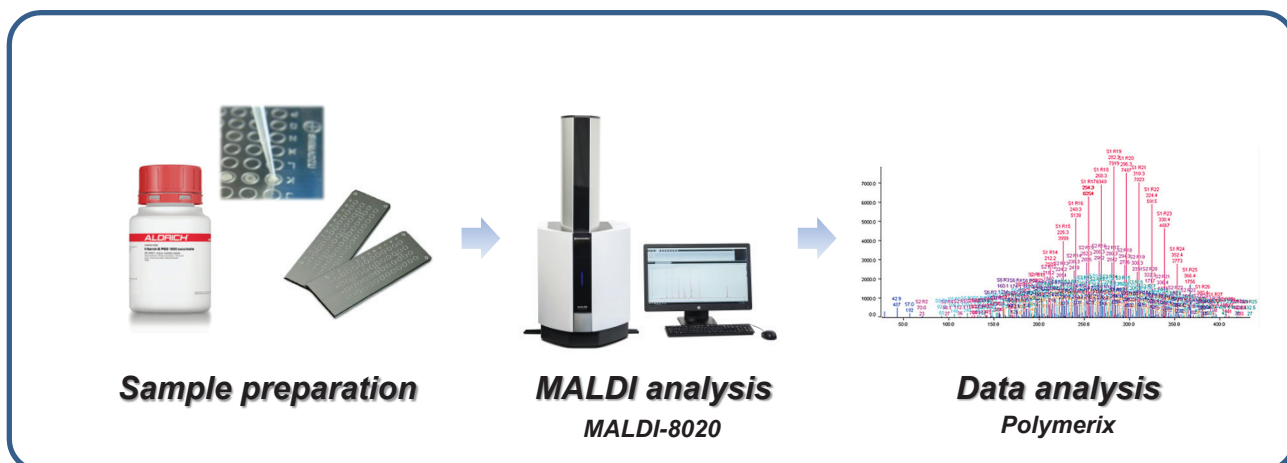


図 2 ビタミン E-TPGS ポリマー試料の解析ソリューション

## ■ 結果

図3は、ビタミンE-TPGSポリマーのナトリウム付加イオンのMALDI-MSスペクトルを示しています。主たるポリマー成分が、 $m/z$ 1,100 - 1,900の範囲に観察され、他にも2つのマイナー成分が見られます( $m/z$ 800 - 1,200と1,700 - 2,200、図3上)。

図3下のマススペクトルからは、2本のピーク差が、繰り返し単位である $C_2H_4O$ から予想される44 Daとなっていることが確認できます。つまり、2本のピークはPEGユニット1つだけ長さが異なる2つのポリマー鎖に相当することが分かります。また、これら2本のモノアイソトピックピークは、どちらも良好な分解能を示しています({ }内)。

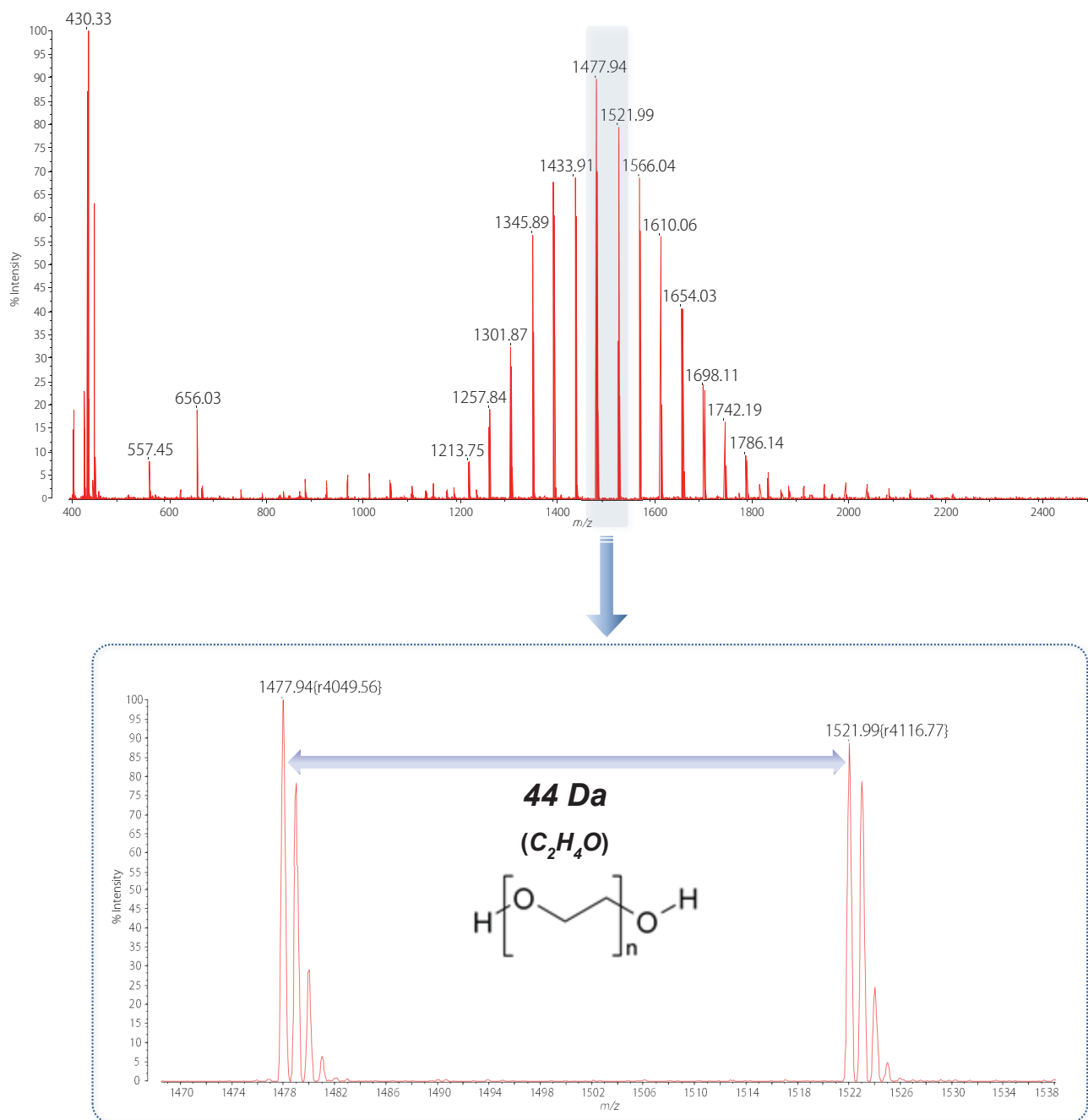


図3 ビタミンE-TPGSポリマーのナトリウム付加イオンのマススペクトル (上) および青色網掛け部分を拡大したもの (下)

ビタミンE-TPGSのナトリウム付加イオンのマスペクトル(図3)中に検出された2つのイオン( $m/z$ 430.33および557.45)は、ビタミンE(ラジカルイオン)およびビタミンE-コハク酸に最初のPEGユニットの(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>部分が付加したものの、として提示された構造式とそれぞれ一致します(図

4 a)およびb))。また、Polymerixソフトウェアを用いてホモポリマーシリーズの解析を行うための末端基として提示された構造式と化学式を示します(図5)。

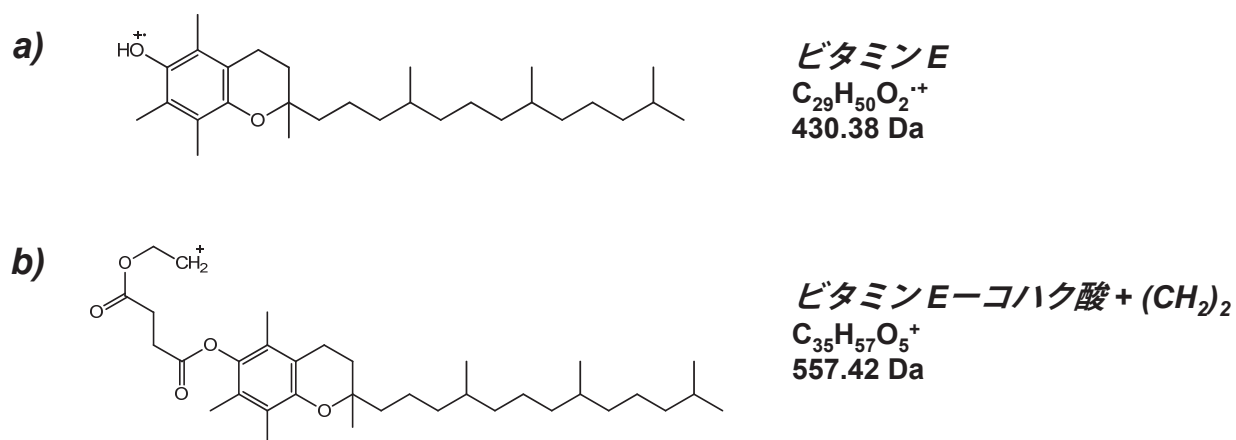


図4 a) ビタミンE(ラジカルイオン)の構造式および化学式  
b) ビタミンE-コハク酸にPEGの一部を含むものの構造式および化学式

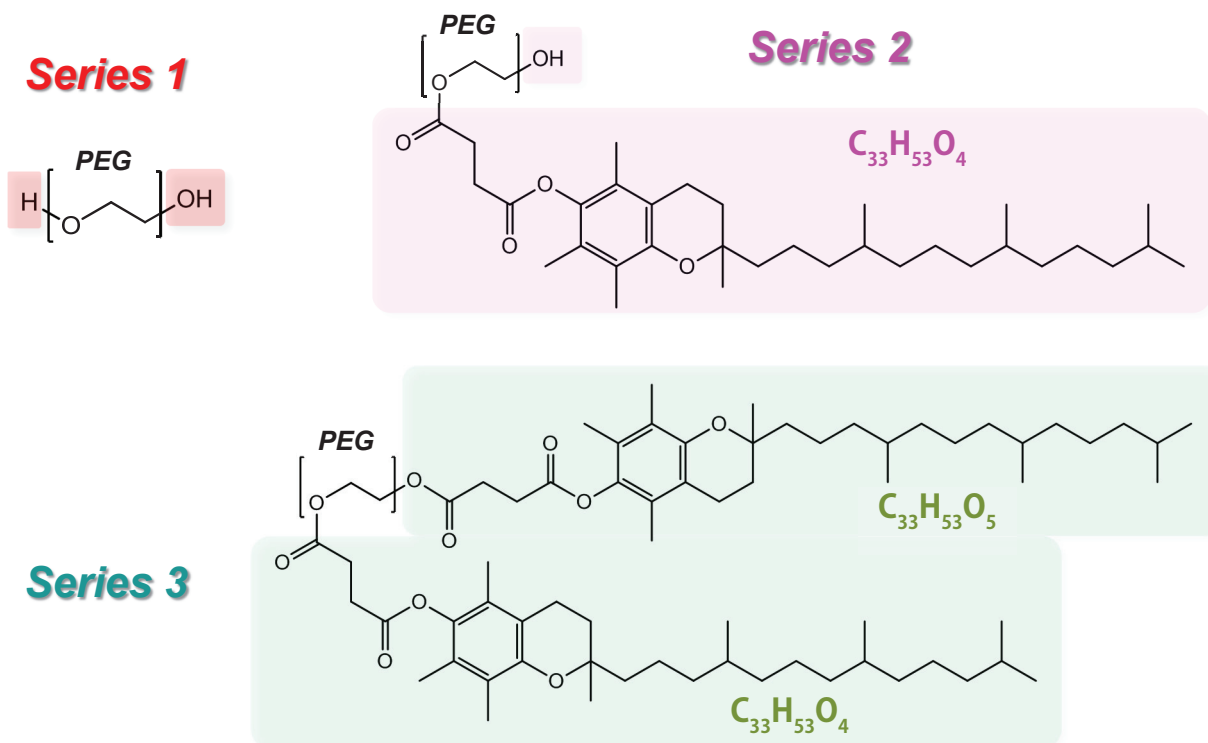


図5 ホモポリマーシリーズの計算用に提示された末端基の構造式および化学式

提示された末端基を用いた3つのシリーズ (Series 1~3) について解析を行ったところ、計算値と実測値の差 (Excess Mass) が十分小さく、提示されたポリマー構造が実際のデータとよく一致することが分かりました (図6)。ホモポリマ

ー解析におけるアサインメントプロットを図7に示します。マッチした3つのシリーズ (Series 1~3) が、それぞれの色でラベルされてマススペクトル上に示されました。

	Enabled	Excess Mass	Monoisotopic m/z 1	Monoisotopic m/z 2	Alpha End Group	Repeat	Omega End Group	Charge State	Adduct	Adduct Charge	Loss	Low Mass	High Mass
Series 1	<input checked="" type="checkbox"/>	0.02970	965.5800	1009.6200	OH	C2H4O	H	1	Na	1		1.0	100000.0
Series 2	<input checked="" type="checkbox"/>	0.00314	1477.9400	1521.9900	OH	C2H4O	C33H53O4	1	Na	1		1.0	100000.0
Series 3	<input checked="" type="checkbox"/>	0.04658	1990.3700	2034.3700	C33H53O5	C2H4O	C33H53O4	1	Na	1		1.0	100000.0

図6 Polymerixソフトウェアを用いたホモポリマー解析におけるシリーズ定義テーブル

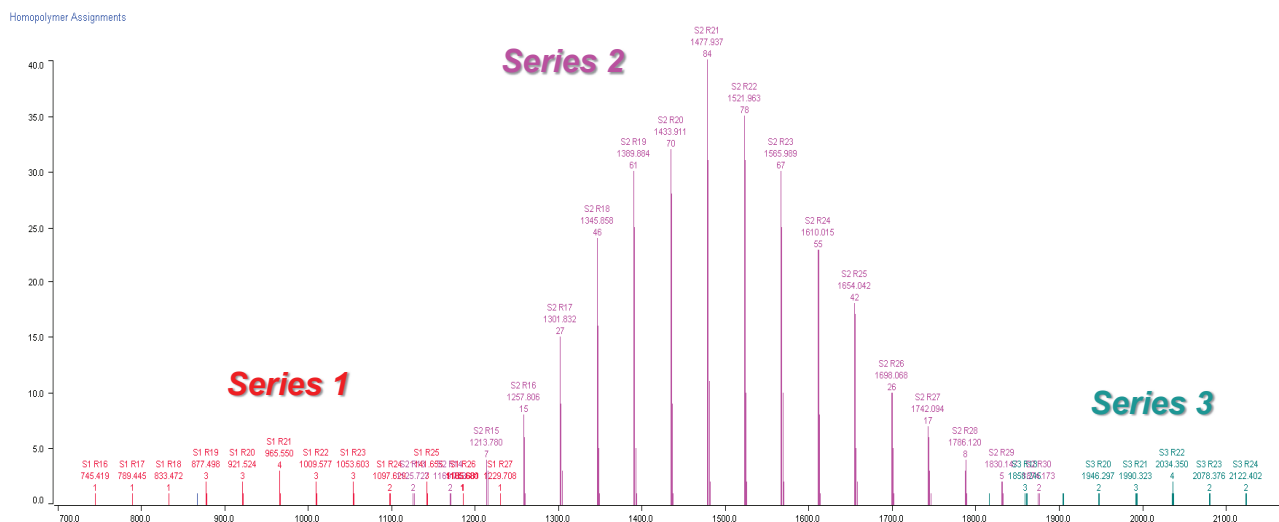


図7 Polymerixソフトウェアを用いたホモポリマーのアサインメントプロット