

ADC药物的电荷异质体分析

应用及技术服务部

天津博纳艾杰尔科技有限公司, 天津开发区西区南大街179号, 300462

概述

总所周知, 单克隆抗体异构体可能来自于抗体分子复杂的生物合成途径, 如细胞系及培养工艺, 也可能来自于纯化、制剂等制造过程以及贮存过程的任何阶段。其中由于抗体分子所带电荷差异造成的异质性称为电荷异构体, 一般分为酸性异构体和碱性异构体, 产生原因主要与翻译后修饰有关。由于这些异构体可能会影响抗体的稳定性、药效、免疫原性或药代动力学。因此在生物类似物开发过程中应尽可能控制异构体含量与原研药保持一致。

Trastuzumab deruxtecan (DS-8201; ENHERTU®) 是由第一三共和阿斯利康合作开发的新型HER2靶向ADC。Deruxtecan是毒性药物DX-8951的衍生物(Dxd)和连接子马来酰亚胺-GGFG肽的通过偶联物。

本应用尝试使用Biozen的WCX色谱柱对曲妥珠单抗以及ADC药物DS-8201进行电荷异质体的分析。

关键词

曲妥珠; DS-8201; WCX; Biozen WCX; 电荷异质体

化合物信息

表1. 化合物信息

中文名称	CAS号	分子式	分子量
Trastuzumab	180288-69-1	N/A	N/A
Trastuzumab-deruxtecan	1826843-81-5	N/A	N/A

实验部分

3.1仪器、试剂与材料

3.1.1主要仪器设备

Thermo U3000高效液相色谱仪

3.1.2试剂材料

磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、氯化钠为分析纯, 乙腈为色谱纯, 屈臣氏蒸馏水

3.1.3样品

Trastuzumab-deruxtecan, 平均DAR值为4。用纯水稀释为浓度为1.0 mg/mL;

曲妥珠单抗购自MCE。用纯水稀释为浓度为1.0 mg/mL。

3.2色谱条件

色谱柱: Biozen WCX (6um, 250*4.6mm);
P/N: 00G-4777-E0;

流动相A相: 20mM磷酸钠缓冲液pH 7.4;

流动相B相: 20mM磷酸钠缓冲液+250mM氯化钠 pH 7.4;

流动相C相: 乙腈

流速: 0.6 mL/min;

柱温: 30 °C;

波长: 214nm;

进样量: 20 µL

梯度程序见表2:

表2. 梯度条件

时间 (min)	A (%)	B (%)	C (%)
0	98	0	2
5	98	0	2
25	78	20	2
25.1	98	0	2
30.0	98	0	2

3.3结果与讨论

对于曲妥珠单抗, 电荷异质体来源于蛋白的翻译后修饰, 如末端的改变, 糖基化, 脱酰胺, 异构化, 氧化, 聚合等都可能引起抗体表面的电荷该改变。一般认为等电点差异大于1的蛋白在组织内分布和代谢动力学方面会产生比较大的差异。而酸性异质体会改变抗体在体内的代谢和清除速率, 对药效不利。图1为曲妥珠单抗的离子交换色谱图, 其中的酸性杂可以很好的和主峰分离。相比之下, ADC的

离子交换谱图就复杂的多。DS-8201作为一种半胱氨酸偶联的ADC相较于赖氨酸偶联其电荷异质性已经大大降低。尽管如此，其结果还是比较复杂，参见图2。

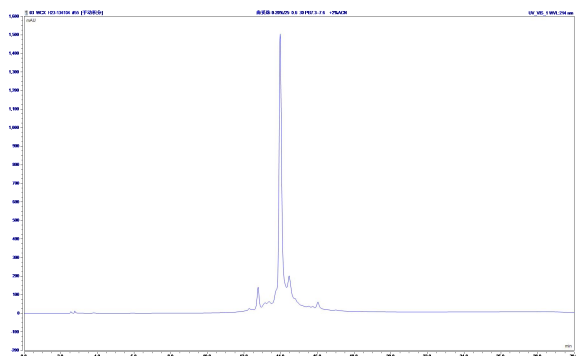


图1 曲妥珠单抗在Biozen WCX柱上的分离

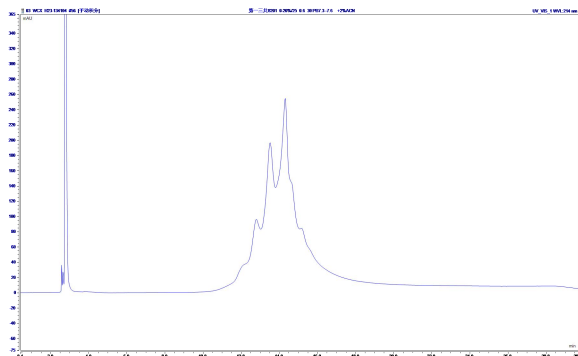


图2 DS-8201在Biozen WCX柱上的分离

结论

本应用使用了Biozen WCX色谱柱对DS-8201和曲妥珠单抗的电荷异质体进行分析。这款色谱柱使用6um的单分散微球填料，从而色谱峰形非常的尖锐，曲妥珠单抗主峰的50%半峰宽仅为0.149min。微球表面将线性聚合羧酸的键合相和颗粒本身进行交联，在采用盐梯度洗脱的情况下，酸性变异体和主峰良好的分离。对于DS-8201来说，由于本身存在的异质性情况复杂，对于分离结果还有待结合多种手段进一步进行分析确认。



Xccelerator 加速服务

探索分离，使命加速

Mission to Accelerate Separation

在新药、仿制药研发和科学研究过程中，抢占先机越来越多被大家提及，同时在食品、环境、临床等行业的客户也都面临着项目周期压缩的压力。基于此，我们成立了上海和天津两个方法开发服务中心，为客户加快项目进度提供支持。

Xccelerator 以客户为中心，以色谱技术为中心，为药物研发和科学研究提供全方位加速服务。

三大研发中心

中国天津

地址：天津市开发区西区南大街179号

电话：400-606-8099

邮箱：cninfo@phenomenex.com

中国上海

地址：上海市长宁区福泉北路518号1号楼1层

电话：400-606-8099

邮箱：cninfo@phenomenex.com

美国总部

地址：411 Madrid Avenue Torrance, CA 90501-1430, USA

Tel: +1 (310) 212-0555

Fax: +1 (310) 328-7768

Email: cninfo@phenomenex.com

仅用于研究目的，不可用于临床诊断程序。

© 2022 天津博纳艾杰尔科技有限公司保留所有权利。



如果您对于本方法的执行有任何问题，或想要了解更多信息，
请拨打400-606-8099 联系我们的技术专家，我们很乐意为您提供帮助！

Confidential - Company Proprietary

