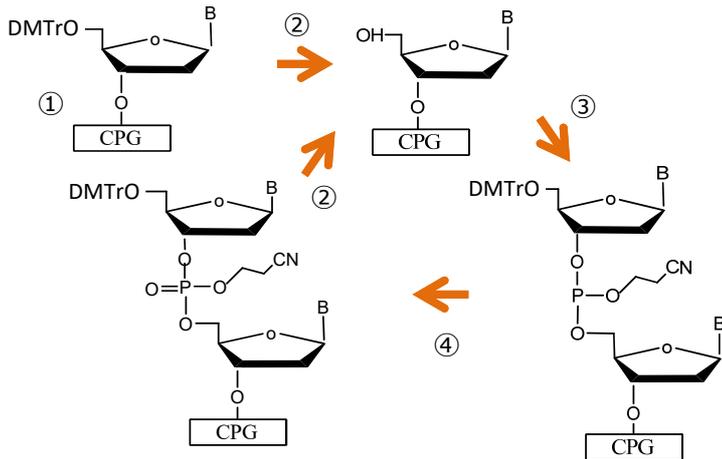


合成核酸中の残存ベンゼンの高感度分析 — ヘッドスペース-GC/MS —

核酸医薬は、従来の医薬品では狙えない細胞内の標的分子をターゲットにすることが可能であり、低分子医薬や抗体医薬に次ぐ医薬品として期待されるが、その合成過程では様々な試薬が使用され、中には、発ガン性の高いベンゼンが不純物として含まれる可能性もある。今回、ヘッドスペース-GC/MSを用いた核酸中のベンゼンを高感度で分析できる方法を開発したので、報告する。

核酸の合成 (ホスホロアミダイト法)



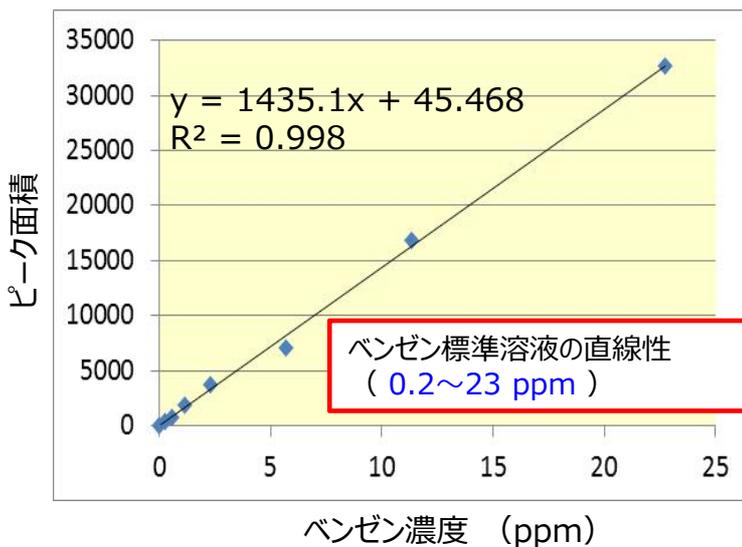
DMTrO : ジメトキシトリチル基、B : 塩基、CPG : 担体 (Controlled Pore Glass)

① : 保護されたヌクレオチドを担体に導入 ② : 脱保護 ③ : カップリング ④ : 酸化反応
②~④の反応ステップを繰り返し、ヌクレオチド鎖を伸長する。

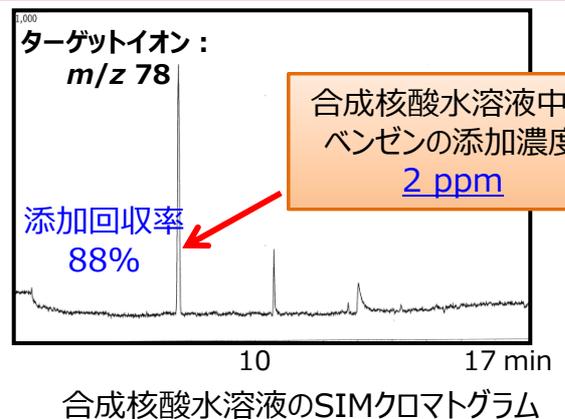
各工程と残留する可能性のある有機溶媒

工程	残留溶媒
脱保護	トリクロロ酢酸
	ジクロロ酢酸
	トルエン (ベンゼン)
	ジクロロメタン
カップリング	トリエチルアミン
キャッピング	2,6-ルチジン
	無水酢酸
	ピリジン
	1-メチルイミダゾール
酸化反応	2,6-ルチジン
	ピリジン

人工的に合成された核酸に、ベンゼンの規格値である 2 ppm (ICH Q3C) を添加した試料溶液を定量した。検量線の下限は、**規格値の1/10の濃度**である 0.2 ppm (0.2 ng/mL) とした。



試料 : 合成核酸 (C-Myc antisense DNA, S化)
配列 : CACGTTGAGGGGCAT
試料溶液濃度 : 1 mg/mL



良好な感度、直線性、および添加回収率が得られ、本法によりオリゴ核酸中の 2 ppm のベンゼンが測定可能であることが示唆された。ベンゼン以外の溶媒についても、試験法検討、分析法バリデーション及び実測値の測定に対応します。