

電荷非対称フローフィールド・フロー・フラクショネーション(EAF4)とMALSによるドキソルビシンリポソームのサイズ分布と表面電荷の測定評価

一般情報

ID0014

アプリケーション：製薬, ドラックデリバリー, ナノ医療, 癌治療

テクノロジー：EAF4-MALS

機器構成：Postnova EAF2000, PN3621 MALS

キーワード：電荷非対称フローフィールド・フロー・フラクシネーション(EAF4),
多角度光散乱(MALS), サイズ分布, ゼータ電位

はじめに

ドキソルビシンは、癌治療で頻繁に使用される抗癌剤です。1995 年に FDA が承認した、ドキソルビシンリポソーム製剤 Doxil®は最初のナノ医薬品となりました。ドキソルビシンのカプセル化は、その副作用を軽減し、人体内での薬物の循環時間を延長し、高用量の薬剤を安定的に患部に集積することができます[1]。いくつかのドキソルビシンリポソーム製剤が臨床応用に使用可能であり、サイズ分布、形状および物理化学的安定性を含むそれらの特性の評価は承認されるために必須です。複数の検出器を接続した非対称フローフィールド・フロー・フラクショネーション (AF4) は粒子のサイズ分離と特性評価が可能で、リポソーム製剤の規制[2]および標準化[3]に伴う品質評価を行う上で有用な分析手法です。サイズ分布に加えて、表面電荷（ゼータ電位）の情報は、特に生理学的条件下での物理化学的安定性を強化されたリポソーム製剤にとって重要なパラメーターです。ここでは、電荷非対称フローフィールド・フロー・フラクショネーション(EAF4)と MALS によって市販のドキソルビシンリポソーム製剤のサイズ分布、表面電荷を測定します。

電荷非対称フローフィールド・フロー・フラクショネーション(EAF4)

EAF4 は、チャネル内に電荷フィールドと非対称フロー・フィールドを同時に発生させます（図 1）。これにより、EAF4 はそれぞれのサンプルのサイズ分布と表面電荷の測定を可能にします。EAF4 で表面電荷を測定するために、電荷フィールドあり/なしの測定を行い、ソフトウェアで表面ゼータ電位を計算します。電荷フィールドあり/なしによる保持時間の比率により、電荷フィールドによって引き起こされるドリフト速度を計算し、同時に測定される溶離液の導電率を考慮に入れて、適切な電荷フィールドが決定されます。ドリフト速度と電荷フィールドの線形回帰により、電気泳動度および表面ゼータ電位が計算できます。

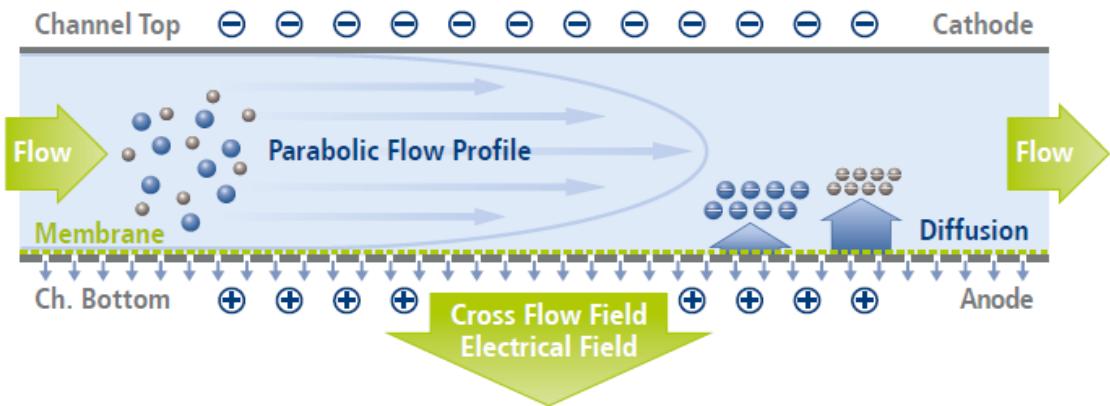


図1: EAF4チャネルの概略図

ドキソルビシンリポソームのサイズ分布と表面ゼータ電位

EAF4 測定は、溶離液として 0.5 mM NaCl aq. を使用し、3 つの電流 (0 mA、0.1 mA、0.2 mA) の電荷フィールドで行いました。EAF4 チャネルの上部プレートをマイナスの電荷に設定しました。さらに、MALS を使用してサイズ分布（慣性半径 R_g : 27~45 nm、Berry プロット）を測定しました（図 2）。

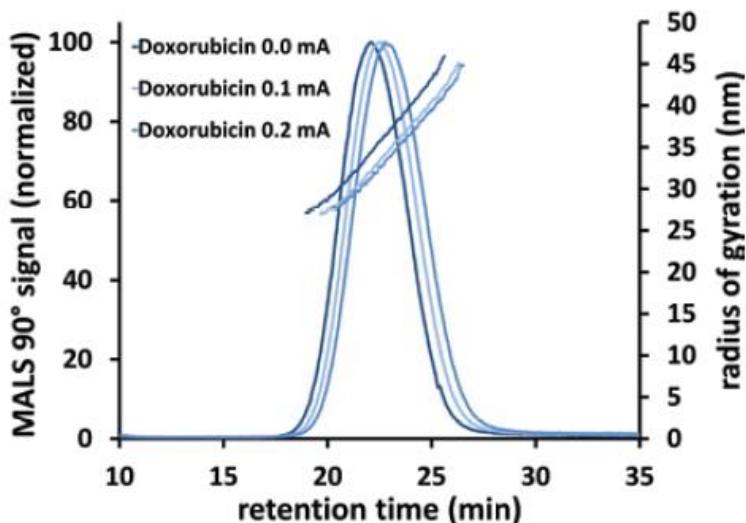


図2: 3つの異なる電場で測定したドキソルビシンリポソームのEAF4-MALSのフラクトグラム(y軸左: MALS90°の信号強度、y軸右: 慣性半径Rg)

ドリフト速度と電荷フィールドの線形回帰（図 3）に Smoluchowski 近似式を使用して表面ゼータ電位を求めるため、電気泳動度を算出します。得られた結果は、0.5 mM NaCl aq. ($-34.3 \text{ mV} \pm 2.8 \text{ mV}$) 中のドキソルビシンリポソームサンプルのマイナスの表面ゼータ電位を示しています（表 1）。

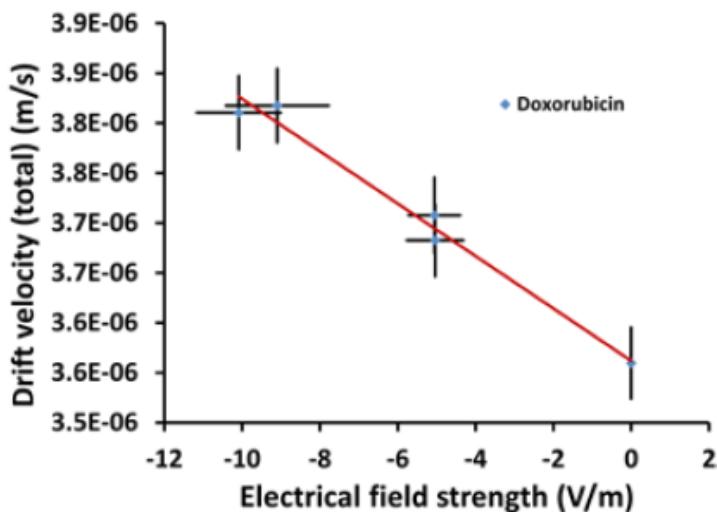


図3: ドキソルビシンリポソームサンプルのドリフト速度と電荷フィールドの線形回帰

Radius of gyration R_g (nm)	Electrophoretic mobility ($1 \times 10^{-8} \text{ m}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$)	Zeta potential (mV), Smoluchowski
27-45	-2.6 ± 0.22	-34.3 ± 2.8

表1: ドキソルビシンリポソームサンプルのサイズ分布、電気泳動度、および表面ゼータ電位

まとめ

EAF4-MALS はリポソーム製剤などのナノ医薬品の特性評価のための有用な分析手法です。サイズ分布に加え、生理学的条件下での表面電荷が測定出来ます。EAF4-MALS は品質管理だけでなく、新しいナノ医薬品の開発に関しても効果的なツールです。

参考文献

- [1] Y. Barenholz, 2012, Journal of Controlled Release, 160, 117-134.
- [2] J. Parot, F. Caputo, D. Mehn, V.A. Hackley, L. Calzolai, 2020, Journal of Controlled Release, 320, 495-510.
- [3] ASTM WK68060 - New Test Method for Analysis of Liposomal Drug Formulations using Multidetector Asymmetrical-Flow Field-Flow Fractionation (AF4).