

遠心フィールド・フロー・フラクショネーション を用いた薬物含有リポソームの定量

一般情報

ID0050

アプリケーション：薬学、ドラッグデリバリー、ナノ医薬

テクノロジー：CF3-PN3241 UV-Vis、オンライン光学顕微鏡

機器構成：CF2000 1、UV-Vis、光学顕微鏡

キーワード：遠心フィールド・フロー・フラクショネーション、リポソーム、
ドラッグデリバリー、フラクション収集

はじめに

リポソームを含むナノ粒子はドラッグデリバリーシステム(DDS)に使われ始めています。薬物分子の周りのリポソームを形成する際に、比較的多くの遊離薬物がカプセル化されない為、リポソーム単体を介した DDS に利用できない場合があります。患者に投与される薬物の量を正確に知るには、製品中の遊離薬物とカプセル化した薬物の量を定量化する必要があります[1]。このアプリケーションでは遠心フィールド・フロー・フラクショネーション(CF3)でリポソーム及び薬物含有リポソームと遊離薬物に分離しました。

CF3の原理

CF3 のチャネルは回転負荷装置に取り付けられ、回転負荷装置が回転することでチャネル内流路に対して垂直方向に遠心力を発生させます。質量の小さい粒子は遠心力に逆らって拡散し、質量の大きい粒子より先に溶出するため、質量による分離が可能です。

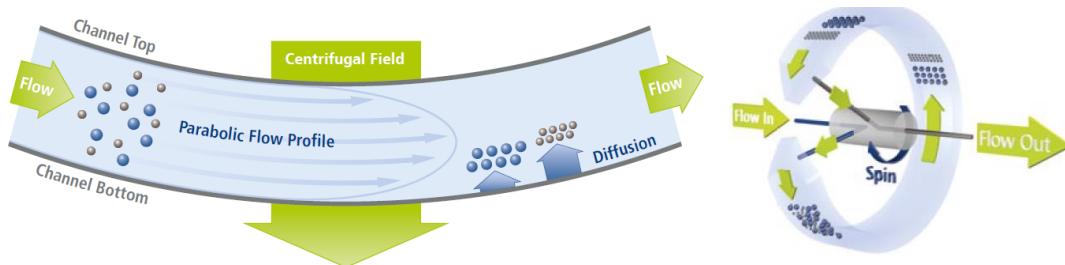


図 1 : CF3 チャネルの概略図。 左：側面展開図、右：3D 展開図。

実験詳細と結果

リポソーム薬物製剤の光学顕微鏡画像(図 2)は、3 種が混在していることを示しています。: 遊離薬物(黒粒)、空のリポソーム(泡状の構造)、薬物含有リポソーム。このアプリケーションは CF3 と UV-Vis 検出器で遊離薬物の定量を行い、光学顕微鏡で分離後のサンプルを確認しました。

CF3-UV フラクトグラム (図 3) は、サンプルが二つに分離していることが解ります。CF3 は質量で分離するため、軽い遊離薬物は先に溶出する可能性が高く、重い薬物含有リポソームは後から溶出します。フラクション収集を 15 秒(0.25 分)間隔で行い光学顕微鏡にて画像化しました。図 4 と図 5 はフラクション収集後のサンプルの光学顕微鏡の画像です。図 4 は図 3 の 0.75 分～1 分間の初期ピークで採取したフラクションを示しており、このフラクションでは遊離薬物のみ観察されます。図 5 は図 3 の 2 番目のピーク(2.2 分～2.5 分)を採取したフラクションで、空のリポソームと薬物含有リポソームの二つが観測されます。ピーク面積を積分することにより、遊離薬物の量を計算することができ、ピーク面積は $29.0 \pm 1.6\%$ でした。

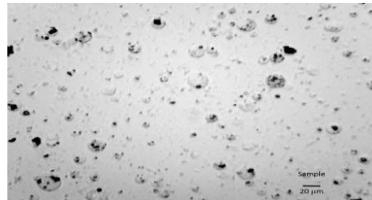


図 2: リポソーム製薬の光学顕微鏡画像

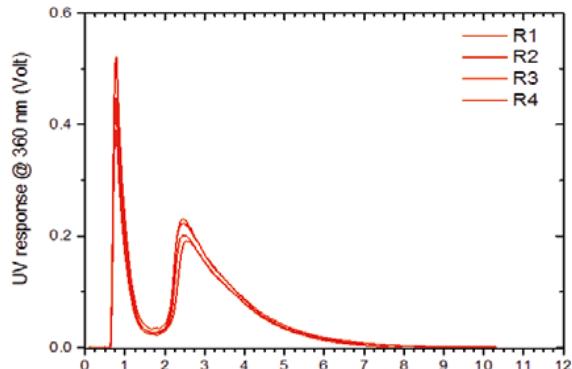


図 3: 薬物含有リポソームの CF3-UV フラクトグラム。

再現性を確認する為に複数分析しました



図 4: の 0.75 - 1 分の顕微鏡画像

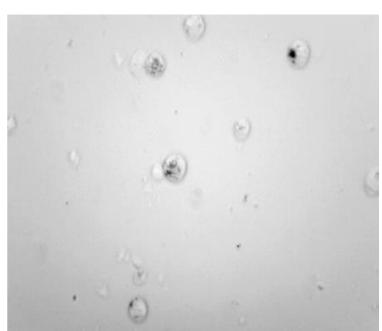


図 5: 2.25 - 2.5 分の顕微鏡画像 フラクションの光学顕微鏡

まとめ

遠心フィールド・フロー・フラクショネーションと UV-Vis 検出器を組み合わせることでリポソーム薬物製剤中の遊離薬物を分離し、定量することが出来ました。分離後のサンプルは光学顕微鏡で確認しました。これは、ナノ医薬やリポソーム薬物による送達分野の発展に伴い、FFF を用いた薬物粒子の分離・定量が期待されています。

参考文献

- [1] Mayer L.D., St. -Onge G., Analytical Biochemistry, 1995, 232(2), 149-157.