

脂质纳米颗粒 (LNPs) 的组分分析

陆珺

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

脂质纳米颗粒 (Lipid Nanoparticles, LNPs) 是一种先进的药物递送系统, 尤其在核酸药物如 mRNA 疫苗和基因治疗领域展现出巨大潜力。LNPs 中包含四种脂质成分 (胆固醇、DSPC、可电离脂质和 PEG 化脂质), 控制这些脂质的质量和纯度非常重要。在本应用中, 我们采用 Phenomenex 的 Gemini C6-Phenyl 色谱柱和赛默飞 Corona CAD 电喷雾检测器开发了一种简单、快速的 HPLC 方法来分析 LNP 成分。用来分析模拟 Moderna 的 mRNA-127 的配方制备 LNP 脂质成分, 可实现四种 LNP 成分的出色分离, 并具有优异的峰形、精度和灵敏度。其中 SM-102 的定量限为 0.05 ng/μL, 胆固醇的定量限为 0.5 ng/μL, DMG-PEG2000 的定量限为 2.5 ng/μL, DSPC 的定量限为 1 ng/μL。该方法可以同时分析 LNP 中的四种脂质成分含量, 也可以用于对各单体进行质量控制。

致谢

本应用特别感谢云舟生物科技 (广州) 股份有限公司提供此次样品, 云舟生物以其卓越的产品和服务, 为科研工作者以及相关企业提供宝贵的支持, 他们提供的样品不仅质量上乘, 而且种类繁多, 能够满足不同研究需求。



关键词

脂质纳米颗粒 (LNPs); Gemini C6-phenyl; HPLC; CAD; SM-102; DMG-PEG 2000; 胆固醇; DSPC

化合物信息

表1. 化合物信息

英文名称	CAS号	分子式	分子量
SM-102	2089251-47-6	$C_{44}H_{87}NO_5$	710.17
DMG-PEG 2000	160743-62-4	$(C_{22}H_{42}O)_n C_{32}H_{62}O_5$	2526.00
胆固醇	57-88-5	$C_{27}H_{46}O$	386.65
DSPC	287399-26-2	$C_{44}H_{88}NO_8P$	790.14

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; 配有 Corona CAD 电喷雾检测器;

3.1.2 试剂材料

实验用水为屈臣氏蒸馏水, 三氟乙酸、甲醇、乙腈, 无水乙醇均为色谱纯;

3.1.3 样品

样品用无水乙醇稀释成一系列浓度梯度; LNP 样品用无水乙醇破乳后 (按照 LNP 溶液的三倍体积加入), 涡旋混匀, 高速离心后取上清液;

3.2 仪器检测条件

3.2.1 色谱条件

色谱柱: Gemini C6-phenyl (4.6×150mm, 3μm, 110Å) P/N:00F-4443-E0;

流动相A相: 0.1%三氟乙酸水;

流动相B相: 0.1%三氟乙酸甲醇: 乙腈 (3: 2);

流速: 1.0 mL/min;

柱温: 30 °C;

梯度程序见表2:



表2.梯度条件

时间(min)	流速 (mL/min)	A (%)	B (%)
0	1.0	15	85
15	1.0	0	100
15.1	1.0	15	85
20.0	1.0	15	85

3.2.2 CAD条件

数据采集频率：10

滤波：5.0

雾化器温度：35℃

峰宽：0.02min

3.3结果与讨论

3.3.1 脂质体组分分离

根据美国药典mRNA指导原则建议，对于mRNA Drug Product可用RP-UPLC-CAD对其Lipid Content进行分离和测定^[1]。在色谱柱固定相的选择方面，考虑到有些脂质单体结构中含有的长碳链具有强疏水性，为了避免拖尾和不完全洗脱等潜在风险，本文没有选择传统的C18的固定相，而是选择了Gemini C6-Phenyl的固定相。在该色谱条件下四种脂质成分峰形尖锐对称，并很好的分离。同时可以观察到每种脂质的杂质也可分离，所以这个方法也可以被应用于单个脂质原料的质量控制（参见图1，2）。我们对模拟Moderna的mRNA-127的配方制备的两个批次的LNP样品，按照USP指导原则里的建议，用无水乙醇对LNP样品破乳后高速离心取上清液进样分析，可以看到四个组分在该条件下均获得较为均衡的响应，尖锐的峰形和良好的分离（参见图3）。

3.3.2 线性范围

精密量取四种脂质单体储备液用无水乙醇逐步稀释成不同浓度梯度的系列溶液，上样量为10μL。以脂质单体的上样量（ng），峰面积（pA*min）为横坐标，绘制标准曲线。SM-102从上样量0.05ng-100ng绘制标准曲线，得到 $y = 2.7538x + 2.807$ ($R^2 = 0.999$)的线性回归方程，线性最低点的S/N为19.6；胆固醇从上样量5ng-1000ng绘制标准曲线，得到 $y = 0.0189x + 0.322$ ($R^2 = 0.9992$)的线性回归方程，线性最低点的S/N为19.4；DMG-PEG 2000从上样量

25ng-1000ng绘制标准曲线，得到 $y = 0.0176x + 0.1439$ ($R^2 = 0.9989$)的线性回归方程，线性最低点的S/N为9.7；DSPC从上样量10ng-500ng绘制标准曲线，得到 $y = 0.0231x + 0.1385$ ($R^2 = 0.9997$)的线性回归方程，线性最低点的S/N为15.7。（参见图4-7）。

3.4实验谱图

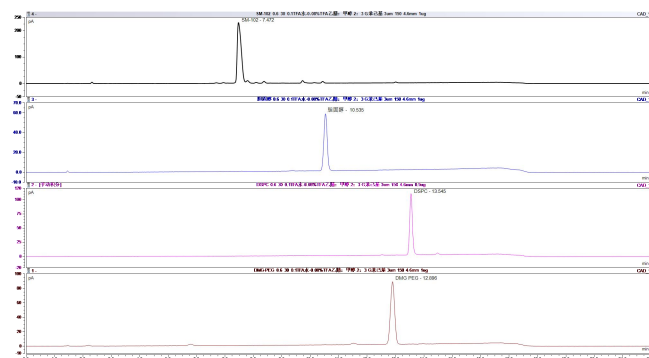


图1. 4种脂质单体在该色谱条件下的峰形

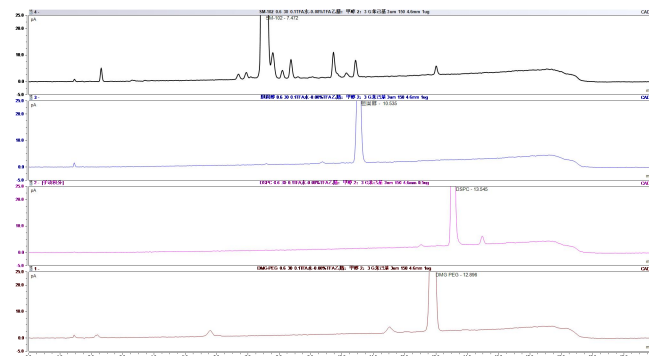


图2 上图局部放大

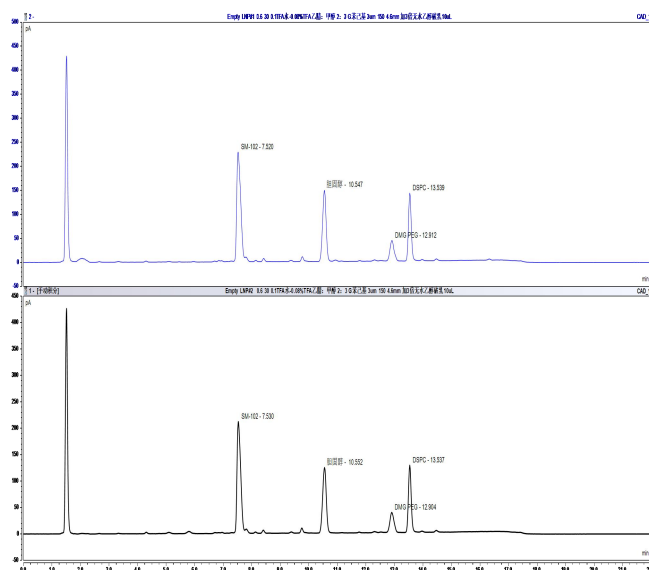


图3. 两个批次的Empty LNP破乳后在该色谱条件下的分离结果



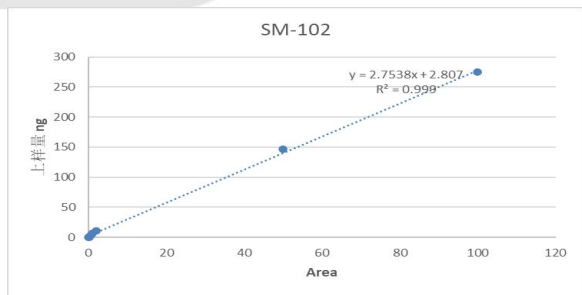


图4 SM-102的标准曲线

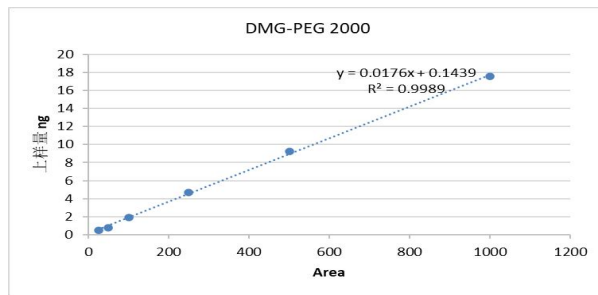


图6 DMG-PEG 2000的标准曲线

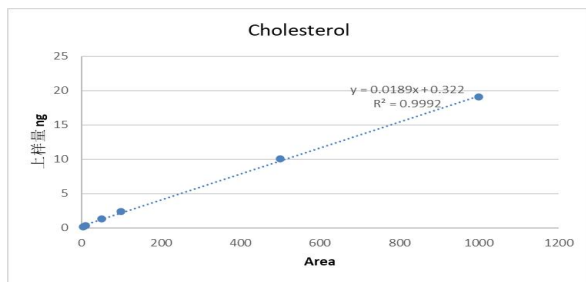


图5 胆固醇的标准曲线

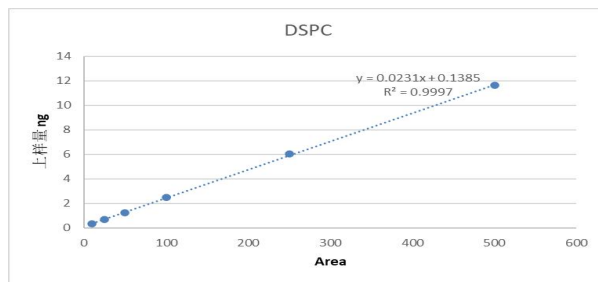


图7 DSPC的标准曲线

结论

本文开发了一种快速的HPLC-CAD方法用于对LNPs的脂质组分进行定性和定量分析。该方法分离度好，灵敏度高，能够满足对于脂质体单体组分定性和定量的要求。

参考文献

[1] US Pharmacopeia. USP mRNA vaccine chapter: Analytical Procedures for mRNA Vaccine Quality.

方法开发服务

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。

方法开发服务以客户为中心, 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。

© 2025 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!

