



QCM-D 技术在药物制剂和储存中的应用

药物蛋白的聚集通常发生在药物生产或者配制阶段。蛋白质聚集的表面通常包括浓缩器，管道，容器或包装材料中的玻璃，油滴，塑料聚合物和金属。

了解蛋白质聚集的倾向，对最大程度地减少在制造过程中昂贵的蛋白质吸附损失，并确保开发出功能齐全的药物成分至关重要。具有耗散检测功能的石英晶体微天平 QCM-D 已成功用于此类聚集过程的研究。

介绍

蛋白质聚集是药物开发和生产中的重要影响因素。对这些过程深入了解可以帮助提高最终产品的寿命，比如通过添加稳定剂和表面活性剂来保持产品稳定性。尽管在药物的发现和开发中非常需要了解蛋白质聚集，但是目前对这些事件仍旧缺乏机理性的了解。

在报道的两项研究中，QCM-D 被用作监测治疗性单克隆抗体和蛋白质相互作用的有效方法。通过使用 QCM-D，可以实时分析蛋白质的质量变化和粘弹性。除了蛋白质-表面相互作用外，QCM-D 还研究了表面活性剂和浓度对吸附过程的影响。

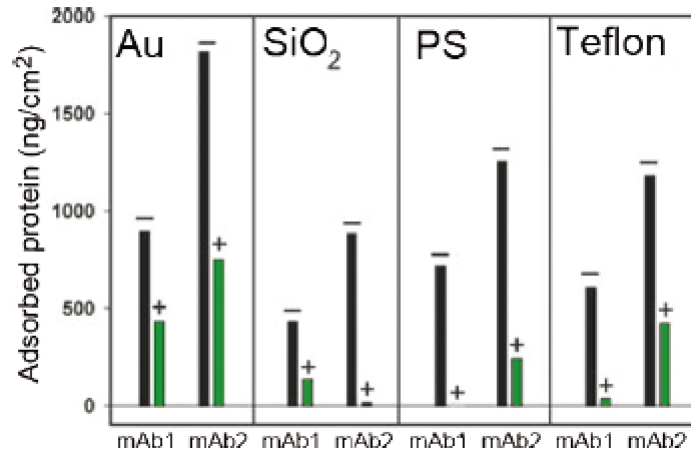


图 1, 通过 QCM-D 数据的粘弹性模型确定不可逆结合的 mAb1 和 mAb2 的质量 (1 mg/ mL)。+和-表示表面活性剂 PS-80 的存在与否。对照测量组提供了吸附的表面活性剂的平均值。蛋白质质量已做相应调整。

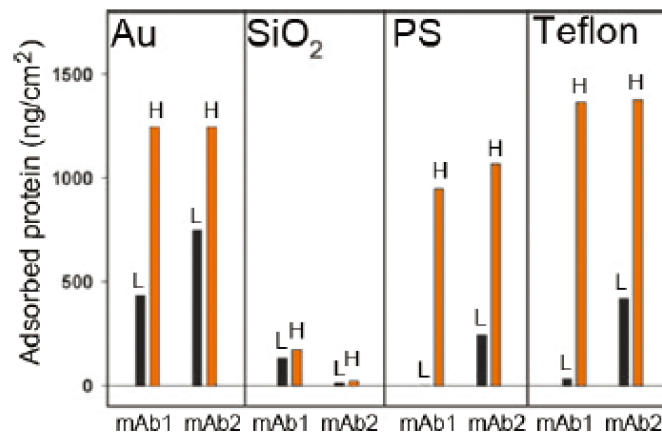
实验

在第一项研究中, 研究了两种单克隆抗体 (mAb1 和 mAb2) 在溶液中的疏水性和自寡聚行为方面存在的差异。在是否存在表面活性剂聚山梨酯 80 (PS-80) 的两种情况下, 研究了抗体在四个不同表面 (二氧化硅 (SiO₂), 聚苯乙烯 (PS), 特富龙 AF1600 (特富龙) 和金 (Au)) 上的吸附行为, 并对吸附行为的浓度依赖性进行分析。

在第二项研究中, 分析了蛋白质药物 Abatacept 及其与硅油/水界面的相互作用。这是因为该药物通过硅油润滑注射器给药, 注射器会引起严重的蛋白凝集。将 SiO₂

芯片表面旋涂硅油以形成均匀的膜。在是否存在两种表面活性剂（PS-80 和泊洛沙姆 188）情况下，监测 Abatacept 的吸附。

在 QTools 中分别从频率 (Δf) 和耗散 (ΔD) 的变化中提取质量变化。两项研究均使用 Q-Sense 设备在 25°C 下进行实验。



[图 1B]: 不可逆结合的 mAb1 和 mAb2 的质量与浓度的关系。L 表示 1mg/mL, H 表示 50mg / mL。所有数据都是在 PS-80 存在下生成的。对照测量提供了吸附的表面活性剂的平均值。蛋白质质量已相应调整。

结果和讨论

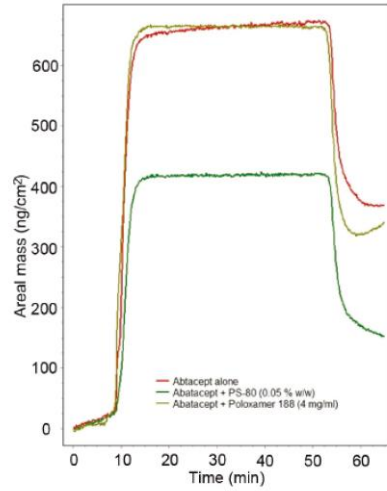
对抗体研究得出的结论是，mAb2 在使用的所有类型表面上的吸附力均比 mAb1 强（图 1A）。表面活性剂 PS-80 的添加确实显著降低了两种蛋白质的吸附。即使存在表面活性剂的情况下，mAb1 和 mAb2 仍在 Au 表面上保持很大程度的吸附（图

1A)。这可能是由于带正电荷的蛋白质表面和带负电荷的金属之间的强静电相互作用，非离子表面活性剂不容易破坏该相互作用。

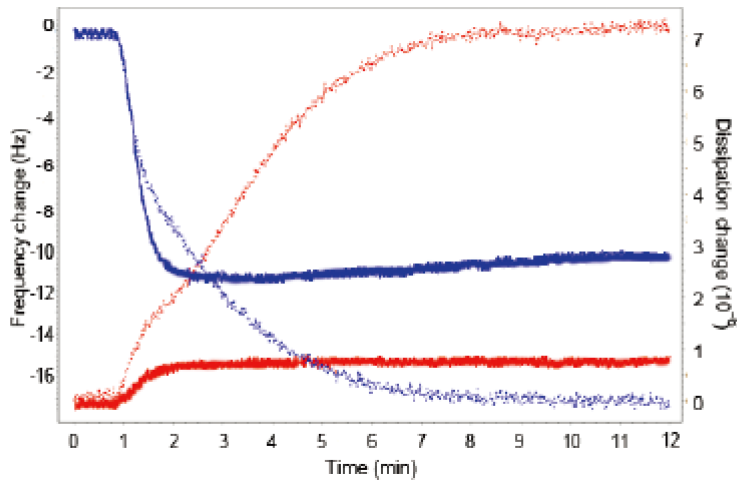
测试还评估了吸附的浓度依赖性，并分析 PS, Teflon 和 Au 表面在吸附水平上的差异，浓度对 SiO₂ 表面的影响较小（图 1B）。表现出浓度依赖性吸附的表面也使蛋白质膜的柔软度更高，表明水合作用增加（数据未显示）。

在蛋白质药物研究中，研究了 Abatacept 对硅油/水界面的吸附。硅油旋涂 QCM-D 芯片表面，提供了一个出色的测试平台来解决这些问题。表面活性剂 PS-80 减少了 Abatacept 的吸附量，而泊洛沙姆 188 并没有显著改变结合力（图 2）。注入 PS-80 也会降低 Abatacept 膜的整体柔软度（降低 $\Delta D/\Delta f$ ），而泊洛沙姆 188 则没有（数据未显示）。

对于观察到的 PS-80 抑制聚集趋势，一种可能的解释是由于 PS-80 比 Abatacept 分子本身具有更快的吸附动力学（约 2 分钟）。12 分钟后，Abatacept 达到平衡（图 2）。PS-80 可能会形成保护层，而泊洛沙姆 188 会更缓慢地（约 10 分钟）与界面结合，因此无法防止聚集（图 3）。



[图 2]: 注射 10 mg/mL 不含 PS-80 (红色), 带有 PS-80 (深绿色) 和泊洛沙姆 188 (浅色) 的 Abatacept 时, 油/水界面吸附的估计质量随时间的变化。



[图 3]: 将 PS-80 和泊洛沙姆 188 单独注入油/水界面时, f (蓝色) 和 D (红色) 的变化。粗曲线显示 PS-80, 点线显示 Polaxamer 188。

结论

QCM-D 被证明是在制药行业生产或制造中监测蛋白质和抗体在不同表面上聚集有效的检测工具。通过更好地了解治疗性蛋白质药物的聚集过程, 可以使产品损失最小化, 并可确保最终产品质量。

参考文献:

- [1] Anna Oom, Mark Poggi, Jennie Wikstrom and Mupalla Sukumar. Surface interactions of monoclonal antibodies characterized by Quartz Crystal Microbalance with Dissipation; Impact of hydrophobicity and protein self-interactions. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2011, 101, 519-529. Joint publication between Eli Lilly and Biolin Scientific.
- [2] Jinjiang Li, Swathi Pinnamaneni, Yong Quan, Archana Jaiswal, Fredrik I Andersson, Xiaochun Zhang . Mechanistic understanding of protein-silicone oil interactions. *Pharm Res.* 2012, 29(6):1689-97. Joint publication between Bristol-Myers Squibb and Biolin Scientific.