

使用 NanoDis 系统进行 PLGA 纳米颗粒制剂溶出分析

作者

Emre Türeli
MyBiotech
德国于伯黑恩

Karen Krauel-Göllner
安捷伦科技有限公司

摘要

制药领域已围绕纳米载体和纳米制剂开展了多年研究。从保护活性药物成分免受生物环境影响到提高药物在作用部位的生物利用度和稳定性，这些纳米药物提供了多种解决方案。尽管纳米医学研究备受关注，而且有越来越多的商业化纳米制剂被推向市场，但目前还没有评估此类产品质量和安全性的标准化规程或法规。本研究使用 Agilent NanoDis 系统这款创新的取样和分离装置表征了装载全反式视黄酸 (RA) 的聚乳酸-羟基乙酸 (PLGA) 纳米胶囊的释放曲线，并将所得结果与使用渗析技术测得的释放曲线进行了比较。

前言

制药领域已围绕纳米载体和纳米制剂开展了多年研究。从保护活性药物成分免受生物环境影响到提高药物在作用部位的生物利用度和稳定性，这些纳米药物提供了多种解决方案。尽管纳米医学研究备受关注，而且有越来越多的商业化纳米制剂被推向市场，但目前还没有评估此类产品质量和安全性的标准化规程或法规。在这些评估中，准确估算药物递送系统的体外释放曲线是应该纳入考虑的一项。这种估算有助于我们更好地理解并预测纳米制剂在体内环境中的行为，还有助于简化纳米药物从实验室到临床应用的转化过程。通过这些评估，我们可以判断此类药物递送系统的安全性和质量。为了完成这项评估工作，人们开发了许多传统的商业化技术，如渗析、取样和分离技术、原位技术以及组合方法。这些技术已被应用于评估纳米载体的体外释放特性。此外，市场上还有各种商业化的体外溶出测试系统，用于实现该流程的自动化。尽管人们为了了解此类系统的体外释放特性已经付出了巨大的努力，但有效分离药物与纳米载体对大多

数技术而言仍然是一个挑战。本研究使用 Agilent NanoDis 系统这款创新的取样分离装置表征了装载全反式视黄酸 (RA) 的聚乳酸-羟基乙酸 (PLGA) 纳米胶囊的释放曲线，并将所得曲线与使用渗析技术测得的释放曲线进行了比较。有关 NanoDis 系统整体功能的更多信息，请参阅参考文献 1。

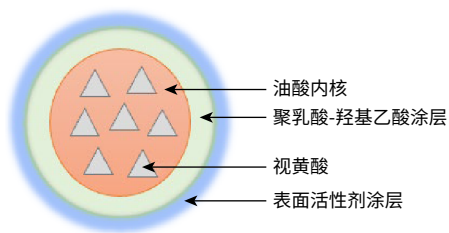


图 1. 封装视黄酸的 PLGA 颗粒

实验部分

溶出实验使用了配备 NanoDis 模块的 Agilent 708-DS 溶出度仪，以及 Agilent 850-DS 取样工作站（见表 1）。

表 1. 溶出实验参数

| | |
|------|---|
| 溶出度仪 | USP II |
| 体积 | 900 mL |
| 转速 | 50 rpm |
| 膜 | 500 kD mPES Spectrum MicroKros 中空纤维过滤器 |
| 缓冲液 | 含 0.5% 聚山梨醇酯 80 (PBS-PS80) 或 SDS (PBS-SDS) 的磷酸盐缓冲盐水 |

在溶出杯中将纳米胶囊稀释至 RA 达到 5 µg/mL，并在 900 mL 的 PBS-PS80 或 PBS-SDS 中达到漏槽条件。在预定的时间点，将样品从溶出杯中取出，通过 NanoDis 模块过滤，并使用 850-DS 取样工作站收集（表 2）。整个工作流程由溶出工作站软件控制。

表 2. NanoDis 模块参数

| 操作 | 设置 |
|-------------|-------|
| 预测试 | |
| 蠕动泵运转持续时间 | 240 s |
| 注射器吹扫体积 | 4 mL |
| 蠕动泵空气吹扫持续时间 | 60 s |
| 时间点前过滤器平衡 | |
| 蠕动泵运转持续时间 | 60 s |
| 注射器吹扫体积 | 2 mL |
| 时间点取样属性 | |
| 样品量 | 5 mL |
| 过滤器外筒冲洗体积 | 4 mL |
| 蠕动泵取样持续时间 | 45 s |
| 蠕动泵注射器重叠 | 0 s |

对于渗析方法，在释放介质 PBS-PS80 或 PBS-SDS 中将纳米胶囊稀释至 RA 达到 20 µg/mL，以确保漏槽条件。将 10 mL 纳米颗粒混悬液样品加入 10 mL 300 kD 规格的纤维素酯渗透器具 Float-A-Lyzer（购自 Repligen）中。

结果与讨论

第一组实验使用渗析法比较了溶解的 RA 与 PLGA 纳米胶囊中所含的 RA 的溶出度 (图 2)。

释放曲线取决于溶出介质, 包封在 PLGA 中的 RA 与供体室中单独溶解的 RA 的释放曲线之间没有显著差异。这些数据表明, 溶出动力学只受膜渗透控制, 且 RA 的膜渗透动力学比实际溶出速率慢。如果不以游离药物渗透动力学作为对照进行比较, 采用渗析法研究 PLGA 纳米胶囊药物释放超过 40 小时很容易导致结果被高估。

第二部分的实验设计使用 NanoDis 系统对 PLGA 纳米颗粒药物释放进行定量 (图 3)。

由于释放动力学不受渗析膜渗透动力学的限制, 使用 NanoDis 系统可以清楚地观察到 PLGA 纳米胶囊中 RA 的爆发性释放。爆发性释放之后, RA 从纳米胶囊中缓慢、受控地释放出来。使用渗析法时, 纳米胶囊的爆发性释放被严重低估, 特别是在较早时间点。

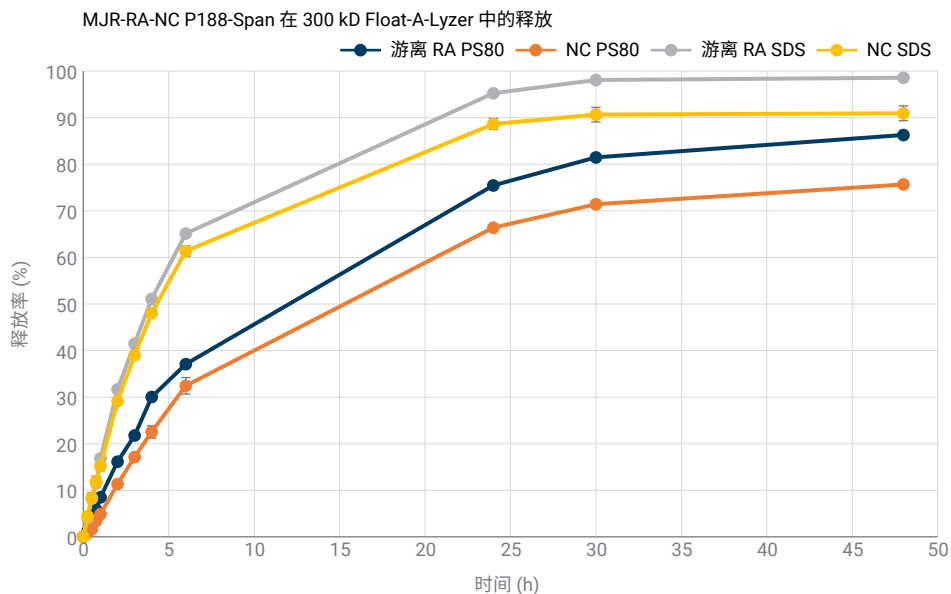


图 2. 纳米胶囊 (NC) 和溶解的视黄酸 (RA) 在 PBS-PS80 和 PBS-SDS 中的释放曲线 (采用渗析法测得)

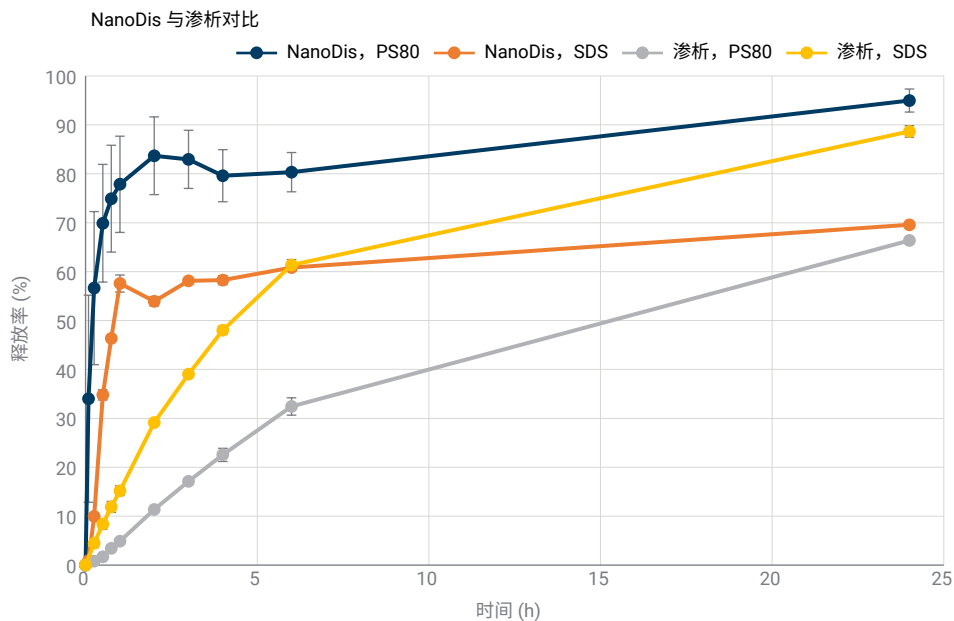


图 3. PLGA 纳米胶囊在 PBS-PS80 和 PBS-SDS 中的 RA 释放曲线 (使用 Agilent NanoDis 系统通过渗析和切向流过滤方法测得)

接下来的一组溶出实验使用 NanoDis 装置比较了不同 PLGA 制剂中 RA 的释放动力学。纳米胶囊会涂覆壳聚糖涂层以减弱爆发性释放，或者增加颗粒中聚合物和油的含量以实现更长的 RA 扩散路径（图 4）。

图 4 显示了各种纳米胶囊制剂中的 RA 释放曲线，例如涂层壳聚糖含量不同，以及 PLGA 和油含量不同的制剂。油溶物含量的范围为 0.9%–1.5%。此外，以两种不同浓度的壳聚糖作为表面涂层。制剂中的油相还含有另一种赋形剂聚山梨酯 80。使用 NanoDis 成功区分了不同制剂的释放状况，并显示出初期的爆发性释放。总的来说，具有壳聚糖涂层的制剂显示出不完全的 RA 释放，爆发性释放也较为缓慢。这些结果与没有壳聚糖涂层且 PLGA 和油含量不同的制剂进行了比较。

结论

使用 Agilent NanoDis 系统表征了含有 RA 的 PLGA 制剂的爆发性释放差异，旨在协助制剂开发并选出具有发展前景的方法来减弱爆发性释放。由于 RA 通过膜的渗透动力学较为缓慢，导致释放速率受限，使用渗析法观察不到爆发性释放。NanoDis

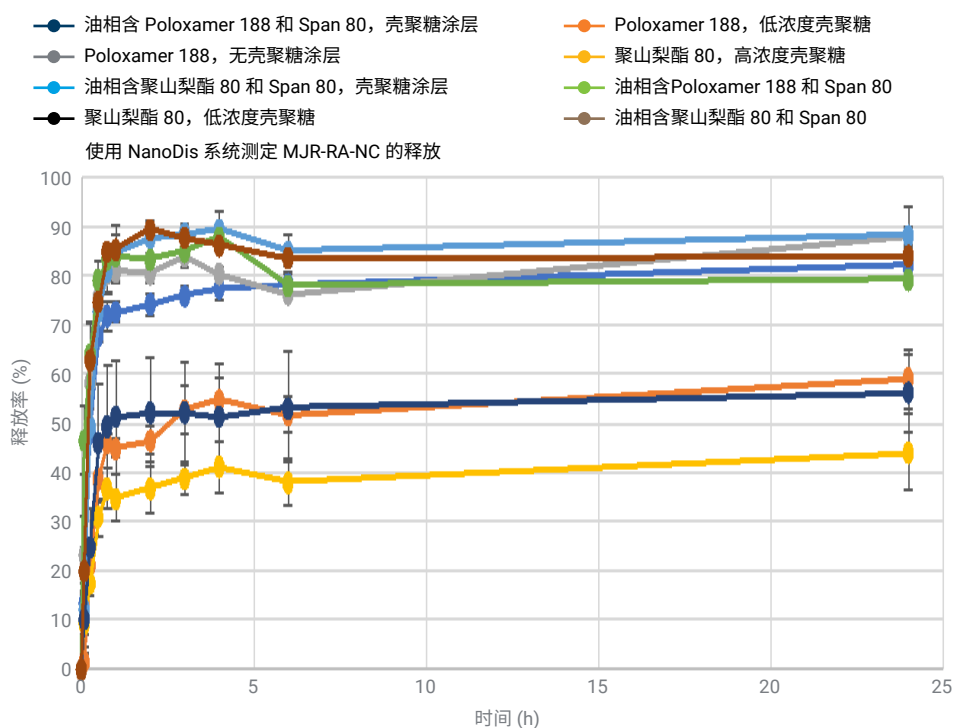


图 4. 不同的含 RA PLGA 制剂在 PBS 0.5% 吐温 80 缓冲液中的释放曲线（使用 Agilent NanoDis 系统测得）

系统在 PLGA 纳米胶囊的制剂开发过程中很有优势。该系统能够区分各种制剂，显示它们在爆发性释放方面的差异，因为切向流过滤不会像渗析膜那样导致延迟，从而能显示出真实的释放曲线。

参考文献

1. Agilent NanoDis 系统方法开发指南，安捷伦科技公司白皮书，出版号 5994-2347ZH-CN，2020

查找当地的安捷伦客户中心：

www.agilent.com/chem/contactus-cn

免费专线：

800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)

联系我们：

LSCA-China_800@agilent.com

在线询价：

www.agilent.com/chem/erfq-cn

www.agilent.com

DE37616851

本文中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2022
2022 年 12 月 9 日，中国出版
5994-5536ZH-CN

 **Agilent**
Trusted Answers