

PSS粒度仪在脂质体行业上的应用

Date: 2020.02.28



PSS粒度仪在脂质体行业上的应用

作者: Alpharmaca 编辑: Jason Wu

在医药和化妆品行业中脂质体是由磷脂制作而成的小球，它的粒径和表面电荷的检测是非常重要的。动态光散射是检测亚微米脂质体最常见的分析技术，单颗粒光学传感技术用于检测大于1微米的脂质体。Nicomp 380激光粒度仪和AccuSizer 780颗粒计数器在世界各地的实验室都在为脂质体检测粒径和电位（zeta电位）。

介绍

脂质体是双层囊泡，通常用于医药中靶向药物的研发。它由磷脂制成，它们的极性末端附着在非极性链上，自组装成双层囊泡，极性末端面对水介质，非极性末端形成双层。在医药行业应用中脂质体经常在原原料药中使用。如果API属于亲水性，那么将进入亲水基团内部，如果不是，将进入疏水基团夹层内，如图1所示。

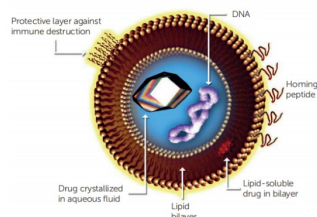


图1: 给药用脂质体

Doxil（盐酸多柔比星脂质体）是第一批通过批准使用，是一种重新配置的阿霉素。阿霉素药品在聚乙二醇（PEG）包覆的脂质体的亲水袋。聚乙二醇有助于避免免疫系统的检测和破坏，提高稳定性，延长循环中的半衰期。脂质体的其他应用包括：生物技术（siRNA[小干扰核糖核酸]传递、抗体传递）和美容（乳剂和乳膏等领域的应用）。

脂质体的分类和它的层数（单层或者多层）、大小（小型、大型或巨大型）以及制备方式有关，脂质体的主要类型是小型单层囊泡（SUV），小型多层囊泡（SMV），多层囊泡（MLV），大型单层囊泡（LUV），和巨型多层囊泡（GMV）。

脂质体的粒径和加入脂质体中药物的数量，是在药物的药代动力学和药效学参数中起着关键作用。

因此，准确和快速地测量脂质体的大小对于新的和有效的药物传递系统是必不可少的。大多数脂质体都是亚微米（20~250nm），首选的粒径分析技术是动态光散射（DLS）技术，如图2所示。



图2: Nicomp 380 N3000 激光粒度仪

一些新的较大的GMV脂质体对于Nicomp 380 N3000激光粒度仪来说太大了(>5μm)，可以用AccuSizer单粒子光学技术(SPOS)系统测量，如图3所示。



图3: AccuSizer 780 A2000 SIS颗粒计数器



PSS粒度仪在脂质体行业上的应用

Date: 2020. 02. 28



研发过程中的数据检测

在研发制造过程中，如通过滤膜挤压，Nicomp 380 N3000激光粒度仪 和AccuSizer 780 A2000 SIS颗粒计数器都被用来精确地检测脂质体的粒径。第一组结果，如图4至图6所示，脂质体通过小尺寸的过滤器挤出后Nicomp 380 N3000激光粒度仪的粒径检测结果。

Intensity Weighted Distribution

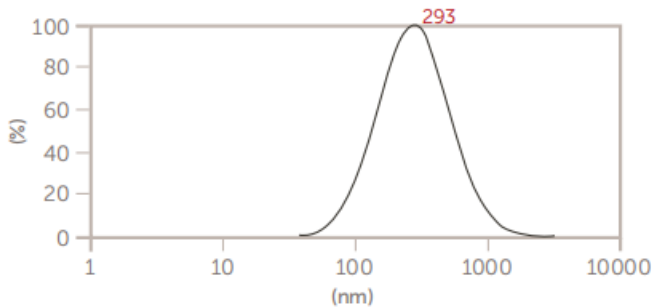


图4：脂质体挤出前粒径检测结果

Intensity Weighted Distribution

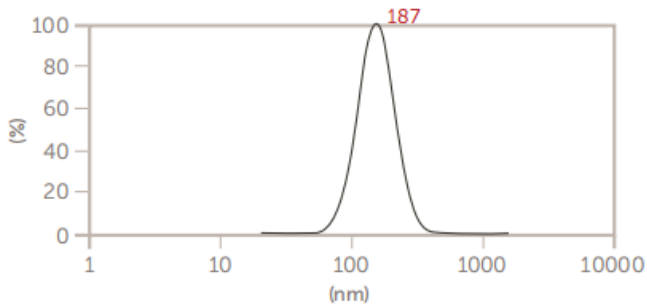


图5：脂质体通过0.4μm滤膜挤出三次后的检测结果

Intensity Weighted Distribution

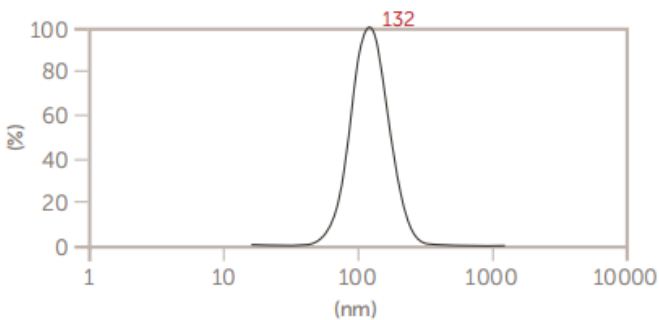


图6：脂质体通过0.1μm滤膜挤出三次后的检测结果

采用糖掺杂脂膜水化法制备了巨型多层囊泡脂质体。然后通过离心和通过膜过滤器挤压来减小尺寸。用AccuSizer 780 A2000 SIS颗粒计数器检测脂质体粒径大小的变化，如图7至图10所示。

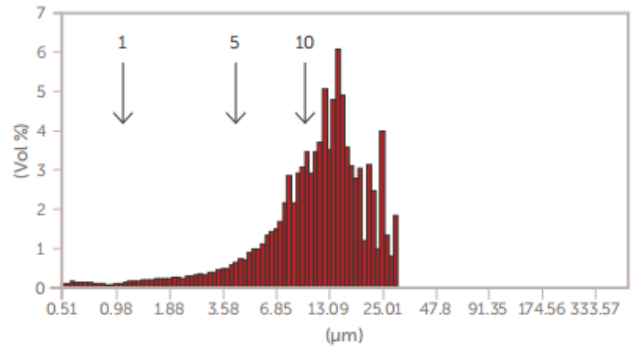


图7：离心过滤前GMV（巨型多层囊泡）脂质体

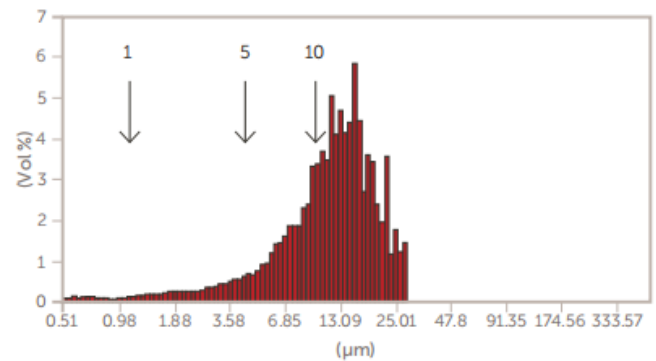


图8：离心过滤后GMV（巨型多层囊泡）脂质体

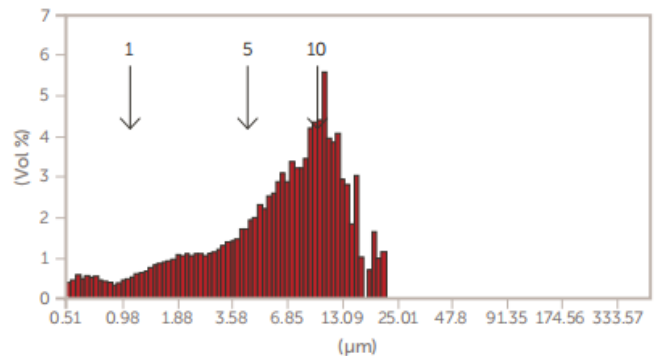


图9：通过5μm滤膜挤出后的GMV（巨型多层囊泡）脂质体



PSS粒度仪在脂质体行业上的应用

Date: 2020. 02. 28

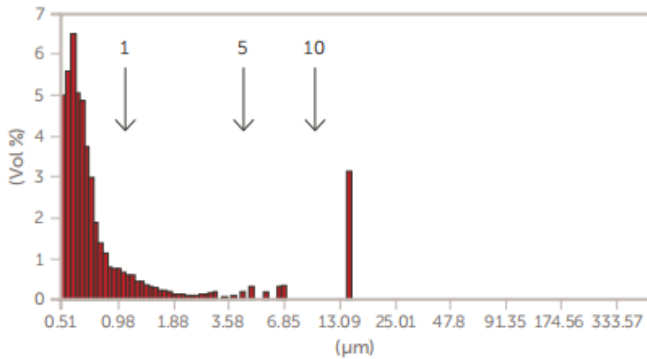


图10: 通过10 μ m滤膜挤出后的GMV (巨型多层囊泡) 脂质体

Intens-WT Gaussian Distribution

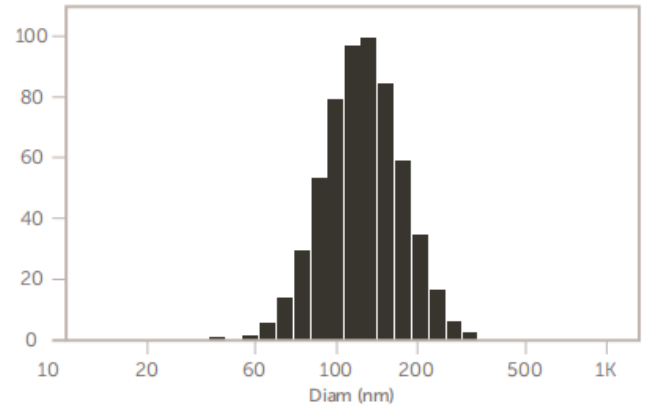


图11: 阳离子包被脂质体粒径检测结果

阳离子包被脂质体

由阳离子脂质组成的脂质体吧DOTAP, 已被证明是阴离子RNA和DNA核苷酸的有效载体。阳离子脂质体提供的优点包括核苷酸的高包封效率和由于脂质双层上的整体阳离子静电电荷而产生的高细胞摄取, 为了防止血清诱导的聚集, 阳离子脂质体被聚乙二醇化以增加循环寿命, 并允许在肿瘤组织中积累。

在加州大学戴维斯分校上制备和研究的阳离子脂质体含有阳离子脂质DOTAP, 用于微RNA的包封。脂质体的大小是至关重要的, 因为最终这些脂质体被静脉注射到小鼠体内。因此, 最终尺寸不应大于100nm左右。这些阳离子包被脂质体的尺寸结果如图11所示。

长循环脂质体

在加州大学戴维斯分校的Ferrara实验室研究的另一个脂质体被标记为⁶⁴Cu, 作为纳米示踪剂, 通过正电子发射断层扫描(PET)来改善头颈部肿瘤的可视化。这种脂质体是一种特殊的制剂, 是HSPC/胆固醇/DSPE-PEG2K的标准化组合, 它创造了一种高度稳定、长循环的脂质体(LCL), 有利于许多不同的应用。本配方采用HSPC/胆固醇/DSPE-PEG2K的摩尔比为55.5mol: 39mol: 5.0mol, 然后用6-BAT-PEG-脂质对⁶⁴Cu进行功能化放射性标记。⁶⁴Cu脂质体在各种癌症中积累, 并提供了一种敏感的示踪剂和纳米疗法生物分布的指示。⁶⁴Cu脂质体粒径数据如图12所示。

高斯数据汇总	
平均粒径	132.5nm
标准偏差	44.0nm (33.2%)
变异系数 (Coeff. of Var' n)	0.332
PI值	0.110
卡方值	0.577
基线	0.000%
扩散系数	3.51E-008 cm ² /s

高斯数据汇总	
平均粒径	122.8nm
标准偏差	16.2nm (13.2%)
变异系数 (Coeff. of Var' n)	0.132
PI值	0.017
卡方值	0.173
基线	0.078%
扩散系数	3.78E-008 cm ² /s



PSS粒度仪在脂质体行业上的应用

Date: 2020.02.28

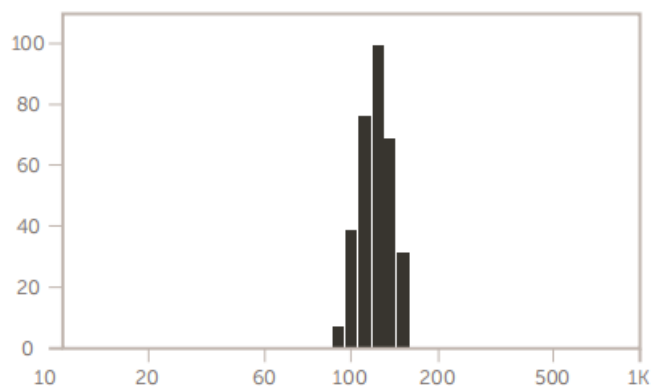


图12: 64Cu标记的LCL脂质体粒径检测结果

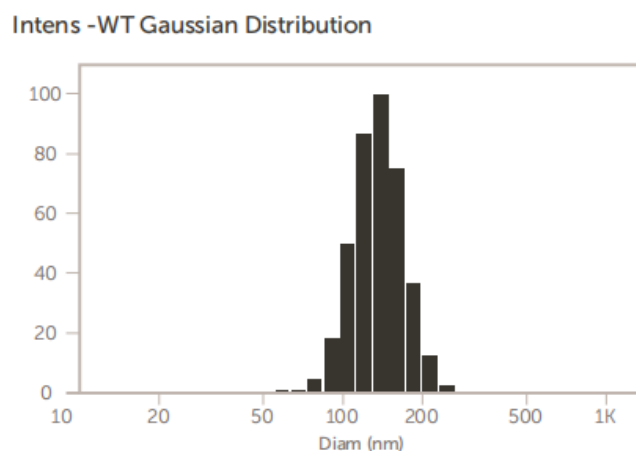


图13: MPPC-Copper TEA脂质体

温度敏感脂质体

此外，温度敏感脂质体已被制备，以提高热诱导释放这些粒子的内容物在特定的目标位点。在一项研究中，在含有温度敏感脂质体(LTSLs)的裂解脂质核心中，阿霉素(Dox)和铜(CuDox)之间形成了pH敏感复合物。这些脂质体由DPPC: DSPE-PEG2k: MPPC (86: 4: 10, 摩尔比)组成，其中DPPC为1, 2-二脂酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱，DSPE-PEG2k为1, 2-distearoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine-N-Methoxy聚乙二醇-2000, MPPC为1-棕榈酰基-2-羟基-sn-甘油-3-磷酸胆碱。将铜TEA脂质体(铜(II)葡萄糖酸铜、三甘氨酸胺(TEA)与非包封铜TEA分离，诱导脂质体膜上的盐梯度。MPPC-Copper TEA脂质体的大小如图13所示。

一旦这些脂质体的制备和大小被验证，它们就被负载在治疗药物阿霉素中，使用TEA梯度-阿霉素进入脂质体中，当TEA出来时。

ZR-89标记脂质体的Zeta电位

在另一项研究中，建立了Zr-89标记脂质体，以评价长循环脂质体在一周内的药代动力学。放射性被隔离在亲水性内腔、脂质双层或脂质体表面。本研究中的脂质体是在Nicomp 380 N3000 激光粒度仪上测量的，其尺寸分布范围为114-120nm。用相位分析光散射模式(PALS)在Nicomp上测量了Zeta电位。测量设置包括在电极之间的0.4厘米间隙施加12V/cm电场，并使用Smoluchowski极限。多个测量结果如图14所示。

高斯数据汇总	
平均粒径	139.3nm
标准偏差	30.8nm (22.1%)
变异系数 (Coeff. of Var' n)	0.221
PI值	0.049
卡方值	2.059
基线	0.000%
扩散系数	3.34E-008 cm ² /s

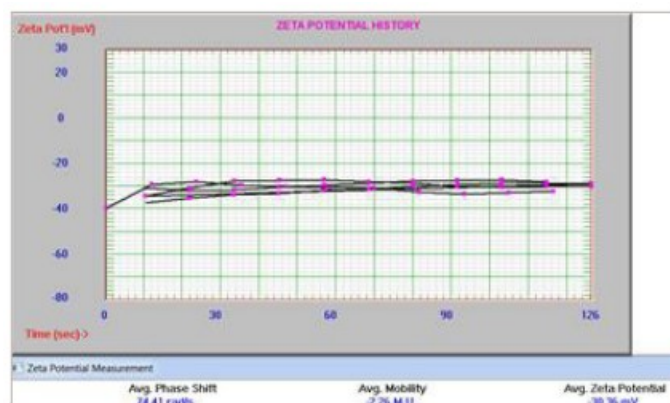


图14: NH2-Peg2K脂质体的Zeta电位检测结果