

使用配备光散射和粘度检测器的超高效聚合物色谱(APC)系统评估药物递送聚合物的降解

Larry Meeker, Mark Potheary

Waters Corporation, Malvern Panalytical Inc.

摘要

本研究对PLA-PEO-PLA药物递送聚合物的降解进行了表征。观察到经辐射处理的样品的分子量显著降低，但没有观察到它们的构象或结构发生变化，表明这种降解是由辐射引起的聚合物断链。正是采用了具有高分离度的ACQUITY APC系统和真正的多重检测系统OMNISEC REVEAL独特的组合，使得此类分析成为可能，其中OMNISEC REVEAL不仅包含光散射检测器，而且包含用于测量结构的在线粘度检测器。

优势

- 测定聚合物性质，如分子量、分散性和支化/构象
- 与SEC/GPC方法相比，分离度更高，上样量更少，运行时间更短
- 通过分子量分布区别分子结构
- 测定准确的摩尔质量

简介

药物递送是一个庞大且不断发展的研究领域，涉及合成聚合物和天然聚合物。研究人员正在开发许多针对不同目的的聚合物，例如偶联或包含小分子和大分子药物，使药物以指定的速率释放。利用聚合物和药物的复合体自定义释放速率，实现靶向释药目的并改善半衰期，以便调控治疗药物的疗效。定义药物的释放曲线是一个关键参数，并部分依赖于聚合物的降解特性。由于PLA（聚乳酸）、PEO（聚环氧乙烷）和PLC（聚己内酯）等聚合物具有生物相容性和生物降解性，因此通常用于药物递送系统。

为了尽可能提高这些药物递送聚合物的有效性，必须充分控制其基础分子特性，因为这些特性会严重影响它们的性能。分子量、分散性和支化/构象等特性都会影响聚合物降解，从而影响药物释放和生物利用度。无论是原生聚合物还是其后续制备产品，都必须测量上述特性，因为聚合物经历的各种加工流程都有可能影响其最终性能。例如，任何用作药物递送植入物的聚合物都需要在临床使用前通过一种或多种潜在的破坏性过程进行灭菌。

体积排阻色谱(SEC)又称凝胶渗透色谱(GPC)，是一种广泛用于测定分子量分布的常见技术。SEC分析常使用浓度型检测器，且通常为示差折光(RI)检测器。多检测器SEC测量中增加了光散射(LS)或粘度(IV)等检测器，可扩展检测范围。LS可以测量与分子形状、结构、化学性质或构象无关的绝对分子量。粘度检测器能够测量特性粘度(IV)，用于研究构象和支化，从而揭示聚合物可能经历的结构变化。

典型的分析型SEC测量可能需要大约25~45 min，消耗25~45 mL流动相。如果使用有机溶剂和卤代溶剂，该过程将非常耗时且成本较高。超高效聚合物色谱(Advanced Polymer Chromatography™, APC)系统采用基于刚性骨架结构、小颗粒填料(<3 μm)的新型SEC色谱柱技术，可使用更短的色谱柱获得更出色的样品分离度。这样可以提高分析效率，同时显著减少运行时间和成本。减少溶剂用量的另外一项优势在于，能够有效地使APC成为比传统的分析型SEC更“环保”的技术。

由于检测器连接中存在明显的谱带展宽（或扩散），因此将多个SEC检测器与APC联用具有挑战性。然而，集成式多检测器系统的最新进展支持多达四个检测器连接到ACQUITY APC系统，并且可尽量减少由谱带展宽引起的分离度损失。马尔文帕纳科最近推出了新型OMNISEC REVEAL先进检测器系统，该系统经过与沃特世的合作优化，能够在APC条件下集成使用。

在本应用纪要中，将马尔文帕纳科的OMNISEC REVEAL多检测器模块与Waters ACQUITY APC系统结合使用，为PLA-PEO-PLA药物递送聚合物提供了高分离度、快速的多检测器SEC表征。将未处理样品的分子特性与经辐射灭菌后的两种样品进行了比较。



图1.ACQUITY超高效聚合物色谱(APC)系统和马尔文帕纳科OMNISEC-REVEAL

实验

样品描述

在THF中制备一种未处理和两种经辐射处理的PLA-PEO-PLA共聚物，标称浓度为1 mg/mL。

液相色谱条件

液相色谱系统：	ACQUITY APC
检测条件：	OMNISEC REVEAL，配备RI、LS（LS，RALS 90°角，LALS 7°角）和IV检测器
样品瓶：	带预开口隔垫的沃特世样品瓶
色谱柱：	ACQUITY APC XT, 150 mm, 45 Å、125 Å和450

	Å, 串联
柱温:	40 °C
样品温度:	40 °C
进样体积:	10~20 µL
流速:	1.0 mL/min
流动相:	THF (不含稳定剂)

数据管理

ACQUITY APC操作: 单机版ACQUITY控制台软件

OMNISEC操作、数据采集和处理: 马尔文帕纳科OMNISEC软件

方法

将三种聚合物样品分别溶于THF中, 然后使用ACQUITY APC系统和ACQUITY APC-XT色谱柱进行分离。色谱柱洗脱液直接流入由RI、LS和IV检测器串联而成的OMNISEC REVEAL系统中。使用NIST可追溯的聚苯乙烯标样的分子量和特性粘度标准品对检测器进行校准。

结果与讨论

图2为分析型SEC与ACQUITY APC系统对比。从图中可以清晰地看到, APC系统每次进样节省了大量时间和流动相。

图2显示了三种样品(未处理和两种经辐射处理的PLA-PEO-PLA聚合物)的多检测器色谱图。色谱图分离度很高, 样品之间的差异清晰可见。

表1显示了这些分析的结果。可以清楚看到样品之间的差异, 其中经辐射处理的样品发生了显著降解。聚合物的分

子量减小了大约三分之二或更多。聚合物样品的特性粘度和流体动力学半径也显著减小。

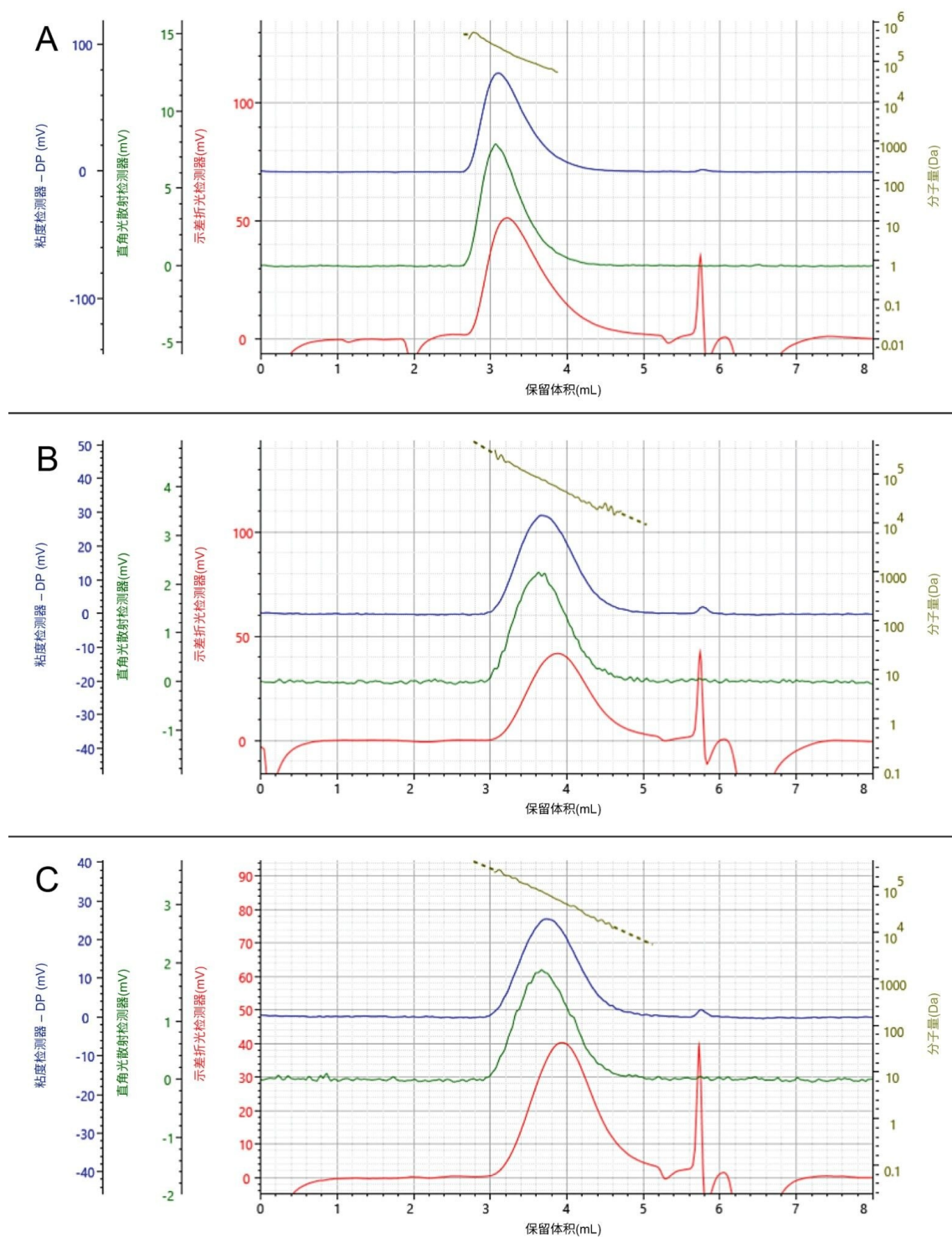


图2.未处理聚合物的叠加色谱图，显示了利用UPLC（红色）和分析型SEC（紫色）获得的结果。

	未处理样品		经辐射处理的样品 1		经辐射处理的样品 2	
	平均值	%RSD	平均值	%RSD	平均值	%RSD
RV (mL)	3.208	0.4	3.883	0.0	3.9	1.5
Mn (g/mol)	146,400	6.6	41,970	4.0	30,490	2.3
Mw (g/mol)	184,400	1.2	65,280	5.3	54,920	3.1
Mw/Mn	1.263	5.7	1.555	2.7	1.802	5.4
IVw (dL/g)	1.54	6.7	0.74	6.5	0.65	3.5
Rh()w (nm)	16.14	2.9	8.83	4.0	7.93	2.2

表1.三种聚合物样品的分子量和特性粘度数据

图3显示了三种聚合物样品的马克-霍温克图。马克-霍温克图显示了特性粘度与分子量关系的函数。所有具有分子量分布的聚合物在图上均表示为线状，且斜率的变化与分子链链接到聚合物主链的方式有关，支化或交联聚合物相对较小。Y轴截距偏移表示聚合物主链结构的密度存在差异；比较不同的聚合物化学结构时，通常会看到这种情况。在本例中，三种样品的叠加马克-霍温克图表明它们之间不存在结构差异。由此可以得出结论：聚合物降解仅是聚合物断裂的结果，而不存在更复杂的机理。

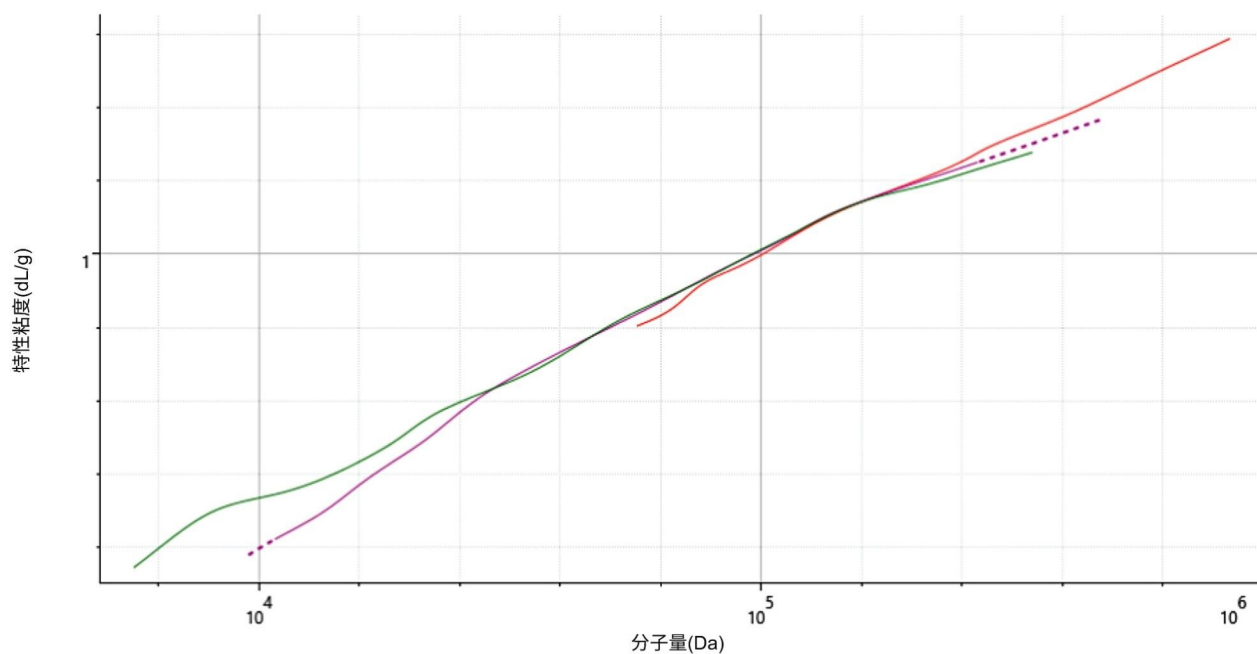


图3.三种聚合物的叠加马克-霍温克图，显示了未处理样品（红色）、经辐射处理的样品1（紫色）和经辐射处理的样品2（绿色）的结果。

结论

ACQUITY APC系统与OMNISEC -REVEAL多检测器系统联用可提供高质量、高分离度和快速的样品分析。

ACQUITY APC系统测量的分离度更高，上样量更少，运行时间更短。这样可以提高分析效率，降低此类研究的成本，还因为溶剂用量减少而“更加环保”。与多检测器系统结合使用时，可以实现更高水平的表征，包括测量与聚合物的化学组成或结构无关的绝对分子量，并且能够直接测量发生的任何结构变化。

本研究对PLA-PEO-PLA药物递送聚合物的降解进行了表征。观察到经辐射处理的样品的分子量显著降低，但没有观察到它们的构象或结构发生变化，表明这种降解是由辐射引起的聚合物断链。正是采用了具有高分离度的ACQUITY APC系统和真正的多重检测系统OMNISEC REVEAL独特的组合，使得此类分析成为可能，其中OMNISEC REVEAL不仅包含光散射检测器，而且包含用于测量结构的在线粘度检测器。

致谢

作者衷心感谢马尔文帕纳科为本应用纪要提供数据。

特色产品

ACQUITY APC系统 <https://www.waters.com/waters/en_US/ACQUITY-Advanced-Polymer-Chromatography-System---The-Next-Era-in-Polymer-Separation/nav.htm?cid=134724426>

720006484ZH, 2019年2月

©2019 Waters Corporation. All Rights Reserved.

[使用条款](#) [隐私](#) [商标](#) [网站地图](#) [招聘](#) [Cookie](#) [Cookie](#) [设置](#)

沪 ICP 备06003546号-2

京公网安备 31011502007476号