

使用配备示差折光(RI)检测器的Arc™ HPLC系统通过凝胶渗透色谱(GPC)分析聚乳酸羟基乙酸共聚物(PLGA)

Margaret Maziarz

Waters Corporation

摘要

聚乳酸羟基乙酸共聚物(PLGA)是一种可生物降解的聚合物，在医疗应用中广泛用于药物的缓控释放。PLGA的物理特性（包括分子量和多分散性）会影响药物的释放行为。本研究展示了使用凝胶渗透色谱(GPC)测定PLGA的分子量分布和多分散性。采用由Arc HPLC与强溶剂兼容性试剂盒和RI检测器组成的GPC系统，通过聚苯乙烯标准品的校正曲线分析PLGA样品。PLGA在0.5%聚乙烯醇(PVA)水溶液中的降解研究表明，在14天的研究中，聚合物的分子量逐渐下降。

优势

- 使用Arc HPLC系统、强溶剂兼容性试剂盒和RI检测器对PLGA聚合物进行可靠的GPC分析
- 使用带有GPC选项的Empower™软件高效处理分子量分布的GPC数据
- 通过表征分子量和分子量分布，轻松监测水性媒介中PLGA聚合物的降解

简介

聚乳酸羟基乙酸共聚物是一种可生物降解的功能性聚合物，由于具有生物相容性、无毒性和无免疫原性，因此广泛用于制药和医学工程产品¹⁻³。它在控制医疗产品中活性药物成分(API)的递送方面发挥着重要作用¹⁻²。通常情况下，药物会掺入用作药物载体的聚合物基质中，药物的释放曲线与聚合物的化学和物理性质（包括分子量）有关。相比于分子量较低的聚合物，分子量较高的聚合物通常降解速率较慢，因此会降低药物释放速率¹⁻³。PLGA是聚乳酸(PLA)和聚羟基乙酸(PGA)的共聚物²。

GPC又称为体积排阻色谱(SEC)，是表征聚合物分子量分布和多分散性指数(PDI)的常用技术。分子量测量通常包括数均分子量(Mn)、重均分子量(Mw)和z均分子量(Mz)。PDI是Mw/Mn的比值，用于测量分子量分布范围。

在本研究中，使用配备强溶剂兼容性试剂盒和RI检测器的Arc HPLC系统测定PLGA样品的分子量和多分散性。强溶剂兼容性试剂盒可支持使用聚合物的GPC分析中所需的强溶剂，例如四氢呋喃或二甲基甲酰胺⁴⁻⁵。使用由聚苯乙烯标准品生成的相对校正曲线计算PLGA样品的分子量测量值。研究中考察了水对PLGA降解的影响，在14天的研究过程中，发现聚合物分子量降低。所有计算均使用配备GPC选项的Empower软件完成⁶⁻⁷。

实验

含大约0.025%二丁基羟基甲苯的认证四氢呋喃(THF)，购自Fisher Chemicals，目录号：T397-4。异丙醇(IPA)，购自Honeywell，目录号：LC323-4。聚乙烯醇(PVA)，购自MP Biomedicals，目录号：151941。

样品描述

标准品溶液

ACQUITY™ APC聚苯乙烯中分子量校正试剂盒，部件号：[186007540 <https://www.waters.com/nextgen/global/shop/standards--reagents/186007540-acquity-apc-polystyrene-middle-mw-calibration-kit.html>](https://www.waters.com/nextgen/global/shop/standards--reagents/186007540-acquity-apc-polystyrene-middle-mw-calibration-kit.html)。本研究使用了三个标准品中的两个：

- 红盖样品瓶：每瓶含Mp为130 K、21.5 K、6.54 K和1.25 K的聚苯乙烯各1.5 mg
- 白盖样品瓶：每瓶含Mp为35.5 K、9.13 K、2.28 K和0.266 K的聚苯乙烯各1.5 mg

向每个样品瓶中加入1.0 mL四氢呋喃，静置数小时使其溶解，制得聚苯乙烯标准品溶液。浓度为1.5 mg/mL。

PLGA样品溶液

PLGA样品购自Sigma-Aldrich，具有不同的丙交酯:乙交酯(L:G)比例：

- 50:50, 分子量: 30,000~60,000
- 65:35, 分子量: 40,000~75,000
- 75:25, 分子量: 66,000~107,000
- 85:15, 分子量: 50,000~75,000

将PLGA样品在四氢呋喃中溶解数小时, 制得浓度为5 mg/mL的PLGA样品。进行GPC分析之前, 使用玻璃注射器将溶液通过0.45 µm PTFE注射器过滤器 (部件号: [186009315 <https://www.waters.com/nextgen/global/shop/sample-preparation--filtration/186009315-wwptfe-acrodisc-mini-045m-13mm-100-pk.html>](https://www.waters.com/nextgen/global/shop/sample-preparation--filtration/186009315-wwptfe-acrodisc-mini-045m-13mm-100-pk.html)) 过滤。

PLGA降解样品

在降解研究中使用丙交酯:乙交酯比例为50:50和75:25的PLGA, 称取约25 mg聚合物放入单独的闪烁瓶中。每个样品瓶放入1 mL去离子水 (含0.5% PVA) 中于37 °C下孵育。第1、2、6、8、12和14天将样品瓶从培养箱中取出。弃去水性媒介后, 用去离子水冲洗样品, 并在真空下干燥以去除残留的水。最后, 将样品以5 mg/mL的浓度溶解在THF中, 并在进行GPC分析之前使用玻璃注射器通过PTFE注射器过滤器 (部件号: [186009315 <https://www.waters.com/nextgen/global/shop/sample-preparation--filtration/186009315-wwptfe-acrodisc-mini-045m-13mm-100-pk.html>](https://www.waters.com/nextgen/global/shop/sample-preparation--filtration/186009315-wwptfe-acrodisc-mini-045m-13mm-100-pk.html)) 过滤。

方法条件

系统:	Arc HPLC系统, 配备四元溶剂管理器(QSM)、流通针式(FTN)样品管理器和强溶剂兼容性试剂盒 (部件号: 205002572)
流动相:	四氢呋喃
分离:	等度
流速:	1.0 mL/min
色谱柱:	所有色谱柱(7.8 × 300 mm, 5 µm)均使用随附的接管 (P/N: WAT084080) 串联连接。

带制冷功能的柱温箱（部件号：186179100）

Styragel™ HR 4, 10,000 Å, 分子量范围
： 5,000~600,000，部件号：WAT044225

Styragel HR 2, 500 Å, 分子量范围
： 500~20,000，部件号：WAT044237

Styragel HR 1, 100 Å, 分子量范围
： 100~5,000，部件号：WAT044234

柱温： 35 °C

检测： 示差折光检测器(RI)
采样速率： 10 pts/s
极性： 正
流通池温度： 35 °C

进样体积： 50 µL

样品瓶： LCMS最大回收样品瓶，容积2 mL，部件号
： 600000670CV

样品温度： 15 °C

清洗溶剂： 样品管理器/灌注清洗液： 四氢呋喃
密封清洗液： 异丙醇

数据管理

色谱软件： Empower 3 Feature Release 5Service Release 5
(FR5 SR5)。GPC选项用于数据处理与报告。

结果与讨论

选择一组具有不同孔隙率的三种色谱柱进行GPC分析，以覆盖聚苯乙烯标准品和PLGA样品的分子量范围。不同孔隙率的色谱柱可确保足够的聚合物分离度和准确的分子量测量。色谱柱按照孔径从大到小的顺序串联连接，以尽量降低反压。运行溶于THF溶剂中的标准品溶液和样品溶液，使用THF作为流动相进行等度分离。使用Empower软件的GPC选项进行数据处理和分子量计算。

聚苯乙烯标准品和PLGA样品的代表性色谱图如图1所示。保留时间与聚合物的洗脱体积相对应。分子量最大的最先洗脱，分子量最小的最后洗脱。

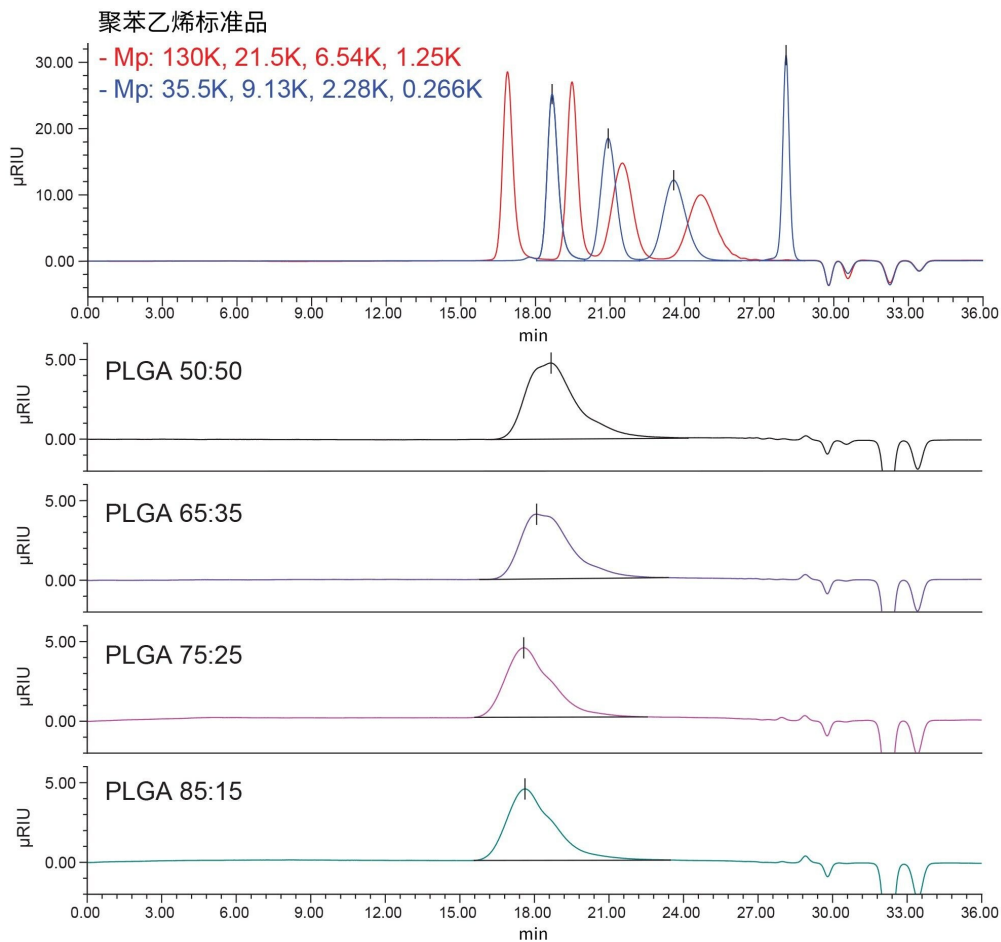


图1.使用带有强溶剂兼容性试剂盒和RI检测器的Arc HPLC系统对聚苯乙烯标准品和PLGA样品进行色谱分析。

GPC校正

利用每种聚苯乙烯标准品的峰位分子量(Mp)绘制GPC校正曲线。Empower生成了一条曲线，以分子量(Mp)的对数为y轴，以保留时间为x轴作图。该方法采用三阶拟合表现出可接受的GPC校正，相关系数(R^2)大于0.9998 (图2)。

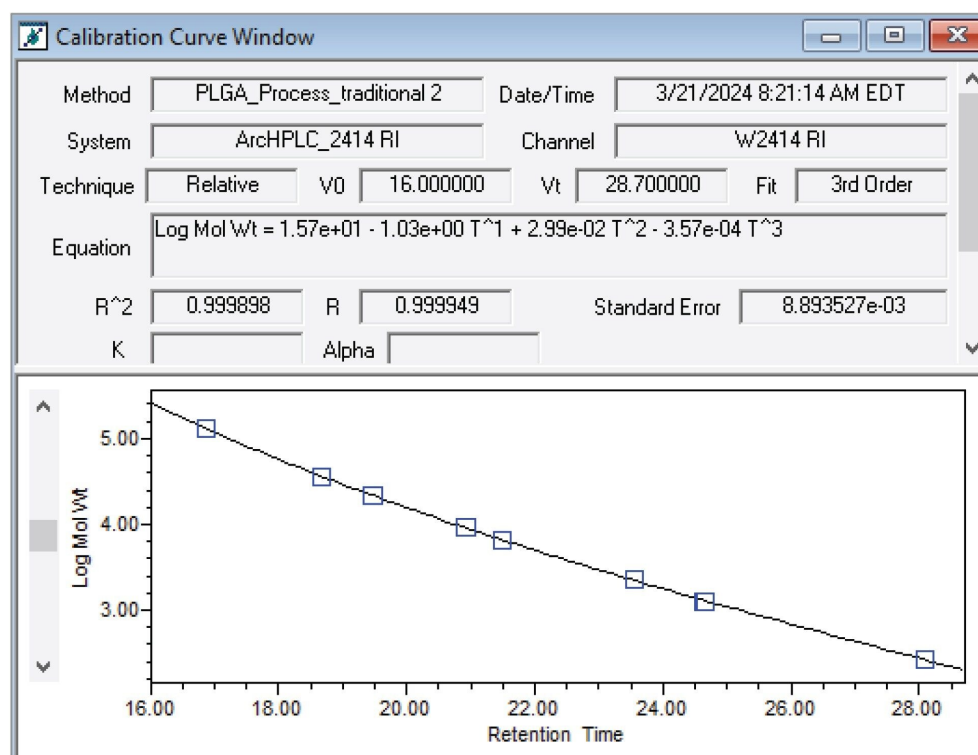


图2.使用聚苯乙烯标准品生成的GPC校正曲线（使用Arc HPLC系统、强溶剂兼容性试剂盒和RI检测器采集获得）。

PLGA样品分析

使用聚苯乙烯标准品生成的相对校正曲线计算丙交酯:乙交酯比例为85:15、75:25、65:35和50:50的PLGA样品的分子量测量值。Mw计算值在39,722~74,688 Da范围内，多分散性指数为1.6~1.7（图3）。

Empower 3 GPC_Molecular Weight Result Set Id: 4437 Calibration Id: 4444 Processed Channel Desc.: W2414 RI								
	Sample Name	RT	MP (Daltons)	Mw (Daltons)	Mn (Daltons)	Mz (Daltons)	Mz+1 (Daltons)	Polydispersity
1	PLGA 50:50	18.671	36233	39722	24600	54240	67864	1.6
2	PLGA 65:35	18.087	53826	44637	25843	62129	78186	1.7
3	PLGA 75:25	17.573	77287	74688	46507	103389	132013	1.6
4	PLGA 85:15	17.622	74614	70809	43322	98363	125756	1.6

图3.使用配备强溶剂兼容性试剂盒和RI检测器的Arc HPLC系统得到的PLGA样品的分子量

。

PLGA的降解研究

本研究考察了37 °C下在水性媒介中孵育两周的PLGA 50:50和PLGA 75:25的降解情况。根据之前发表的一篇文章，使用含0.5% PVA水溶液的水性媒介孵育PLGA样品，该研究表明PLGA聚合物容易通过聚合物内的亲水基团与水的相互作用而降解³。这些相互作用可能改变聚合物的特性，从而影响药物递送系统的性能³。

本研究使用在THF中制成浓度为1 mg/mL的聚苯乙烯标准品（Mp：266~130,000 Da），计算了在不同时间间隔取样所得到的样品的分子量。结果显示，在14天的研究期间，孵育的PLGA样品的Mw有所下降（图4）。

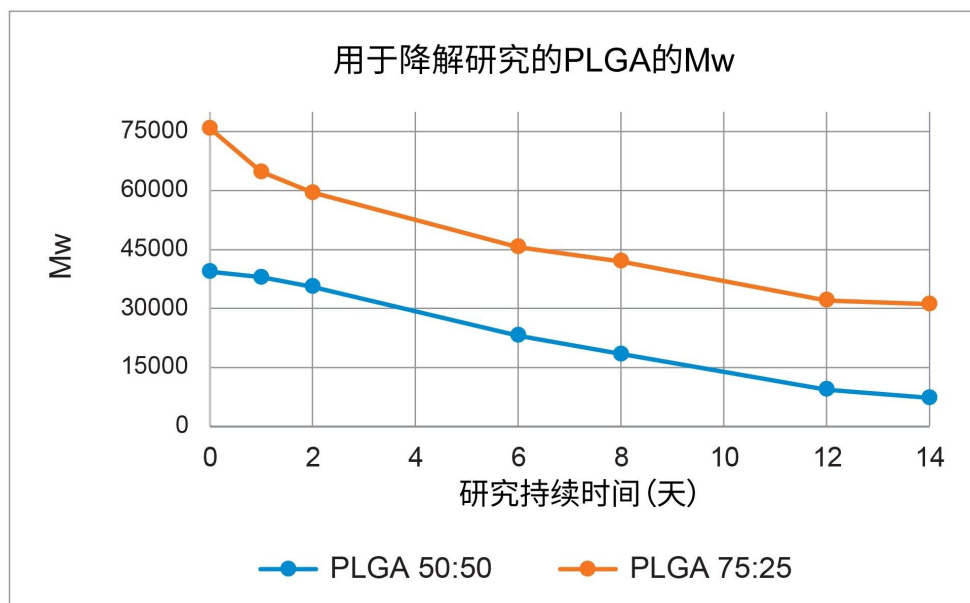


图4.在37°C的0.5% PVA水溶液中孵育的PLGA聚合物的重均分子量(Mw)。

在研究开始时（第0天）采集的PLGA样品（L:G比为50:50和75:25）的GPC结果，与孵育间隔第8天和第14天进行比较，评估分子量随时间的变化。色谱分离结果表明，与第0天的样品相比，小分子量的孵育样品洗脱时间更晚（图5）。此外，使用分布图评估了分子量分布。Empower通过绘制 $dwt/d(\log M)$ 和累积分子量分布百分比(%)与切片对数分子量的关系图来生成分布图（图6）。图中显示，与第0天的样品相比，孵育的PLGA 50:50样品表现出更宽的分子量分布（图6A）。对于PLGA 50:50，孵育第14天样品的多分散性指数(PDI)最大，为2.4，第8天和第0天样品的多分散性指数(PDI)分别为1.8和1.6。PLGA 75:25样品在研究过程中表现出相似的多分散性指数（图6B）。

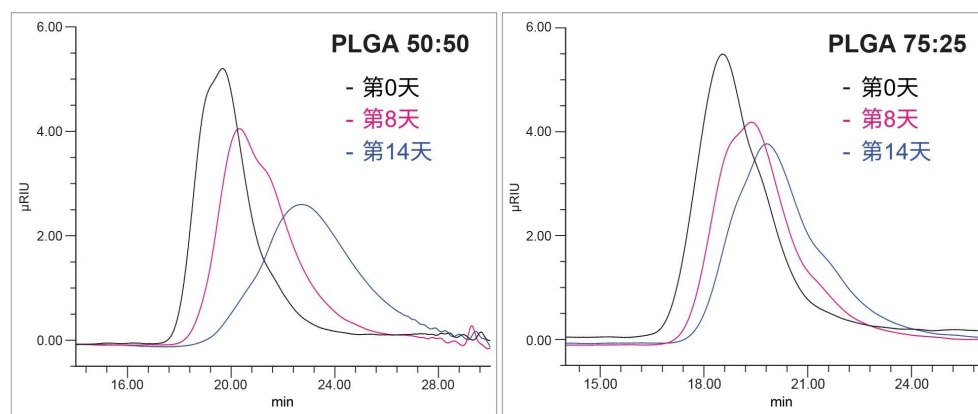


图5.PLGA样品在37 °C下于0.5% PVA水溶液中孵育第0天、第8天和第14天的色谱洗脱结果。

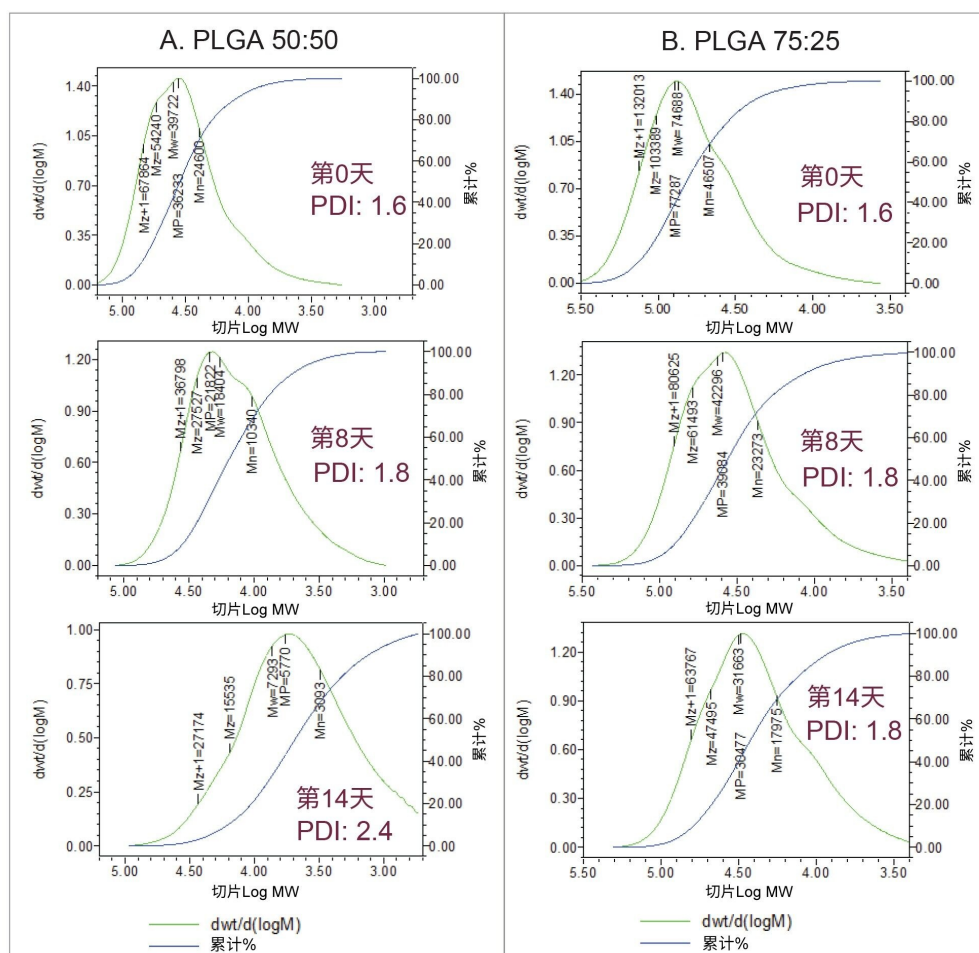


图6. PLGA 50:50 (A)和PLGA 75:25 (B)降解研究（在37 °C下于0.5% PVA水溶液中孵育）得到的分子量分布图。PDI：多分散性指数。

结论

使用由Arc HPLC系统与强溶剂兼容性试剂盒组成的GPC系统，计算具有不同丙交酯:乙交酯比例的PLGA聚合物的分子量分布。PLGA样品的分子量使用聚苯乙烯标准品生成的相对分子量校正曲线计算而得。降解研究表明，含有0.5% PVA的水溶液会降低PLGA的分子量。Empower软件GPC选项可实现快速的数据分析，从而有效表征聚合物的分子量和分子量分布。

参考资料

1. Lu Y, Cheng D, Niu B, Wang X, Wu X, Wang A. Properties of Poly (Lactic-co-Glycolic Acid) and Progress of Poly (Lactic-co-Glycolic Acid)-Based Biodegradable Materials in Biomedical Research Yue Lu. *Pharmaceutical*, 2023, 16, 454.
2. Makadia HK, Siegel SJ. Poly Lactic-co-Glycolic Acid (PLGA) as a Biodegradable Controlled Drug Delivery Carrier. *Polymers*, 2011, 3, 1377–1397
3. D' Souza S, Dorati R, DeLuca PP. Effect of Hydration on Physicochemical Properties of End-Capped PLGA. *Advances in Biomaterials*, 2014, Article ID 834942
4. Arc HPLC Strong Solvent Compatibility Guide (《Arc HPLC强溶剂兼容性指南》), Waters Corporation 用户指南, [715009279 <https://www.waters.com/webassets/cms/support/docs/715009279v00.pdf>](https://www.waters.com/webassets/cms/support/docs/715009279v00.pdf)。
5. Maziarz M. 使用Arc HPLC系统、强溶剂兼容性试剂盒和示差折光(RI)检测器对聚苯乙烯-四氢呋喃溶液进行准确的分子量测定。沃特世应用纪要, [720008301ZH](https://www.waters.com/webassets/cms/support/docs/720008301ZH.pdf), 2024年。
6. Empower GPC Software Getting Started Guide (《Empower GPC软件入门指南》), Waters Corporation 用户指南, [71500031303。 <https://www.waters.com/webassets/cms/support/docs/71500031303ra.pdf>](https://www.waters.com/webassets/cms/support/docs/71500031303ra.pdf)
7. 沃特世知识共享平台, Get Empowered: Review Window and the Processing Method - Working with GPC/SEC data in Empower - Tip125 (《技术赋能: 查看窗口和处理方法 - 在Empower中使用GPC/SEC数据 - 小技巧125》)。

特色产品

Arc HPLC系统 [<https://www.waters.com/nextgen/global/products/chromatography/chromatography-systems/arc-hplc-system.html>](https://www.waters.com/nextgen/global/products/chromatography/chromatography-systems/arc-hplc-system.html)

2414示差折光(RI)检测器 <

[https://www.waters.com/nextgen/global/products/chromatography/chromatography-detectors/2414-refractive-index-ri-detector.html>](https://www.waters.com/nextgen/global/products/chromatography/chromatography-detectors/2414-refractive-index-ri-detector.html)

Empower色谱数据系统 <<https://www.waters.com/nextgen/global/products/informatics-and-software/chromatography-software/empower-software-solutions/empower-cds.html>>

720008449ZH, 2024年7月



© 2025 Waters Corporation. All Rights Reserved.

[使用条款](#) [隐私策略](#) [商标](#) [招聘](#) [法律和隐私声明](#) [危险化学品生产经营许可证](#) [Cookie](#) [Cookie设置](#)

[沪ICP备06003546号-2](#) [京公网安备 31011502007476号](#)