

乳佐制备及表征一体化解决方案

编辑:Jessie Date: 2023.2

均一性与稳定性控制

佐剂（Adjuvant）又称免疫调节剂或免疫增强剂（Immunopotentiator），是作为疫苗的一种添加剂，当它先于抗原或与抗原混合注入机体后，能够增强机体对抗原的免疫应答或者改变免疫反应的类型，属于非特异性的免疫增强剂，而其本身无抗原性。理想的佐剂不仅能够增强免疫反应，而且能使机体获得最佳的保护性免疫。乳佐的均一性和稳定性是非常重要的两个考察项，而与此直接相关的是粒度的控制^[1]。

最近发布在Nature的文章表明，对MF59而言，平均粒径在160nm（MF59）左右效果比较佳²，粒径过大及过小效果都欠佳。此外，小颗粒浓度（如<100nm）及大颗粒浓度（如>1.2μm）过高均影响最后的药效且带来副作用危害。因此，除对平均粒径控制外，“过大”，“过小”颗粒浓度控制也非常重要。值得注意的是，在实际应用中，产品稳定性指标是一个非常重要的考察项，用于快速筛选配方及优化工艺。

乳佐流程概述

乳佐的常规制备方法为：制备水相、油相，经过混合、剪切步骤形成初乳，初乳经微射流均质机均质，而后除菌过滤得到乳佐。初乳、均质后乳液、除菌过滤后乳液通过PSS的Nicomp粒度分析仪测试平均粒径、AccuSizer颗粒计数器测试过大颗粒浓度、Lum稳定性分析仪快速筛选乳佐配方稳定性。另通过Lumispoc检测过小颗粒浓度。

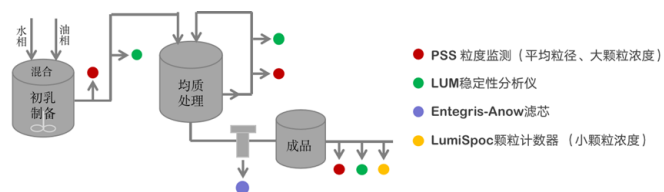


图1 乳佐制备流程图



奥法美嘉平台提供整套的乳佐制备及粒度表征控制整套解决方案，可用于快速评估、优化乳佐配方和工艺：PSI高压微射流均质机用于制备、Nicomp粒度分析仪分析平均粒径、AccuSizer颗粒计数器分析大颗粒浓度，LumiSpoc颗粒计数器分析小颗粒浓度、Lum稳定性分析仪快速分析乳佐稳定性，Entegris-ANOW滤芯过滤杂质及大颗粒。

乳佐粒度控制

以MF59为例，国际厂家在其专利乳佐制备上，对粒径进行严格控制，控制初乳、微射流均质后乳液、除菌过滤后乳液的平均粒径及大于 $1.2\mu\text{m}$ 的油滴浓度^{3,4}。

高压微射流均质机

PSI-20高压微射流均质机（小试兼中试型）采用固定结构的均质腔，通过电液传动的增压器使物料在高压作用下以极大的速度流经交互容腔的微管通道，物料流在此过程中受到**高剪切力、高碰撞力、空穴效应**等物理作用，使得平均粒径降低、体系均一稳定，由此获得理想的均质、分散或乳化结果。

- 最高2069 bar的均质压力，最高处理量20L/h（PSI-20）
- 采用特殊设计Y型腔，去除尾端大颗粒效果佳，**物料的混合更均一，处理效率高。**
- 屏显界面，数据可溯源：支持数据导出设定压力及实时压力、监测点温度、实时流量、时间等。
- 配置K型热电偶：可用于实施监测料液温度。
- 低噪音：运行音量低于70分贝，工作环境友好型。



图2 PSI-20高压微射流均质机

平均粒径检测

乳佐的粒度对其免疫效果起到很大的作用，整体平均粒径过大过小都不利于乳佐的免疫效果，以MF59为例，一般平均粒径在160nm 左右效果比较佳。其平均粒径不宜过大，相比于微米级别的液滴，纳米级别的乳佐更易于无菌过滤，耐受性良好，比更大的微米级W/O乳液佐剂具有更好的免疫原性和稳定性。但平均粒径过小，则会降低其在肌肉中的停留时间，导致从注射部位排除更快地排除，从而降低了药物效果，因为较小的颗粒比较大的颗粒更容易通过细胞内间隙外渗，并更快地到达淋巴结。因此，平均粒径需在合适范围内。

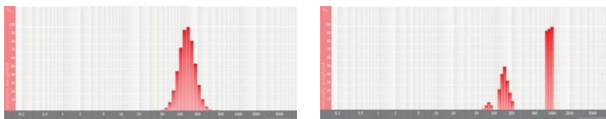
Nicomp纳米激光粒度仪系列

Nicomp系列纳米激光粒度仪采用动态光散射原理检测分析样品的粒度分布，基于多普勒电泳光散射原理检测ZETA电位。

- 粒径检测范围0.3nm-10 μ m，ZETA电位检测范围为+/- 500mV
- 搭载Nicomp多峰算法，可以实时切换成**多峰分布观察各部分的粒径**。
- 高分辨率的纳米检测，Nicomp纳米激光粒度仪对于小于10nm的粒子仍然现实较好的分辨率和准确度。



图3 Nicomp 3000系列（实验室）



高斯粒径分布图

Nicomp多峰粒径分布图

小粒子和尾端大粒子浓度检测

乳佐常规的平均粒径一般为亚微米级别或纳米级别，但是微米的乳粒往往大量存在，这些尾端大粒子的存在往往会吸附小颗粒，影响乳佐的稳定性，分析尾端大粒子浓度和数量，可以评价当前配方和工艺的情况并做出相应的优化。USP729规定乳剂中大于5 μm 的乳粒(PFAT5)体积占比不得超过0.05%，但目前还未有药典对乳剂中的下限进行规定，这并不意味着小粒子无需关注。如果过小颗粒浓度过多，如低于100nm，几十纳米左右，那么注入体内后可以穿过人体内大部分细胞屏障，到达的人体部位更多更广，由此造成的毒副作用会增加。

AccuSizer颗粒计数器系列

AccuSizer系列在检测液体中颗粒数量的同时精确检测颗粒的粒度及粒度分布，通过搭配不同传感器、进样器，适配不同的样本的测试需求，能快速而准确地测量颗粒粒径以及颗粒数量/浓度。

- 检测范围为0.5 μm -400 μm （可将下限拓展0.15 μm ）。
- 0.01 μm 的超高分辨率，AccuSizer系列具有1024个数据通道，能反映复杂样品的细微差异，为研发及品控保驾护航。
- 灵敏度高达10PPT级别，即使只有微量的颗粒通过传感器，也可以精准检测出来。
- 可出具法规报告



图4 AccuSizer A7000系列

LumiSpoc单粒子颗粒计数器

LumiSpoc采用单粒子光散射技术（SPLS），通过在光学流通池中进行流体动力聚焦，将单个粒子排列成一条直线。通过调整流动条件来调整样品浓度，从而避免浓度峰值的影响。当单个纳米或者微米颗粒经过特殊光束截面的激光束时，记录其正向和侧向散射的光强。根据米氏理论，将分类强度转换为粒度分布密度。通过软件分析显示计数分布、颗粒浓度。在行业内已有使用Lumispoc用于颗粒浓度的监测成功案例。

- 颗粒粒径检测范围：50 nm ~ 8 μm （取决于样品）
- 颗粒浓度检测范围：1 $\times 10^6 \text{ ml}^{-1}$ ~ 1 $\times 10^9 \text{ ml}^{-1}$
- 进样体积：250 μl



图5 LumiSpoc 单粒子颗粒计数器

稳定性分析检测

稳定性是评估药物的常规项，乳佐稳定性影响存放时间和有效期，稳定性较差的乳佐不仅会增加运输储存成本，还有可能增加用于人体使用的风险。在乳佐制备中，控制尾端大粒子数量和浓度能使乳佐更为稳定，国外某知名公司的专利中重点强调了 $>1.2\mu\text{m}$ 的液滴浓度，因为这部分液滴浓度过高，会凝聚或者聚结，从而导致乳液不稳定。

LUM稳定性分析仪

Lum稳定性分析仪可以直接测量整个样品的分散体的稳定性，检测和区分各种不稳定现象，如上浮、絮凝、聚集、聚结、沉降等，通过测量结果可用来开发新的配方和优化现有的配方及工艺。

- 快速、直接测试稳定性，无需稀释，温度范围宽广
- 可同时测8个样品，测量及辨别不同的不稳定现象及不稳定性指数
- 加速离心，最高等效2300倍重力加速度



图6 LUM稳定性分析仪

过滤

微射流处理后的乳液经过适当的滤芯过滤工艺。过滤可去除前置工艺流程中的大油滴，这部分油滴虽然数目很少，但这些油滴体积占比较大，且极易成为聚集的成核位点，吸附更多的小液滴，导致储藏过程中乳液稳定性降低。滤膜的材质将影响过滤后的效果，综合考量物理拦截，吸附拦截等效果，选择适配的滤膜材质用于过滤，此外，还需结合乳液配方考虑相容性稳定。

Entegris-ANOW 滤芯

Entegris-Anow是一家高分子微孔膜过滤企业，专业从事MCE、Nylon、PES、PVDF、PTFE等（膜孔径为 $0.03\mu\text{m}$ ~ $10\mu\text{m}$ ）微孔膜的研发及生产，具有二十多年服务与医药客户经验，并为全球生物制药、医疗器械、食品饮料、实验室分析、微电子及工业等领域的客户提供过滤、分离和净化解决方案。

Entegris与Anow的结合，引入Entegris质量管理体系，每一支滤芯都经过严格检查，此外，新建成的CTC验证中心，为全球客户提供专业的验证服务。



图7 Entegris 滤芯



上海奥法美嘉科技有限公司

上海市 闵行区 浦江镇 浦江高科技园F区
新骏环路 588 号 23 幢 402 室

Customer Service
Tel: 400-829-3090
Email: info@Alpharmaca.com



官方公众号



官方服务号

www.Alpharmaca.com