

使用 Agilent Vaya 拉曼光谱仪对 mRNA 脂质纳米颗粒组分进行原辅料鉴定



作者

Suresh Babu C.V.
安捷伦科技有限公司

摘要

手持式拉曼光谱仪能够穿透透明和不透明的包装容器来鉴别原辅料。本应用简报展示了使用基于空间位移拉曼光谱 (SORS) 的手持式 Agilent Vaya 拉曼光谱原辅料鉴定验证系统，穿透透明玻璃和白色不透明聚乙烯容器对 mRNA 脂质纳米颗粒 (LNP) 组分进行化学身份验证和测试。

前言

脂质纳米颗粒 (LNPs) 对于各种治疗药物至关重要^[1]。它们被用作药物递送系统, 可实现有效的靶向有效载荷递送。最近, 它们已被用作 COVID-19 疫苗的 mRNA 载体。核酸 LNP 制剂通常由脂质和非脂质赋形剂构成。两种赋形剂类型在疫苗的稳定性和转染有效性和安全性中起到重要作用^[2]。因此, 评估 LNP 制备中所用原辅料的化学组成和纯度至关重要, 因为它们直接影响最终产品质量。强制性现行药品生产质量管理规范原辅料鉴定测试或验证结合简化的检测, 可有效解决这一质量控制需求。

拉曼光谱现在是鉴定测试的标准技术。拉曼光谱可对原辅料进行现场身份验证。SORS 是一种专门的技术, 可以准确鉴定不透明或透明表面下方的材料, 无需打开样品瓶或容器^[3]。在本应用简报中, 使用 Vaya 拉曼光谱系统 (基于 SORS 的手持式拉曼光谱仪) 分析 mRNA LNP 制备中所用的几种市售脂质和非脂质赋形剂。Vaya 可以穿透透明和不透明容器鉴定原辅料。

实验部分

三(羟甲基)氨基甲烷 (Tris)、4-(2-羟乙基)-1-哌嗪乙磺酸 (HEPES)、柠檬酸、乙腈、甲醇、乙醇、蔗糖、麦芽糖、海藻糖、甘露醇和山梨醇均来自 Sigma-Aldrich。1,2-二硬脂酰-sn-甘油-3-磷酸胆碱 (DSPC)、1,2-二肉豆蔻酰-rac-甘油-3-甲氧基聚乙二醇-2000 (DMG-PEG 2000) 和胆固醇由 MedChemExpress 提供。所有赋形剂均在各自原始容器中进行分析 (纳米颗粒组分与相关容器的确切组合见图 1)。对每种脂质创建身份验证方法, 以展示利用 Vaya 穿透玻璃样品瓶对 LNP 组分的区分。使用内置方法开发向导开发方法。用户仅需提供容器类型信息, Vaya 会自动设置所有其他采集参数。在采集 SORS 光谱前进行了性能确认测试。使用每种身份验证方法生成本应用简报中提供的光谱数据。自动化基线校正正是 Vaya 常规分析方案的组成部分, 除此之外, 没有进行额外的数据处理。

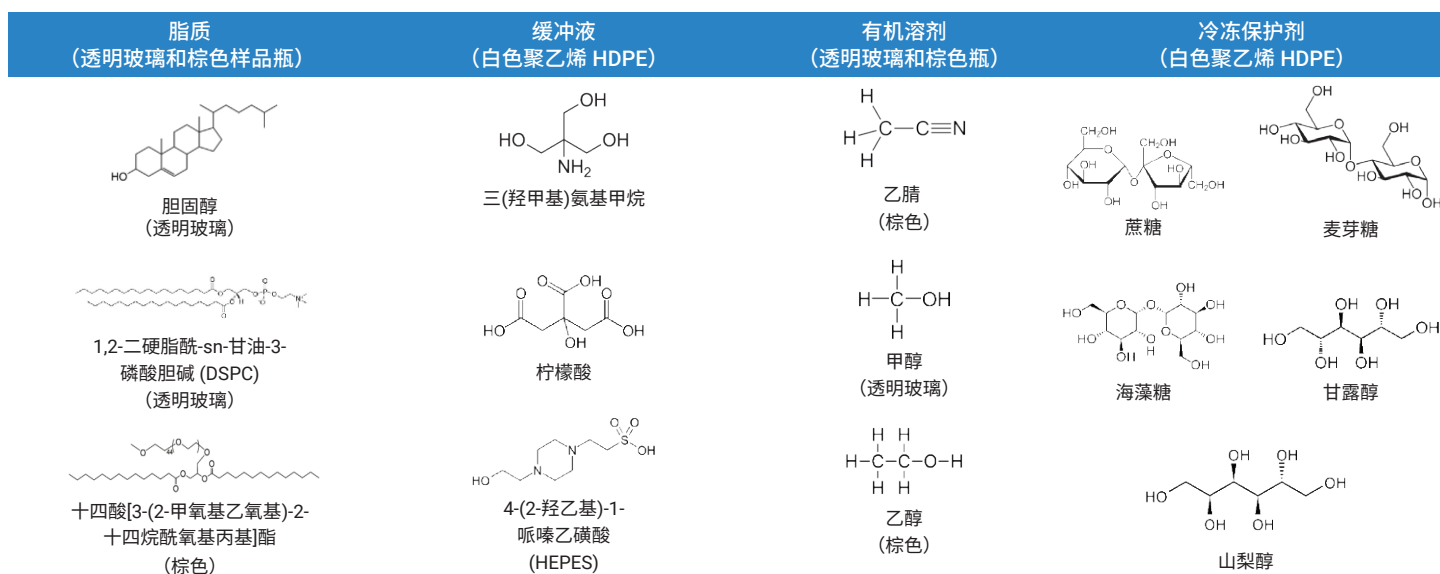


图 1. 本研究中所使用的脂质和非脂质赋形剂以及容器详细信息

结果与讨论

脂质和非脂质赋形剂的类型

脂质赋形剂和非脂质赋形剂（如缓冲液组分和冷冻保护剂）用于基于核酸的 LNP 产品。图 1 显示了本研究中所用的四类化学品（脂质、缓冲液、溶剂和糖基冷冻保护剂）及其相应的容器类型。

脂质

脂质为 LNPs 的结构单元。图 2 显示了拉曼光谱的叠加图，以及 Vaya 如何轻松区分聚乙二醇化、离子和固醇类脂质。拉曼谱带归属确认脂质中存在长烃链^[4]。1440 cm^{-1} 处的谱带来自 CH_2 和 CH_3 的变形振动，而 1673 cm^{-1} 处的谱带来自胆固醇中存在的 $\text{C}=\text{C}$ 的伸缩振动。在 DSPC 中，949 cm^{-1} 处的谱带对应于 PO 伸缩振动。1700 cm^{-1} 处的谱带来自 DSPC 和 DMG-PEG 2000 脂质中的 $\text{C}=\text{O}$ 伸缩振动。

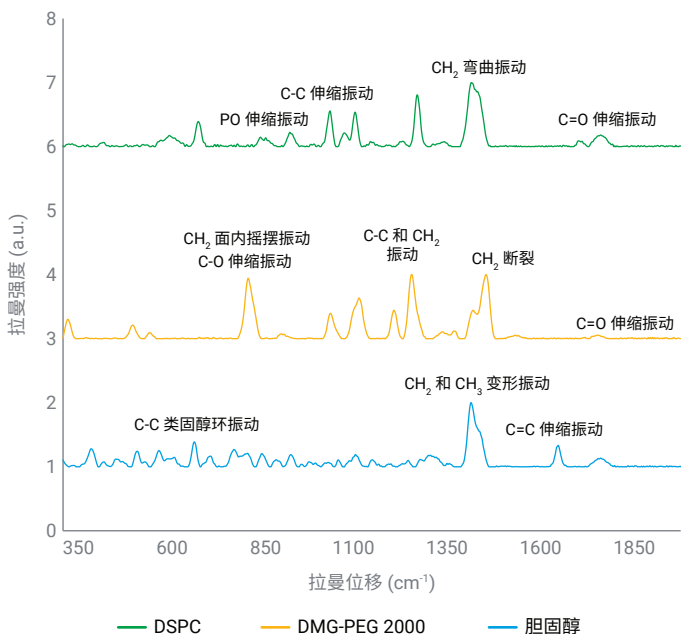


图 2. 穿透透明玻璃（胆固醇，DSPC）和棕色（DMG-PEG 2000）样品瓶得到的脂质的 Agilent Vaya 拉曼光谱

缓冲液

在 LNP 制备期间使用了各种类型的缓冲液。图 3 显示了三种生物缓冲液类型的拉曼光谱叠加图及相应归属。基于所有三幅光谱中显示的不同拉曼谱带，可以在 LNP 制备之前鉴定这些缓冲液。在 tris 光谱中，1500–1700 cm^{-1} 区域的谱带与 N-H 弯曲相关。对于 HEPES，1046 cm^{-1} 处的谱带来自 SO_3 伸缩振动。在柠檬酸中，1700 cm^{-1} 处的谱带来自 $\text{C}=\text{O}$ 伸缩振动。

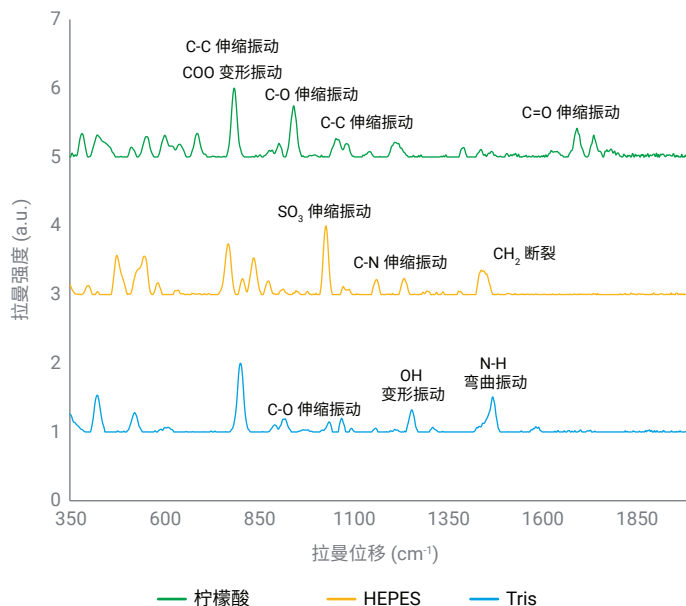


图 3. 穿透白色聚乙烯 HDPE 得到的生物缓冲液的 Agilent Vaya 拉曼光谱

有机溶剂

有机溶剂在 LNP 制备中起重要作用。图 4 显示了三种溶剂类型的拉曼光谱叠加图及相应归属。这些溶剂的光谱显示其谱带存在明显差异。甲醇在 1035 cm^{-1} 处的强谱带对应于 C-O 伸缩振动。乙醇光谱在 882 cm^{-1} 处有一个强谱带，对应于 C-C 伸缩振动，在 1050 和 1096 cm^{-1} 处有两个小峰，分别对应于 C-O 伸缩振动和 CH_3 面内摇摆振动。乙腈在 921 cm^{-1} 处有一条强谱带，表明为 C-C 骨架振动模式。

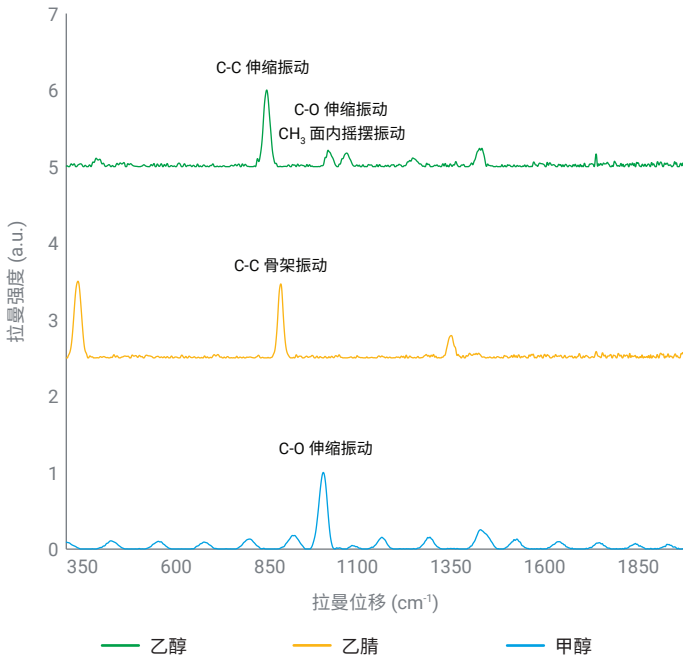


图 4. 穿透透明玻璃（甲醇）和棕色瓶（乙腈、乙醇）得到的有机溶剂的 Agilent Vaya 拉曼光谱

冷冻保护剂

在配制步骤中使用冷冻保护剂延长 mRNA LNP 保质期。各种糖的拉曼光谱及其相应的归属如图 5 所示。叠加图展示了如何用每种糖的独特光谱将其与其他糖区分开来。在蔗糖光谱中， 641.42 和 849.57 cm^{-1} 处的信号分别是扭转 CH_2 和 C-C 伸缩振动的结果。麦芽糖在 850.96 cm^{-1} 处的信号与 CH 变形振动相关。海藻糖在 841.25 cm^{-1} (C-O-C 变形振动)、 910.63 cm^{-1} (C-O 伸缩振动)、 1121.57 cm^{-1} (C-C 伸缩振动) 和 1454.82 cm^{-1} (CH_2 面外摇摆振动和 C-C 伸缩振动) 处出现谱带。分别在 878 和 1050 cm^{-1} 处发现甘露醇和山梨醇的同相 C-C-O 伸缩振动 (878 cm^{-1}) 和异相 C-C-O 伸缩振动 (1050 cm^{-1})。

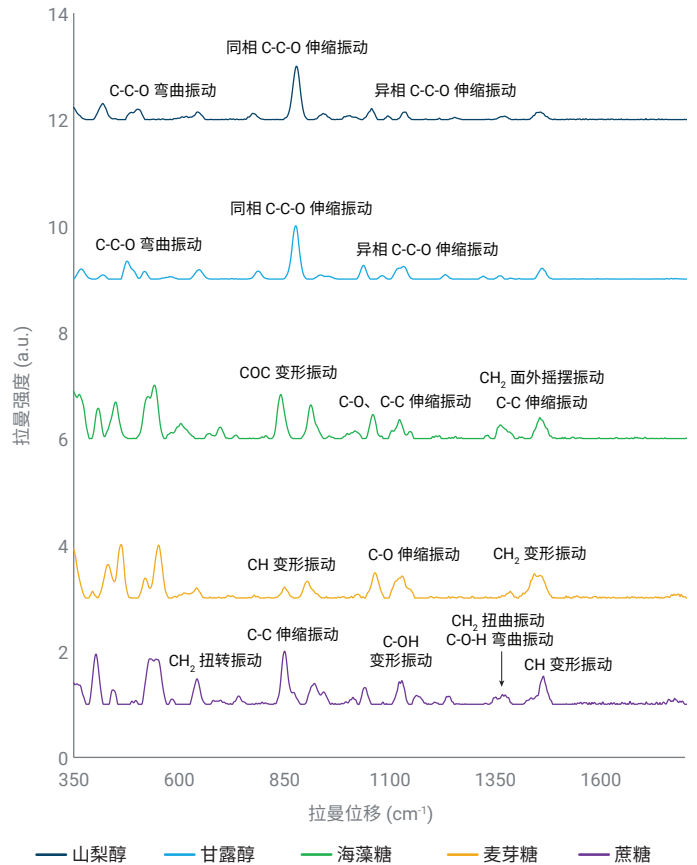


图 5. 穿透白色聚乙烯 HDPE 得到的冷冻保护剂的 Agilent Vaya 拉曼光谱

结论

本应用简报已经证明，Agilent Vaya 手持式拉曼光谱系统可用于分析和鉴定 mRNA LNP 制剂中所用的脂质和非脂质赋形剂。本文所用的技术可以直接测量不同容器（透明和棕色玻璃瓶以及聚乙烯材质）中的原辅料。借助 Vaya，生物药物产品的原辅料鉴定测试将易于推行并可直接在仓库的检疫区域进行。使用 Vaya 时，无需再进行采样、无需配备采样间，也无需再打开一级或二级容器。

参考文献

1. Bulbake, U.; Doppalapudi, S.; Kommineni, N.; Khan, W. Liposomal Formulations in Clinical Use: An Updated Review. *Pharmaceutics* **2017**, *9*(2), 12. DOI: 10.3390/pharmaceutics9020012
2. Challener, C. Excipients Impact Stability in mRNA-LNP Formulations. *Pharmaceutical Technology* **2023**, *47*(3), 20–22, 32. Excipients Impact Stability in mRNA-LNP Formulations (pharmtech.com)
3. Prullière, F.; Presly, O. 使用手持式拉曼光谱仪鉴定容器内的原辅料，安捷伦科技公司白皮书，出版号 5994-2091ZHCN，**2020**
4. Czamara, K.; Majzner, M. Z; Pacia, K.; Kochan, A.; Baranska, M. Raman Spectroscopy of Lipids: A Review. *J. Raman Spectrosc.* **2015**, *46*(1), 4–20. DOI: 10.1002/jrs.4607

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

DE62815832

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，2024
2024 年 1 月 19 日，中国出版
5994-7068ZHCN