



利用QSense耗散型石英晶体微天平分析评估 生物制药制剂的稳定性和材料相容性

分析生物制剂和辅料在制造、存储和给药材料上的吸附

摘要

因其能对多种疾病进行高效治疗，近年来生物医药制品（如治疗性单克隆抗体）的使用正在稳步增长，并预计在未来将保持持续增长。尽管在治疗疾病方面具有巨大潜力，但使用这些相对较大且复杂的分子进行药物开发也面临着一系列挑战。

其中的一个挑战就是表面相互作用，在从制造到储存和给药的整个生命周期中，治疗性药物会与各种不同的表面发生相互作用，可能会出现药物在这些表面上发生意外吸附、浓度降低、蛋白质颗粒的形成。

在药物开发后期发现不相容性可能打乱产品开发时间表，并带来巨大的财务成本。在药物开发早期对表面诱导的不稳定性进行筛选，有助于减少不相容性的风险，并预防在制造、储存或给药过程中可能遇到的挑战。

我们建议使用QCM-D技术分析评估抗体吸附，以了解不相容性可能发生的时间和原因，并找到缓解这一问题的措施。我们将展示利用QCM-D技术测量抗体吸附到不同材料表面以及表面活性剂的添加对吸附影响的能力。

1. 由于缺乏成熟的、对可能会导致表面不稳定的因素的筛选方法，增加了延迟发现不相容性的风险，这可能危及产品开发时间表并造成巨大的财务成本

在过去的几十年里，制药行业逐渐将注意力从小分子转向生物大分子，如单克隆抗体（mAbs）。

小分子药物仍然主导着制药市场，但由于生物制剂对各种疾病的治疗效果优异，其已成为了一个价值数十亿美元的行业，并且预计会继续增长。

尽管这些分子有望在当前没有治疗选项的疾病中发挥作用，但是，通向新革命性药物的道路并不平坦，因为生物医药制品的开发涉及到多个挑战。

与小分子药物相比，生物大分子更大且更为复杂。它们难以制造，对环境敏感，并且无法完全表征，而表面相互作用就是其中一个非常重要的表征。生物大分子容易与表面相互作用，这样做可能会吸附，导致浓度降低和/或颗粒形成。

在从制造到储存和给药的生命周期内，治疗分子将接触到许多不同的表面，它们在最后过滤步骤后遇到的每个界面都存在造成浓度降低或产生颗粒的风险。

根据药物和剂量的不同，造成的后果可能是浓度下降到不可接受的地步或颗粒增加，比如说制造出的产品与公布的指标不符，从而对产品开发时间表和财务成本在构成威胁。

在开发和配方研发过程中进行表面相互作用分析可以提供指导，从而处理在制造、储存和给药过程中出现的问题。

然而，尚未建立用于筛选导致表面不稳定性因素的方法，这增加了延迟发现此类不良情况的风险。



2. 分子与表面相互作用的实时在线分析可以降低延迟发现潜在不相容性的风险

耗散型石英晶体微天平监测技术 (QCM-D) 是一种表面传感技术, 已有二十多年的历史, 被广泛应用于分析分子-表面相互作用, 尤其是生物分子-表面相互作用。

该方法已被用于研究蛋白质与生物制药生产和容器密封系统中使用的材料表面之间的相互作用。

QCM-D方法提供的质量、厚度和粘弹性等实时信息, 使人们能够深入了解分子在芯片表面吸附、解吸附以及表面分子结构重排等现象。

由于其高灵敏度和基底材料以及溶剂条件的灵活性, QCM-D技术为研究纳米尺度下分子-表面相互作用提供了一种快速、低样品消耗的方法, 并能够及早发现潜在的不相容性, 帮助了解固液界面上分子过程和行为的机理。

对表面相互作用现象的详细洞察可以提供关键信息, 有助于预测在制造、储存和给药过程中可能出现的挑战, 特别是当药物产品与材料接触时, 有助于材料的开发、指导和选择。



QSense Omni
耗散型石英晶体微量天平

3. 一种快速且低样品消耗的方法, 用于获得潜在不相容性的早期指示

如上所述, QSense QCM-D 技术已经在超过二十年的时间里为表面和界面的生物分子相互作用提供了深入洞察, 其中也包括在生物制药生产和容器密封系统的分析。

为了进一步展示该技术的能力, 我们在这里提供两个案例示例, 展示了QSense QCM-D技术如何在生物制药的药物开发中, 用于评估和揭示生物制剂和辅料在不同基底上的初始吸附, 并提供对研究系统的机理行为的洞察。

选定的材料和实验方法

预装注射器由于其易于使用, 甚至可以自我给药而被广泛用于生物制药品的储存和给药。

药物, 如单克隆抗体, 在储存和给药过程中会与几种具有不同特性的材料接触。

这些材料通常包括玻璃制成的注射器桶、塑料制成的盖子、用于润滑柱塞和筒的硅油, 以及金属制成的针头。

因此, 我们在这里将展示两个示例, 证明QSense QCM-D 是一种可靠且可重复的方法, 用于检测与生物医药制品储存相关的材料, 尤其是预装注射器与单克隆抗体之间的相互作用。

在第一个示例中, 我们使用QCM-D来研究单克隆抗体 (mAb) 在塑料、玻璃、金属和硅油涂层表面的吸附情况。

在第二个示例中, 我们展示了该方法如何用于研究非离子表面活性剂存在下对mAb在玻璃和硅油上吸附的影响。

在这两个示例中, 我们采用了全自动仪器QSense Pro 和QSense Omni 平行测量, 更高效地获得三次重复数据, 从而评估变化并获得可靠的统计结果。



QSense QCM-D 是一种表面敏感的、实时、在线的检测技术, 用于对表面上的分子相互作用进行无标记分析。通过监测石英晶体传感器的共振频率 f 和耗散因子 D 的变化, 可以对固-液界面的过程进行表征和定量分析。

您可以得到:

实时、在线和无标记的方式分析分子与表面的相互作用、分子之间的相互作用, 以及表面粘附层的构象变化。

您可以研究:

- 吸附/脱附
- 分子相互作用
- 酶活性
- 分子层的结构变化

数据解析方法:

- Δf 提供有关表面质量变化的信息。频率降低表明物质吸附, 反之亦然。
- ΔD 提供关于吸附层刚柔度的信息。一般来说, D 越高, 吸附层越软和/或越厚。

案例A) mAb在塑料、玻璃、金属和硅油表面上的吸附

在这个例子中，我们演示了如何利用QCM-D来研究mAb在塑料、玻璃、金属和硅油涂层表面的吸附情况。

实验方案如下：

- 通入缓冲液，平衡1小时，获得基线
- 通入mAb溶液吸附，持续2小时
- 通入缓冲液冲洗，持续2小时

结果

图1显示的是实时检测的QCM-D的原始数据，展示了mAb与材料的动态相互作用，并允许对所研究的不同材料进行分析和比较。

在mAb吸附过程中，比较最大 Δf 和 ΔD 响应（见图2），可以注意到：

- mAb与金属表面结合最为强烈
- mAb与塑料和硅油表面结合的质量相似，但mAb在塑料表面的 ΔD 变化更大
- 数据还显示mAb与玻璃表面的相互作用较弱

机理洞察

通过绘制 $\Delta D/\Delta f$ 比值图，如图3所示，我们可以得到更多信息和结论：

- mAb吸附在玻璃表面上，较高的 $\Delta D/\Delta f$ 比值表明了mAb吸附层比较软，并且其吸附特性与在其他材料上有所不同。
- 在硅油表面上，较低的 $\Delta D/\Delta f$ 比值表明当蛋白质的疏水性基团与芯片结合时，蛋白质在这个非常疏水的表面上会发生链伸展。这被认为是硅油涂层预装注射器中mAb颗粒形成和聚集的推动因素。

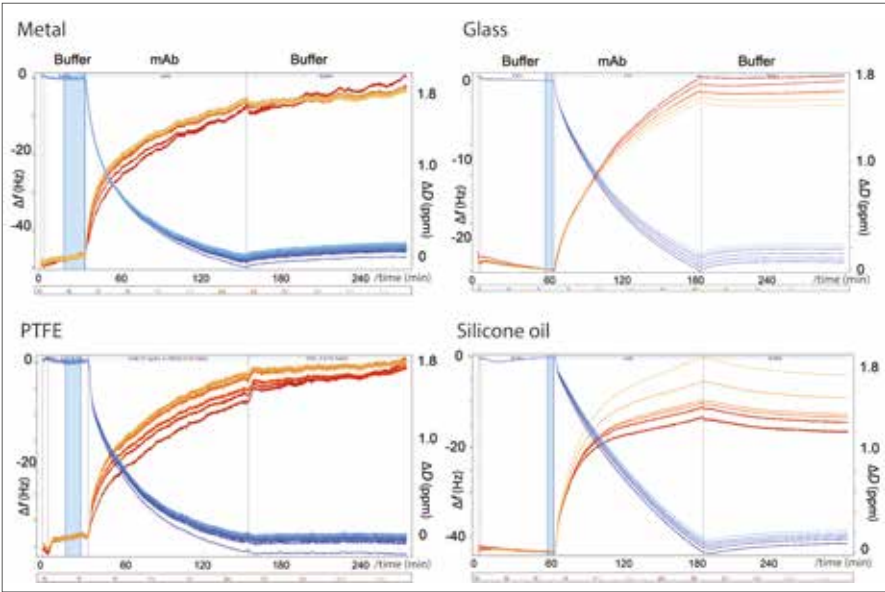


图1. QCM-D原始数据 Δf 和 ΔD ，显示mAb与预装注射器模拟材料（钢、塑料、硅油和玻璃）的实时相互作用。

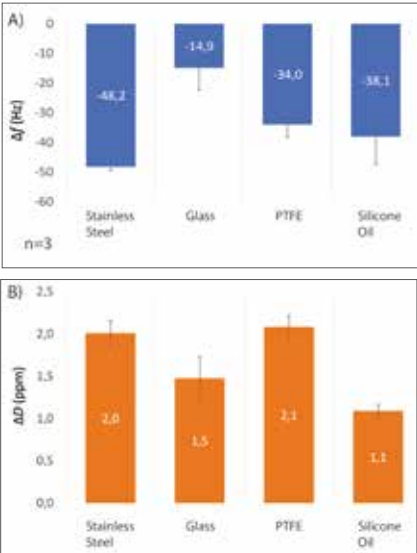


图2. 对mAb在预装注射器模拟材料（钢、塑料、硅油和玻璃）上吸附的QCM-D原始数据A) Δf 和B) ΔD 的最大变化值进行比较，揭示了吸附质量和吸附层结构。

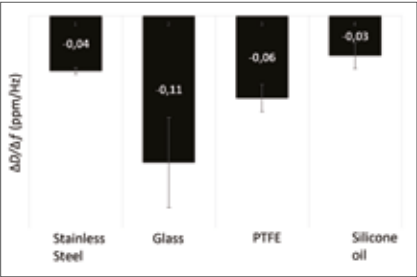


图3. 对mAb在预装注射器模拟材料（钢、塑料、硅油和玻璃）上吸附的 $\Delta D/\Delta f$ 比率的比较，揭示了mAb不同材料上吸附层柔性和吸附特性的差异。

使用QCM-D可以：

- 快速评估实际制造/存储/给药材料对整个配方的影响
- 快速测量配方候选物在相关材料上的吸附量，并确定缓解不相容性的方法
- 了解不相容性可能发生的原因和时间
- 了解表面活性剂作为稳定剂的作用机制/潜力



案例B) 添加表面活性剂对mAb在玻璃和硅油上吸附的影响

表面活性剂通常用于在制剂配方中改变容器-药物相互作用。因此，在第二个示例中，我们想要展示如何使用QSense QCM-D 来研究配方中添加了非离子表面活性剂之后，对mAb在玻璃和硅油上吸附的影响。

图4A所示结果的实验方案如下：

- 通入缓冲液平衡1小时，获得基线
- 通入非离子表面活性剂，持续1小时
- 通入mAb与表面活性剂一起进行吸附，持续2小时
- 通入缓冲液冲洗，持续2小时

此外，在没有mAb存在条件下，进行了表面活性剂的吸附对比实验（图4B），以更好地评估表面活性剂和mAb的吸附特性。

结果

图4和图5中实时在线的QCM-D原始数据揭示了表面活性剂和表面活性剂-mAb与硅油（图4）和玻璃（图5）的相互作用。

表面活性剂和表面活性剂-mAb与硅油的相互作用。

仔细观察两种情况下，物质在硅油（图4）表面吸附的动力学，我们可以看到：

- 表面活性剂与硅油具有非常快的结合动力学，很可能在硅油表面形成了一层饱和和单分子层（图4，步骤I）。
- 表面活性剂的存在将与硅油结合的mAb量降低了95%（通过对比洗涤后数据，在图1中为-38.1Hz，在图4中为-1.7Hz）。
- 表面活性剂与硅油结合强烈，并阻止mAb与芯片的结合（见表1）

硅油	I, Δf 与表面活性剂相互作用之时	II, Δf 冲洗 30 min 后
图 4A	-13,8 Hz (n=3)	-8.8 Hz (n=3)
图 4B, ref	-11.6 Hz (n=2)	-9,5 Hz (n=2)

表1. 在硅油与表面活性剂相互作用之前 (I) 和之后 (II) 冲洗，以及在mAb存在的情况下 (图4A) 的频率变化 Δf 的对比

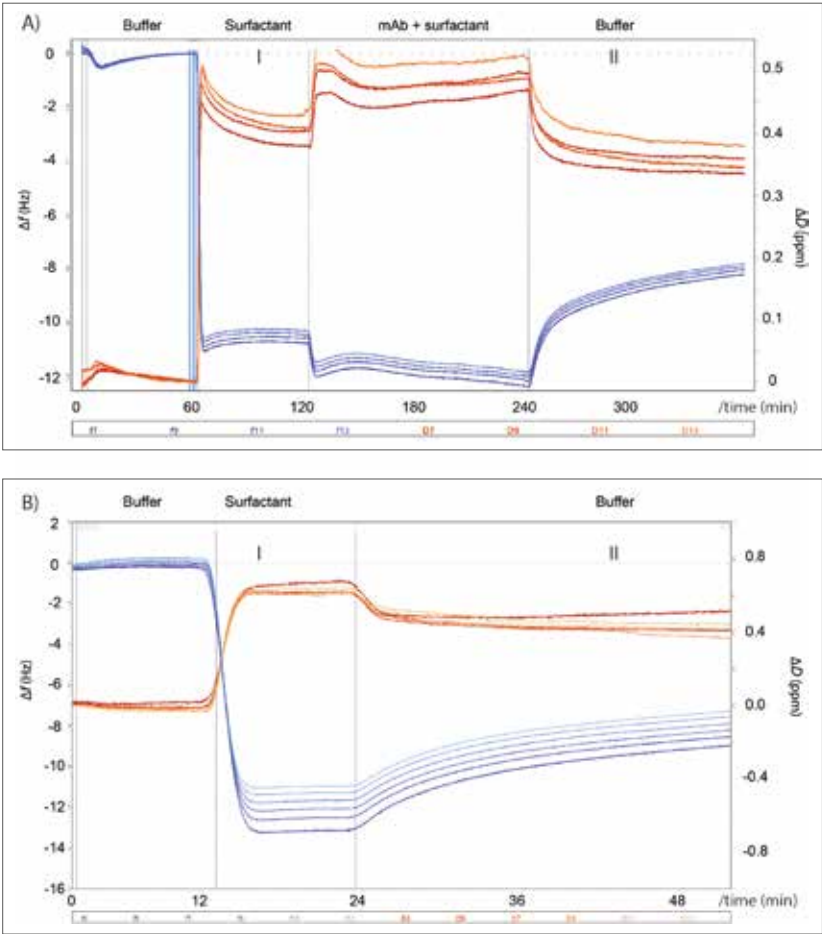


图4. QCM-D 原始数据展示了A) 表面活性剂 (I)，然后是mAb + 表面活性剂，以及B) 表面活性剂相互作用 (I)，与硅油的实时在线相互作用。这两个测量均以缓冲液洗涤 (II) 结束。

QSense QCM-D的优势：

- 提供分子与表面相互作用和界面行为的信息
- 高质量灵敏度，允许测量初始吸附
- 芯片涂层的多样性，可以分析真实相关的材料
- 样品量小
- 快速
- 专为水溶液设计
- 样品处理自动化



表面活性剂与玻璃的相互作用以及表面活性剂和单克隆抗体 (mAb) 与玻璃的相互作用

在玻璃上吸附的动力学，如图5所示，揭示了以下情况：

- 表面活性剂在玻璃上结合较弱，无法阻止mAb与芯片的结合（参见表2），这很可能是玻璃表面的亲水性导致的（步骤I）。
- 溶液中存在表面活性剂会使mAb的结合量增加67%（-25.5 Hz vs -14.9 Hz）。正如先前观察到的那样，表面活性剂与mAb很可能发生强烈相互作用，并形成较大的复合物。
- 相较于不含表面活性剂的mAb，表面活性剂+mAb复合物似乎与玻璃的结合程度更低一些，这可从比较图1和图5时上升时频率的增加中看出。

我们还可以从QCM-D数据中看到，与玻璃（ Δf 偏移较小和 ΔD 偏移较大）相比，mAb在硅油上吸附更多，并更可能发生了链结构伸展（ Δf 偏移较大和 ΔD 偏移较小）。这两种材料之间的一个明显差异是表面能，其中硅油高度疏水，而玻璃高度亲水，这是通过使用Attension Theta Lite 仪器测量的静态水滴角得出的结论。

案例小结

结合这两个案例，我们可以得出以下结论：QSense QCM-D 成功地用于评估生产中，生物制剂与容器密封材料相关的吸附行为。数据显示，mAb在金属上的吸附量最高，然后在硅油、塑料和玻璃上的吸附量依次减少。由于硅油和玻璃在预装注射器系统中的重要作用，进一步研究了mAb在二者上的吸附。在涂覆了疏水性硅油芯片上，QCM-D验证了mAb的吸附非常强，并且非离子表面活性剂可以使这种不利的相互作用降低了95%。在亲水性玻璃芯片上，mAb的吸附量显著较低，而且mAb没有像在硅油上那样完全吸附到芯片表面。在亲水性玻璃芯片上，表面活性剂并没有降低mAb的吸附量，相反，它可能在溶液中与mAb形成复合物，并且在玻璃上的吸附速率高于仅有mAb时。

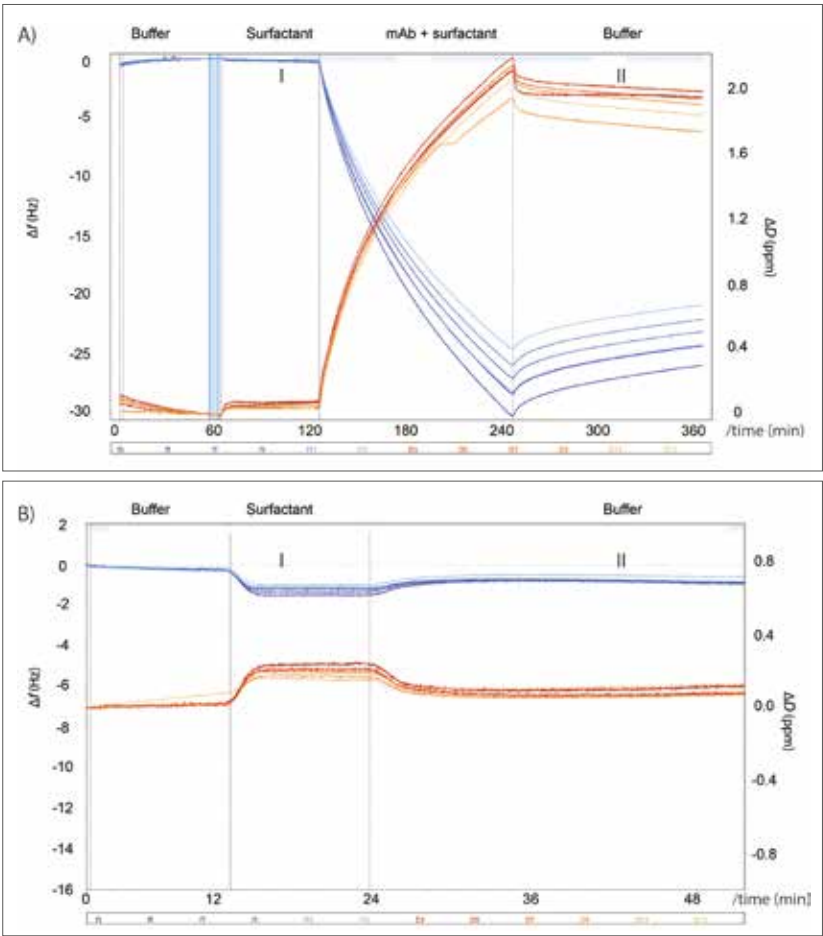


图5. 石英晶体微天平 (QCM-D) 原始数据, A) 表面活性剂 (I) 的相互作用, 然后是mAb+表面活性剂, 底部图显示表面活性剂 (I) 与玻璃的相互作用。这两个测试都以缓冲液冲洗 (II) 结束。

玻璃	I, Δf 表面活性剂与玻璃的相互作用时	II, Δf 冲洗 30 min 后
图5A	-0.1 Hz (n=3)	-25.5 Hz (n=3)
图5B, ref	-2.1 Hz (n=2)	-0.1 Hz (n=2)

表2. 在mAb存在的情况下，表面活性剂与玻璃的相互作用 (I) 和润洗之后 (II) 频率变化 (Δf) 的比较。



结语:

随着制药行业将注意力转向生物制品,对药物生产、储存和输送过程中接触到的材料,进行蛋白质在表面上吸附测试的需求日益增加。这有助于了解颗粒形成和浓度损失的风险,并在其导致项目延迟和成本增加之前减少潜在挑战。在开发和配方阶段对抗体和辅料的表面相互作用进行分析,可以提供有用的信息,并在早期指示可能在后期生产或给药阶段出现的问题。然而,目前缺乏成熟的方法来筛选导致表面不稳定的因素,这带来了不必要的延期失败的风险。QSense QCM-D技术是一种强大且可重复的分析方法,可以检测生物制药与制造、储存和使用相关的材料之间的相互作用。本文中提供的案例示范了如何评估与生物制品生产相关的容器密封材料上尤其是预装注射器上的吸附行为。

相关芯片:

QSense常规芯片可覆盖抗体及其他生物药物在生产、储存和管理过程中会涉及到的金属、玻璃和聚合物等各种不同类型的材料表面,例如:

- SS2343不锈钢 (类似于US S316)
- 硼硅酸盐玻璃
- 聚四氟乙烯(非晶态聚合物)

除此之外,百欧林还可以根据您的需求定制芯片,例如: PVC、PC、PES、PMMA、PP、PE、COP、COC、PDMS以及不同种类的不锈钢和生物医用合金。

参考文献

1. A.C. Anselmo, et al., Nature Reviews Drug Discovery 2019, 18 (1), 19-40
2. S.S. Farid, et al., mAbs 2020, 12 (1), 1754999
3. Oom A., et al, 2011, J. Pharm. Sci., 101, 519-529
4. Li J., et al., 2012, Pharm Res., 29(6):1689-97
5. Adams, M., 2016, AAPS J, 19, 110-116
6. Hudson, S.D, et al 2018, Mol. Pharm, 15, 1319-1331
7. Santacroce, P.V., 2020, Mol. Pharm., 17, 569-578
8. A. Kannan, et. al., 2021, Mol. Pharm., 18 (4), 1656-1665
9. P. Arosio, et al, J. Pharm. Sci, 2023, 112, 337-385
10. Randolph T.W. et al, 2015, J Pharm Sci, 104(12), 4056-4064



想了解更多信息?

如果您想了解更多关于QSense QCM-D以及它如何在您的工作中帮助您的信息,请与我们联系,我们将为您提供更多信息。



Biolin Scientific

[Progress Together]

瑞典百欧林科技有限公司——专注表界面科学分析

地址:上海市浦东新区祖冲之路2290弄展想广场1号楼1205室

电话: +86 21 68370071/68370072 传真: +86 21 68370073

客服热线: 400 833 6968 infochina@biolinscientific.com

www.biolinchina.com www.biolinscientific.com

关于我们

我们是瑞典百欧林科技有限公司,一个为科学家制造先进表界面科学分析仪器和提供智能解决方案的跨国公司。知识是我们最大的资源,也是我们所做一切的重要组成部分。我们与世界一流的大学和企业合作,旨在应对简化实验室日常工作的挑战。我们的客户是表界面科学领域的专家。通过为他们提供先进的表界面表征与分析仪器,我们与客户携手共进。



规格和外观如有更改,恕不另行通知,2024-09