

制药材料研究：使用 GC-MS 检测弹性材料中的可萃取物和可浸出物

作者

Bénédicte Gauriat¹, Isabelle Froger², Damien Chevaillier², Hans-Joachim Huebschmann³;
¹Thermo Fisher Scientific, Les Ulis, France; ²Septodont, Dental Pharmaceutical Company, Saint-Maur-des-Fossés, France; ³Thermo Fisher Scientific, Singapore

关键词

药品, 可浸出物, 可萃取物, GC-MS, 解卷积, 未知物鉴定, ISQ 7000

简介

药品从生产到服用均要与多种由不同材料的包装有接触，因此我们可能需要对这些材料进行详细的兼容性研究，以确保产品质量符合要求，并且不会因产品 / 材料不相容而引起安全问题，特别是与特定剂量或形式的给药方法可能会增加健康暴露和交互作用的风险。^[1,2]

在这些研究中，分析人员用可萃取物和可浸出物来反应出大部分可能渗入药品的物质。术语“可萃取物”和“可浸出物”由工业工作组^[3,4]，混合工作组^[5]（如产品质量研究所，可浸出物和可萃取物工作组，包括代表工业、卫生机构和学术界的药物开发科学家）和学科专家^[6]共同定义。这些定义经常扩展到材料处理领域，并与美国药典提出的定义一致，后者增加了可萃取物和可浸出物研究的具体章节^[7,8]：

可萃取物：是诸如“可以从实验室条件下的药物包装 / 输送系统，包装组分或包装建筑材料中释放的有机或无机类化学形式”的物质。根据萃取研究的具体目的 [...], 这些实验室条件（例如溶剂、温度、化学计量等）可能会加速或夸大包装形式的正常储存 / 使用条件。可萃取物本身或来

源于可萃取物的物质有可能在正常的储存和使用条件下浸出到药品中。”可浸出物：是“有机或无机化学物质，在正常的储存和使用条件下或在药品稳定性研究期间，从包装/输送系统、包装组分或包装建筑材料迁移到相关药品中。可浸出物通常是可萃取物的子集，或者可由可萃取物中提取。”

通过初步萃取研究来确定潜在的可浸出物，以及对其来源有贡献的接触成分研究非常重要。这些物质可能与药品或制剂成分发生反应，影响药品的功效或干扰剂量的一致性，最终可能对健康产生负面影响。

通常使用不同的分析方法进行可萃取物和可浸出物测定的研究，例如，使用电感耦合等离子体（ICP）进行元素分析，或使用液相色谱质谱（LC-MS）进行难挥发性物质分析。顶空-气相色谱质谱法（HS-GC-MS）主要用于挥发性化合物分析，而溶剂萃取后进行液体进样-气相色谱质谱法用于半挥发性化合物的分析。

本应用文献介绍了对一种柱塞这种可用于牙科的注射用弹性材料，进行可萃取性研究的方法，使用不同萃取技术、衍生化和 HS- GC-MS 分析。如果需要，能够同时配置经典的火焰离子化检测（FID）以用于将来的常规方

法的分析。虽然可从制造商处已知悉柱塞的成分，但药品生产商关于其组成以及随后可能迁移到药物中的物质知之甚少。

实验部分

样品制备

采用几种方式检测弹性柱塞材料。通过直接顶空分析确定挥发性化合物。将 10 个柱塞放入 20mL 顶空小瓶中，然后进行顶空进样。

通过使用三种萃取程序制备三种不同的液体萃取物进样，来研究样品的可提取性：

1. 用水萃取柱塞材料后用二氯甲烷（DCM）进行溶剂置换，不进行衍生；
2. 使用 BSTFA（10 个 1mL 安瓿包装，P/N TS-38830）将 DCM 提取物衍生处理；
3. 异丙醇（IPA）萃取。

这些萃取物用于本研究，并且是包括其他方法和提取技术的整体萃取研究的一部分。

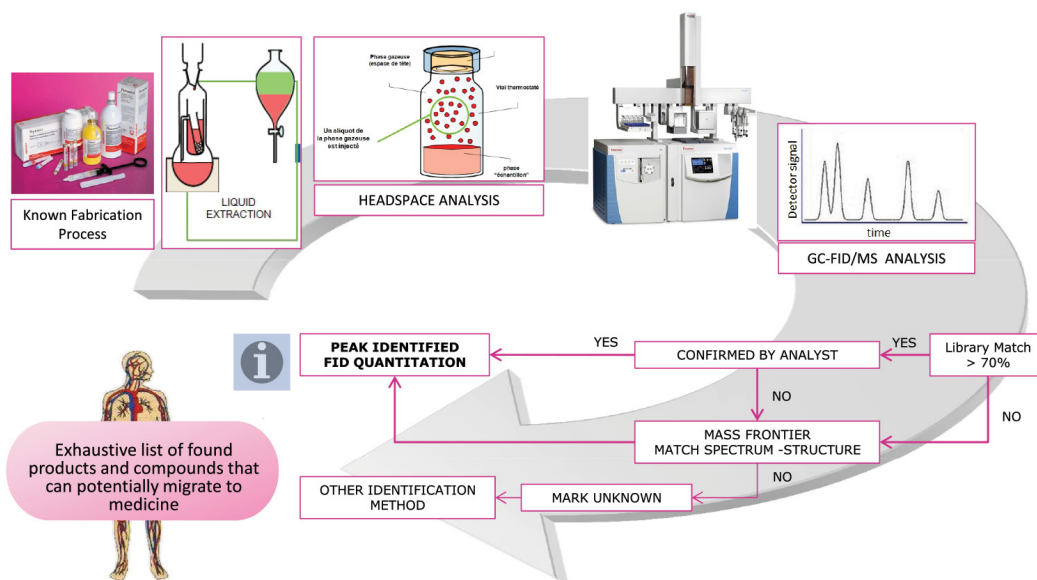


图 1. 萃取的工作流程

实验条件

如图 1 所示，使用 Thermo Scientific™ TRACE™ 1310 GC 和单四极杆 MS 系统同时进行 FID 和 MS 检测。并行 FID 检测通过 Silflow® 连接完成，配备非真空选项，无需耗时卸载质谱仪的真空便可快速更换色谱柱。

系统同时配备了 Thermo Scientific™ TriPlus™ RSH™ 自动进样器，用于液体和顶空进样。

表 1. GC 系统的条件

TRACE GC 1310 顶空	
进样口	分流 / 不分流, 320 °C 分流 20 mL/min
进样体积	1 mL 顶空
进样衬管	带玻璃棉的不分流衬管, 4 mm ID (P/N 453A1925)
炉温程序	30 °C, 保持 3 min, 以 8 °C /min 升到 280 °C 280 °C 保持 10 min
TRACE GC 1310 液体进样	
进样口	分流 / 不分流, 320 °C 液体进样 1min 不分流
进样体积	1 µL 液体进样
衬管	带玻璃棉的不分流衬管, 4 mm ID (P/N 453A1925)
炉温程序	40 °C, 保持 1 min, 以 8 °C /min 升到 325 °C 325 °C 保持 10 min
TRACE GC 1310 液体和顶空进样	
载气	He, 恒定压力 125 kPa
色谱柱类型	Thermo Scientific™ TraceGOLD™ 柱 5MS, 30m × 0.25 mm ID × 0.25 µm 涂层厚度 (P/N 26098-1420)
分路毛细管柱	FID: 0.2 m × 0.2 µm MS: 2 m × 0.15 mm
FID	300 °C Air 350 mL/min Hydrogen 35 mL/min Nitrogen 40 mL/min
传输线温度	300 °C

表 2. MS 系统的条件

ISQ 质谱仪	
离子源类型	Thermo Scientific™ ExtractaBrite™
离子源温度	220 °C
电离模式	EI, 70 eV
发射电流	50 µA
全扫描	25–700 Da, 4 次全扫描 /s (250 ms/ 次)



图 2. 配备 TriPlus RSH 自动进样器的 ISQ GC-MS 系统

数据处理

并行 FID 检测到的未知化合物采用全扫描模式 ISQ 质谱仪进行数据采集。

图 3 和图 4 显示了 HS 分析的色谱图。化合物鉴定的保留时间与 MS 和 FID 检测完全匹配。不同液体萃取和衍生程序的分析如图 5-7 所示，它们全部在总离子流色谱图 (TIC) 和 FID 上有响应。所有色谱图证明并行 FID 加 MS 检测与化合物洗脱行为非常一致。

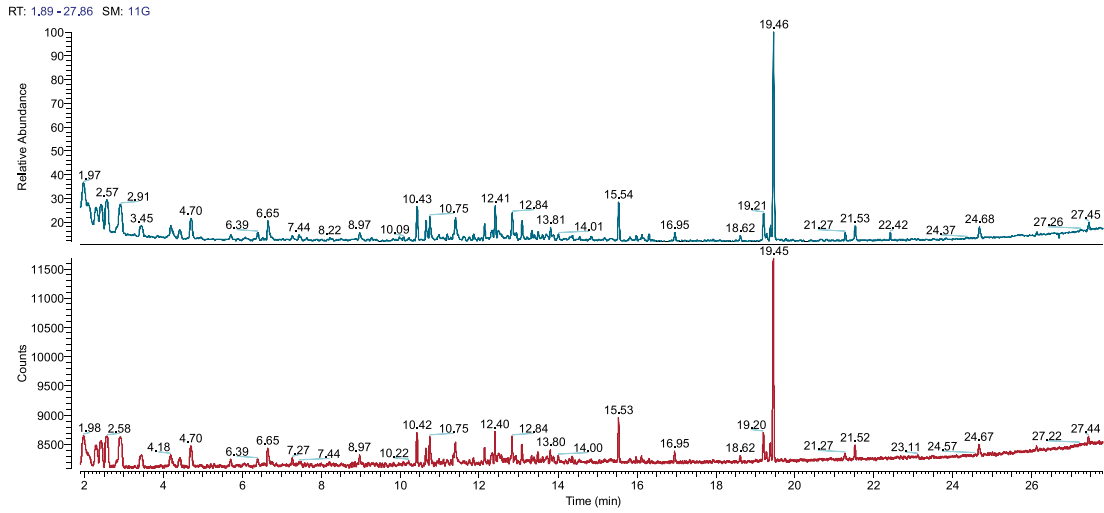


图 3. 弹性柱塞的顶空色谱图（上图为 TIC MS，下图为 FID）

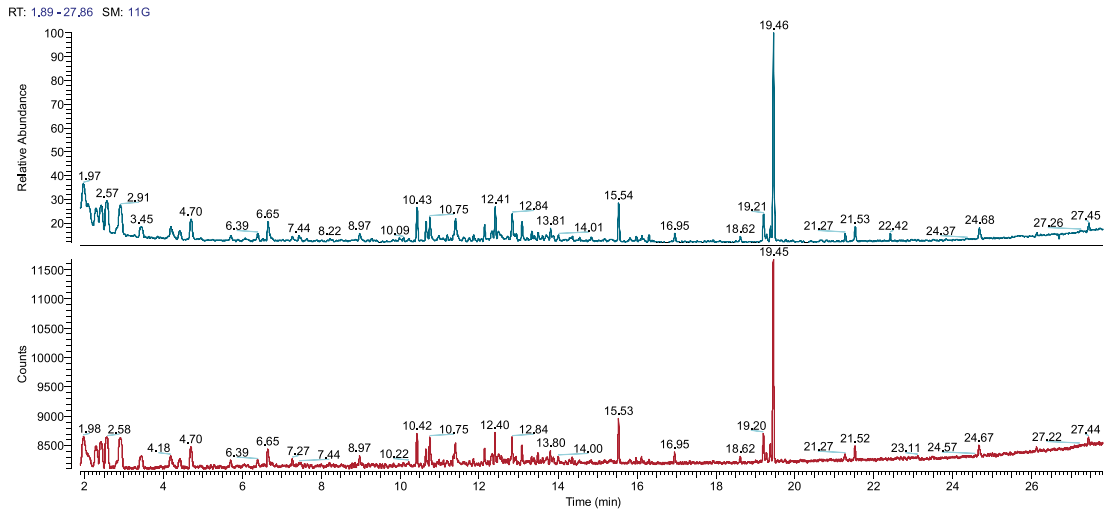


图 4. 缩放显示 - MS 和 FID 保留时间完美匹配（上图为 TIC MS，下图为 FID）

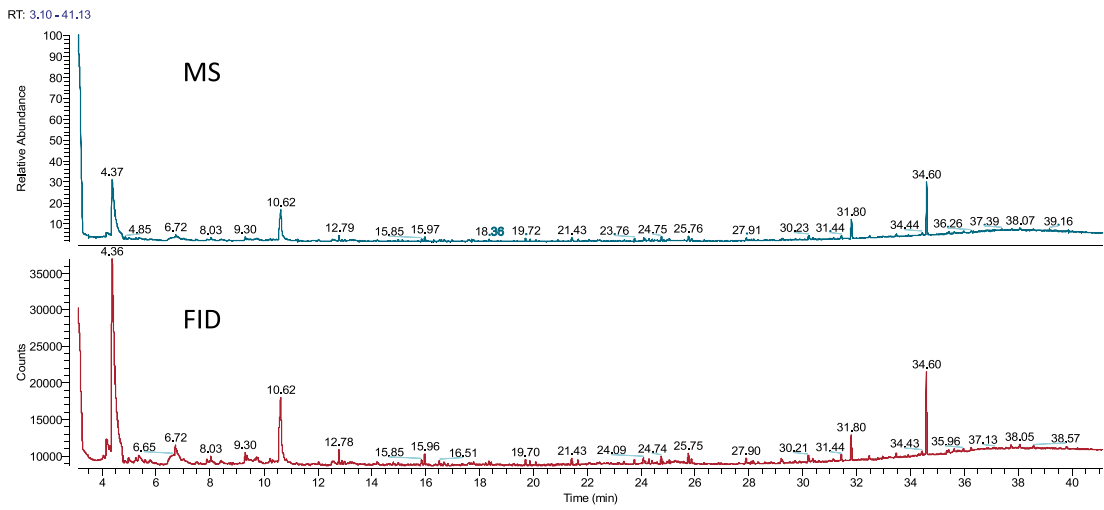


图 5. 水萃取物经 DCM 浓缩液的色谱图（上图为 TIC MS，下图为 FID）

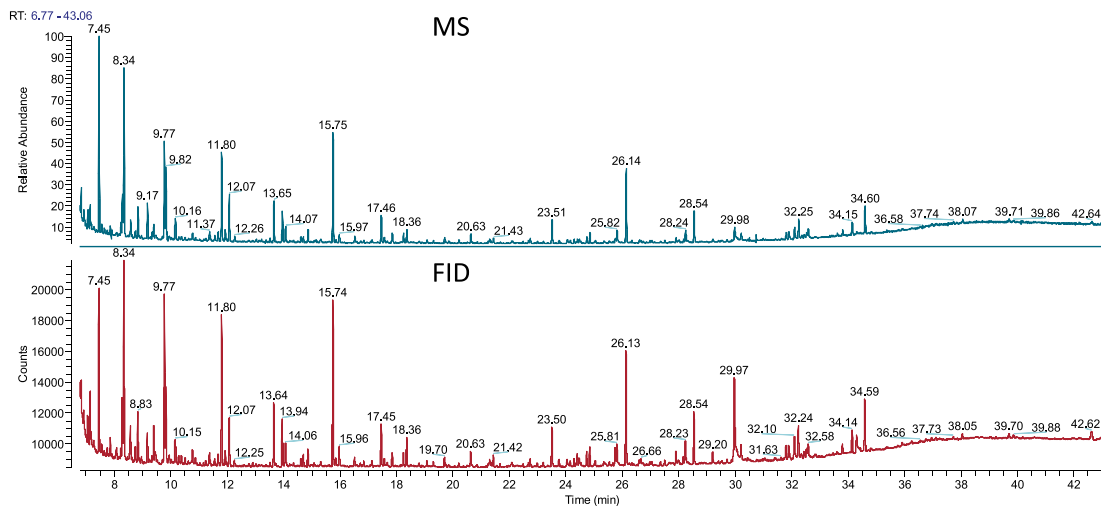


图 6. 液体 DCM 提取物经生化后的色谱图（上图为 TIC MS，下图为 FID）

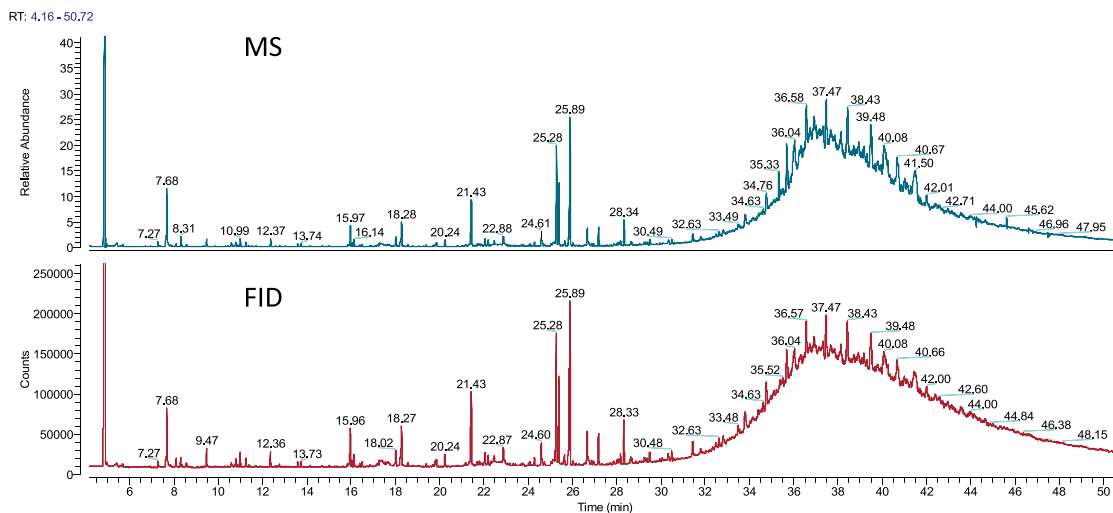


图 7. 液体 IPA 提取物的色谱图（上图为 TIC MS，下图为 FID）

自动质谱解卷积和识别系统 AMDIS 用于对复杂色谱图进行解卷积以提取“干净的”单一化合物质谱图。为了搜索并和标准谱图进行比较，使用美国国家标准与技术研究院（NIST）的谱库。AMDIS 将检测到的化合物保留时间与质谱联系起来，以获得更好的鉴定结果。所有结果都可以选择输出到 Microsoft® Excel® 进行进一步研究。

无法通过谱库搜索识别的质谱可以使用 Thermo Scientific™ Mass Frontier™ 光谱解析软件在碎裂模式中分析，从而得出切合实际的化合物结构建议。

AMDIS 色谱图解卷积

AMDIS 解卷积程序分三个步骤 9:

- 步骤 1: AMDIS 分析色谱图。根据在相同保留时间处峰顶点显示的最小离子数 (最大质量数质谱峰值检测器), 来计算洗脱化合物的数量。相应的质谱图被提取出来, 并将其从基线和共流出化合物质量强度的潜在贡献中去除。
- 步骤 2: AMDIS 从用户谱库核查目标化合物是否存在, 同时进行保留时间 (如果有, 也可用保留指数) 和质谱图的匹配度检测。
- 步骤 3: 将所有检测到的化合物谱图与关联谱库的参考谱图进行比较, 设置不同标准的筛选条件:

—一只匹配比选定值更好的那些

—一只选基于峰面积计算丰度最大的 'T' 化合物

—一只选那些最小面积比例 % 超过给定值的 'S' 化合物的

—所有化合物

结果和讨论

表 3~ 表 6 显示了对同一样品材料使用不同提取萃取方法和筛选条件的分析结果 (至少满足 75% 的匹配度)。

表 3 列出了采用顶空分析的鉴定化合物列表 (图 1), 其中列出了化合物名称、峰信息、保留时间和谱库反向检索匹配因子。“反向”匹配率 % 一列表征了未知物谱图与检索库条目的匹配度。

表 3. 通过顶空分析鉴定的化合物, 与谱库匹配率 > 75% (总共检测到 53 个峰)

化合物名称	保留时间 (min)	反向匹配度	峰面积 [cts]	峰面积 [%]	峰高 [cts]	峰高 [%]
Pentane, 2-methyl-	2.28	85	1917	4.68	368	2.36
Pentane, 3-methyl-	2.40	87	2308	5.63	442	2.84
Cyclopentane, methyl-	2.93	79	2847	6.95	515	3.31
Cyclohexane, methyl-	4.72	82	1333	3.25	346	2.22
2,3-Hexanedione	6.40	83	238	0.58	106	0.68
Hexanal	6.65	82	825	2.01	300	1.92
Propanal, 2,2-dimethyl-	10.43	88	950	2.32	538	3.46
Octane, 2,2,6-trimethyl-	10.66	88	445	1.09	259	1.67
Benzaldehyde	10.75	92	1031	2.52	461	2.96
Octane, 2,6,6-trimethyl-	13.34	79	164	0.40	115	0.74
2-Propenoic acid, [...] Ageflex/Sipomer IBOA	19.46	95	6465	15.77	3438	22.08
Ethanone, 2,2-dimetho5 [...] DMPA, Photocure 51	27.44	82	217	0.53	125	0.8

表 4. 在 IPA 提取物中鉴定的化合物，与谱库匹配率 > 75% (总共检测到 118 个峰) (*** 见图 6Mass Frontier)

化合物名称	保留时间 (min)	反向匹配度	峰面积 [cts]	峰面积 [%]	峰高 [cts]	峰高 [%]
Isopropanol P117	4.85	78	1737928	31.0	626333	28.9
Tricyclo[3.1.0.0(2,4)]hex-3-ene-3-carbonitrile	8.52	78	11506	0.2	5183	0.2
Benzyl alcohol	9.48	94	43713	0.8	23090	1.1
Benzene, (bromomethyl)-	10.80	90	23050	0.4	10571	0.5
Benzyl isopentyl ether	10.99	89	31562	0.6	18724	0.9
Benzyl isocyanate	11.25	94	21095	0.4	10942	0.5
Heptanoic acid, propyl ester	11.41	86	3680	0.1	2310	0.1
Decanone-2	12.60	79	3716	0.1	2230	0.1
Dodecane	12.77	92	5686	0.1	3521	0.2
Butane, 1,2,2-tribromo-	13.12	79	1611	0.0	1096	0.1
Tridecane	14.69	81	3736	0.1	2055	0.1
Benzene, (isothiocyanatomethyl)-	15.97	91	114760	2.1	47845	2.2
2-Dodecanone	16.40	84	7773	0.1	3757	0.2
Tetradecane	16.52	94	11436	0.2	5989	0.3
1-Bromo-3-(2-bromoethyl)heptane	18.02	65	57416	1.0	19643	0.9
1-Bromo-3-(2-bromoethyl)heptane ***	18.31	66	143599	2.6	50332	2.3
Pentadecane, 3-methyl-	19.39	88	5468	0.1	2763	0.1
2-Tetradecanone	19.82	89	16697	0.3	7514	0.4
Hexadecane	19.87	90	18647	0.3	8612	0.4
Impurity P116	21.43	93	245631	4.4	91711	4.2
N-Benzylidenebenzylamine	22.32	94	17660	0.3	5632	0.3
Tetradecanenitrile	24.29	81	17783	0.3	8962	0.4
Hexadecanoic acid, methyl ester	24.61	97	61160	1.1	28869	1.3
Phthalic acid, butyl cyclobutyl ester	25.06	88	10308	0.2	4055	0.2
Decane, 5,6-bis(2,2-dimethylpropylidene)-, (E,Z)-	25.29	72	403320	7.2	163977	7.6
Isopropyl palmitate	25.89	76	572407	10.2	204258	9.4
Oleanitrile	26.72	80	90096	1.6	41750	1.9
Heptadecanenitrile	26.97	76	8891	0.2	4527	0.2
Octadecanoic acid, methyl ester	27.19	92	73043	1.3	38750	1.8
Isopropyl stearate	28.34	90	99362	1.8	53712	2.5
Diisooctylphthalate @ P1828	31.81	82	22826	0.4	6778	0.3

图 5. 在 DCM 提取物中鉴定的化合物, 与谱库匹配率 > 75% (总共检测到 88 个峰)

化合物名称	保留时间 (min)	反向匹配度	峰面积 [cts]	峰面积 [%]	峰高 [cts]	峰高 [%]
Toluene	4.17	96	17526	3.7	2914	3.2
Benzene, 1-fluoro-4-methyl-	4.30	88	6223	1.3	2039	2.2
Benzene, 1-fluoro-2-methyl-	4.37	93	244339	51.0	27516	29.7
Benzaldehyde	7.89	90	800	0.2	307	0.3
Benzylalcohol	9.38	88	3632	0.8	1081	1.2
Cyclopropyl carbinol	10.63	77	55086	11.5	9086	9.8
Decanal	12.79	88	4070	0.9	2030	2.2
Diethylphthalate	19.72	92	1195	0.3	682	0.7
Dibutyl phthalate	25.05	90	1253	0.3	559	0.6
Ethyl hexyl phtalate	31.81	93	6673	1.4	3399	3.7

表 6. 在 BSTFA 衍生后 DCM 提取物中鉴定的化合物, 与谱库匹配率 > 75% (总共检测到 88 个峰)

化合物名称	保留时间 (min)	反向匹配度	峰面积 [cts]	峰面积 [%]	峰高 [cts]	峰高 [%]
Disiloxane, hexamethyl-	6.83	91	1426	0.5	1588	1.0
Dimethyl sulfone	7.14	92	5078	1.7	3467	2.1
Trifluoromethyl-bis-(trimethylsilyl)methyl ketone	7.45	94	14274	4.8	10694	6.6
Octane, 4-ethyl-	7.85	94	1932	0.6	1158	0.7
1,2-Bis(trimethylsiloxy)ethane	8.34	93	20903	7.0	12757	7.8
Cyclopropane, 1-heptyl-2-methyl-	8.58	87	3614	1.2	2127	1.3
Silane, (cyclohexyloxy)trimethyl-	8.83	89	4655	1.6	3102	1.9
Tetrasiloxane, decamethyl-	9.34	86	3844	1.3	2285	1.4
Silane, (1-cyclohexen-1-yloxy)trimethyl-	9.77	90	18016	6.0	10881	6.7
Propanoic acid, 2-[(trimethylsilyl)oxy]-, trimethylsilyl ester	9.82	95	8888	3.0	4868	3.0
Glycolic acid	10.17	88	3744	1.3	1516	0.9
Silane, trimethyl(phenylmethoxy)-	11.80	94	16044	5.3	9758	6.0
3,6,9-Trioxa-2-silaundecane, 2,2-dimethyl-	11.93	89	1501	0.5	974	0.6
Benzoic acid trimethylsilyl ester	13.65	94	7195	2.4	4126	2.5
Octanoic acid, trimethylsilyl ester	13.95	87	5175	1.7	3037	1.9
Octane, 2,4,6-trimethyl-	14.70	85	1338	0.5	790	0.5
Butanedioic acid, bis(trimethylsilyl) ester	14.86	89	1936	0.6	1089	0.7
Nonanoic acid, trimethylsilyl ester	15.75	91	19185	6.4	10747	6.6
Benzene, (isothiocyanatomethyl)-	15.97	86	2663	0.9	1295	0.8
Decanoic acid	17.46	90	5016	1.7	2737	1.7
Lauric acid TMS	20.63	91	1867	0.6	1006	0.6
Tetradecanoic acid, trimethylsilyl ester	23.51	86	4824	1.6	2576	1.6
Phthalic acid, butyl cyclobutyl ester	25.05	89	655	0.2	348	0.2
Hexadecanoic acid, trimethylsilyl ester	26.14	89	14483	4.8	7421	4.6
Octadecanoic acid, trimethylsilyl ester	28.55	86	6429	2.1	3375	2.1
Ethyl-hexyl-phthalate	31.81	89	1724	0.6	869	0.5
4-Methyl-2,4-bis(4'-trimethylsilyloxyphenyl) pentene-1	33.43	91	652	0.2	380	0.2

Mass Frontier 谱图解析软件

尽管某些获取的谱图不包括在商业化谱库中，但可通过匹配率显示出相似的结构。Mass Frontier 软件分析未知质谱，并将碎裂方式和离子结构与从已知碎裂规则的已知谱图库中计算出并与未知谱图相关联^[10]。在图 8 中给出了 DCM 萃取物的两个未知化合物的谱图解析实例，图 9 提供了 IPA 萃取物的两个实例。专业的 Mass Frontier 软件系统为解析质谱模式提出了合理的建议。使用全扫描 MS 和 FID 的并行检测结论对检出化合物显示出非常好的一致性。

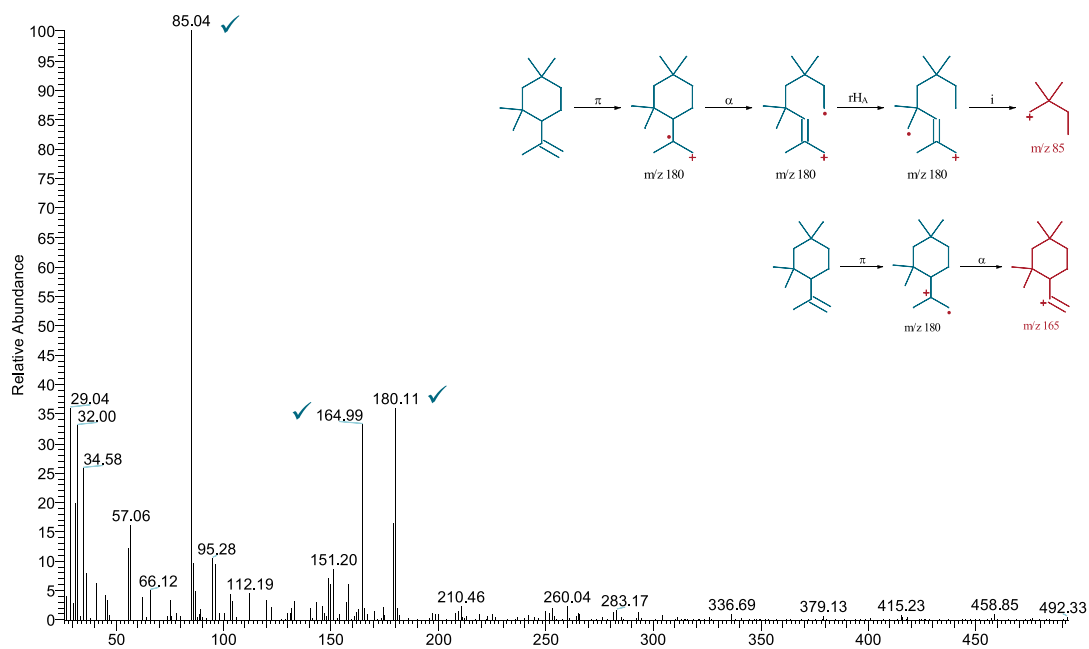


图 8. DCM 萃取物，在 RT 12.68min 处出现未知峰

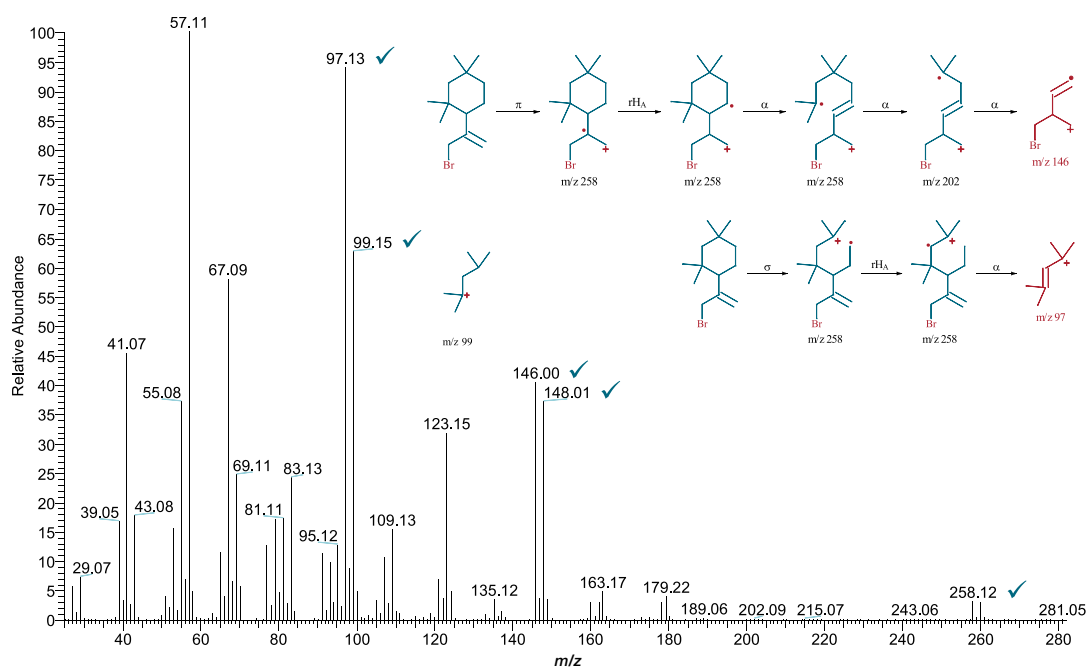


图 9. IPA 提取物，在 RT 18.31min 处出现未知峰

结论

同时用全扫描 MS 和 FID 并行检测方法对化合物进行鉴定, 显示了非常良好的一致性。典型的主要化合物经过质谱仪鉴定后, 也可使用 FID 对其进行可靠的常规分析。

使用 AMDIS 软件进行解卷积可以将共流出化合物精确“提纯”质谱图。使用目标化合物的单个库结合质谱保留时间的可能性使其成为分析控制的有力工具。此外, Thermo Scientific™ TraceFinder™ 质谱软件允许实验室已有质谱库的转移。

Mass Frontier 软件对于未知质谱, 是一种独特的解析工具。为质谱提供了可能性结构和碎裂方式, 并能开展更进一步的样品和未知物解析。

Trace 1310 气相色谱仪联用 ISQ 单一四极杆 MS 同时并行 FID 检测器, 结合数据采集和处理软件的整套分析系统, 作为一种功能强大且易于使用的解决方案, 可用于进行未知物识别和常规鉴定。同时, 若需要还可进行产品安全控制和类似质量控制应用相关的化合物定量。

参考文献

1. FDA Guidance for Industry, Container Closure Systems for Packaging Human Drugs and Biologics, 1999.
2. CPMP/QWP/4359/03 and EMEA/CVMP/205/04, Guideline on plastic immediate materials, 2005.
3. The Extractables and Leachables Subcommittee of the Bio-Process Systems Alliance, Recommendations for Extractables and Leachables Testing, BioProcess International 5 (11) (2007) 36-49.
4. Sehna, N., et al. “Compatibility of parenterals and contact materials.” STP pharma pratiques 23.2 (2013) 59-96.
5. Norwood, D. L., et al. “Best practices for

extractables and leachables in orally inhaled and nasal drug products: an overview of the PQRI recommendations.” Pharm. Res. 25.4 (2008) 727-39.

6. Jenke, D., Compatibility of Pharmaceutical Products and Contacts Materials, Wiley, 2009.
7. <1663> Assessment of Extractables Associated with Pharmaceutical Packaging/Delivery Systems, USP Pharmacopeial Forum 39 (5) (September 2013).
8. <1664> Assessment of Drug Product Leachables Associated with Pharmaceutical Packaging Delivery Systems, USP Pharmacopeial Forum 39 (5) (September 2013).
9. Mallard, W.G., Reed, J., AMDIS - User Guide, U.S. Department of Commerce, Technology Administration, NIST, Standard Reference Data Program, Gaithersburg, MD, USA, 1997.
10. HighChem website home page: <http://www.highchem.com/>.

其它参考文献

- Moffat, F., Extractables and leachables in pharma – A serious issue, Solvias Whitepaper, 2011, Solvias AG, Kaiseraugst, Switzerland.
- Lewis, D.B., Current FDA Perspective on Leachable Impurities in Parenteral and Ophthalmic Drug Products, Presentation at the AAPS Workshop on Pharmaceutical Stability, Washington, DC, 2011.
- Jenke, et al., “Extractables characterization for five materials of construction representative of packaging systems used for parenteral and ophthalmic drug products” PDA. J. Pharm. Sci. Technol. 67, 5 (2013) 448-511.



赛默飞
官方微信



赛默飞色谱
和质谱中国

热线 800 810 5118
电话 400 650 5118
www.thermofisher.com

ThermoFisher
SCIENTIFIC