

用于眼科药品的药物包装和递送系统的可提取物研究

Hemant Kesarkar, Sanket Chiplunkar, Prashant Hase, Durvesh Sawant, Aseem Wagle, Rahul Dwivedi, Dheeraj Handique, Pratap Rasam, Jitendra Kelkar
Shimadzu Analytical (India) Pvt.Ltd.

特点描述

- ◆ ASSP™和同时 Scan/MRM 分析有助于准确性和痕量定量。
- ◆ UFsweeper™使得碰撞池中离子传输更快，从而抑制串扰，并且可以加快 MRM 分析的速度。
- ◆ 热解吸 (TD) 系统提供了直接采样功能，大大减少了提取时间，并防止挥发性有机化合物 (VOC) 的损失。

■ 引言

概述：在制药行业中，可提取物与可浸出物 (E&L) 研究变得越来越重要，因为在制剂的灌装过程中，FDA 强制要求进行该研究。E&L 研究的目的是识别和评价可能的毒理学风险。法规参考中的 E&L 研究旨在识别潜在痕量水平的化学物质。这些物质由于其毒性可能对患者有害，或者可能影响制剂的活性。因此，为了确保药物在整个有效期内的安全性和有效性，E&L 研究起着重要作用。可提取物对制剂有效性和安全性的影响如图 1 所示。

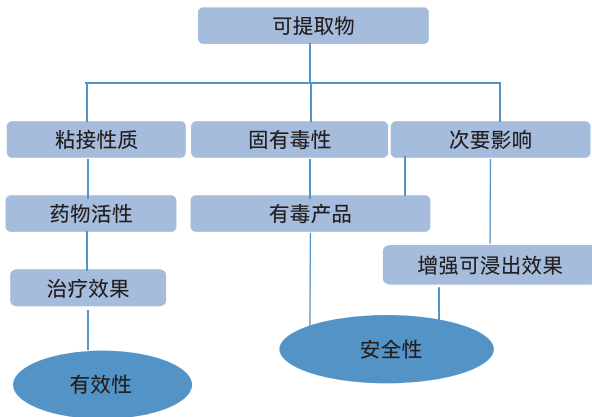


图 1: 可提取物的影响

什么是可提取物和可浸出物?

可提取物是指药品包装 / 递送系统、包装组件或包装构造材料在实验室条件下释放到提取溶剂中的有机和无机化学物质^[1]。

可浸出物是指存在于包装药品中，因在正常储存和使用条件下或在加速药品稳定性研究过程中，从包装 / 递送系统、包装组件或包装构造材料中浸出到包装制剂中的外来有机和无机化学物质^[1]。

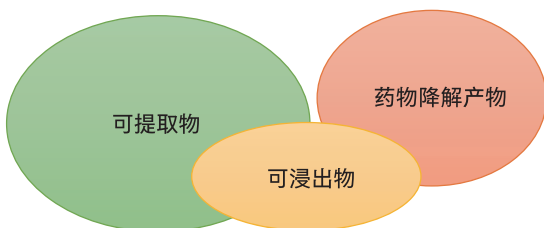


图 2: 可提取物、可浸出物和药物降解产物

图 2 描述了可提取物、可浸出物和药物降解产物的假设关系。

可提取物来源:

可提取物来自各种来源，并且表现出广泛的化学多样性。一些主要来源如下所列。

- 个别聚合包装材料中的化学添加剂
- 包装组件中存在的化学个体
- 源自不完全聚合的单体和高分子量低聚物
- 二级和三级包装材料，如油墨、标签粘合剂等的迁移。
- 金属罐和容器上的表面残留物
- 组件加工机械表面的化学物质，如防静电剂和防滑剂。

安全性阈值:

产品质量研究所 (PQRI) 规定了控制阈值，如安全关注阈值 (SCT) 和分析评价阈值 (AET)，以指导初始评估的方向。

SCT 是一个阈值，低于该阈值时，可浸出物的剂量很低，其致癌和非致癌毒性效应的安全问题可以忽略不计。PQRI 规定肠胃外和眼用药品 (PODP) 的 SCT 是 1.5 µg/天。AET 是另一个阈值，当达到或超过该阈值时，应鉴定可浸出物的特征并进行报告，以进行毒理学评估。

AET 可以根据包括制剂给药参数在内的因素，以数学方式从 SCT 中推导出来。

在设计可提取物或可浸出物研究之前，必须计算 AET。在计算 AET 时需要考虑了药品的信息，如最大日剂量 (MDD)、包装规格、每个容器密封包装 (CCP) 的剂量数、给药途径和各自的 SCT 等因素。以实验室可获得的莫西沙星邻苯二甲酸溶液为例计算 AET。表 1 中列出了本次计算中需要的一些参数。

表 1: 用于计算 AET 的产品信息

参数	值
产品	莫西沙星滴眼液
给药途径	眼睛
包装规格 (mL)	5
MDD (mL/天)	0.5
CCP 的构造材料	塑料
眼用药品的 SCT	1.5 µg/天

CCP 的典型图像：



图 3: CCP 的典型图像

AET 计算：

$$\begin{aligned} \text{AET} &= \frac{\text{SCT} (\mu\text{g}/\text{天})}{\text{MDD} (\text{mL}/\text{天})} \times \text{每个 CCP 的剂量数} \\ &= \frac{1.5 (\mu\text{g}/\text{天})}{0.5 (\text{mL}/\text{天})} \times 10 \text{ 每个 CCP 剂量} \\ &= 30 (\mu\text{g}/\text{CCP}) \end{aligned}$$

用于液体制剂：

$$\begin{aligned} \text{AET} (\mu\text{g}/\text{mL}) \times \text{不确定系数} &= \frac{\text{AET} (\mu\text{g}/\text{CCP})}{\text{包装规格} (\text{mL})} \times 0.5 \\ &= 3 (\mu\text{g}/\text{mL}) = \mathbf{3 \text{ ppm}} \end{aligned}$$

根据上述计算，如果使用研究中的 CCP 来储存上述剂型的莫西沙星，则不应浸出任何高于 3 ppm 的化学物质。如果观察到任何化学个体高于该阈值，则需要对该个体进行毒理学评估。

注：不确定系数通常用于克服由于提取误差而产生的相关风险，并评估低于其可接受水平的有毒个体。

■ 实验设计：

设计可提取物研究的方法有多种，如通过浸渍（溶剂浸泡）、回流 / 索氏提取 / 密封容器 / 超声或溶剂提取（手动和自动）等产生提取物。^[1]但是，也可以通过使用 TD 系统等技术直接加热 CCP 来进行这项研究。

在设计提取实验时，应考虑样品的物理和化学性质。药物的极性、pH 值和化学成分在提取过程中起着重要作用。考虑到制剂储存的最坏情况，可提取性研究在加速温度条件下进行。

这里，我们在不同的 pH 值下，通过用不同极性的溶剂回流 CCP，进行了可提取物研究。此外，还利用 TD 系统来进行可提取物的评估研究。用于储存眼用药品的空 CCP 从当地购买。

使用这些 CCP，进行了多次实验，并对获得的数据进行了评价，以确定潜在的可提取物。以下对实验 A、B、C、D、E 等进行了详细解释说明。实验 A 通过在不同 pH 值的水溶液中孵育 CCP 来进行，实验 B、C、D 和 E 通过用不同极性的有机溶剂回流 CCP 来进行。

实验 A：本实验通过装有不同 pH 值，如酸性（2.5 pH-Expt-A1）、中性（7.0 pH-Expt-A2）和碱性（10.5 pH-Expt-A3）的水溶液（体积容量为 5mL×2 CCP）的 CCP 进行。

通过用 10% 磷酸将水的 pH 值调节至约 2.5 来制备酸性水性介质 Expt-A1。混匀并超声处理 10 分钟。

通过用 0.5% 稀释氢氧化钠溶液将水的 pH 值调节至约 7.0 来制备中性水性介质 Expt-A2。混匀并超声处理 10 分钟。

通过用 5% 氢氧化钠溶液将水的 pH 值调节至约 10.5 来制备碱性水性介质 Expt-A3。混匀并超声处理 10 分钟。

将这些溶液装入 CCP（每个 pH 值溶液两个 CCP）中，并在孵育室中以倒置位置（这样尖端和喷嘴将与内部的介质发生相互作用）在 65°C 下孵育 72 小时，并在孵育期间每天监测两次是否有任何泄漏。间歇振荡，确保最佳提取。

孵育后，将所有 CCP 在室温下冷却，并将提取物分别收集在容量瓶中。

（Expt-A1）将 10 mL 酸性 pH 提取物转移到分液漏斗中。加入 10 mL 乙酸乙酯。摇匀并使其分离。用硫酸钠干燥后，将乙酸乙酯层用于分析。

类似地，制备用于中性（Expt-A2）和碱性 pH 介质（Expt-A3）的样品溶液并用于分析。

实验 B：将 CCP 切成小块，用 10 mL 乙醇在 75°C 下回流 2 小时。然后将该回流溶液在室温下冷却，将所有溶液从回流烧瓶转移到试管中，并使用氮气蒸发器蒸发至干燥。将留在管中的内容物用 5 mL 乙酸乙酯复溶，超声处理，用 0.2 μm 注射器过滤器过滤并用于分析。

实验 C、D、E：这些实验以与实验 B 相同的方式进行，但使用不同的回流溶剂和温度。例如：

实验 C 使用 65°C 的正己烷

实验 D 使用 80°C 的异丙醇

实验 F 使用 38°C 的二氯甲烷

实验 F：在本实验中，将小块 CCP 插入 TD 样品管中（大约 0.5 g）并使用热解吸系统进行分析。

整个实验设计流程图见第 3 页图 4。

所有上述实验都被设计成在不降解构造材料的情况下，在极端条件下（如不同的溶剂极性和 pH 值）最大限度地地提取 CCP 中存在的可提取物，从而确保最大的提取效率。

实验 A- 酸性、中性和碱性可提取物

实验 B- 极性有机可提取物

实验 C- 非极性有机可提取物

实验 D 和 E- 中间极性有机可提取物

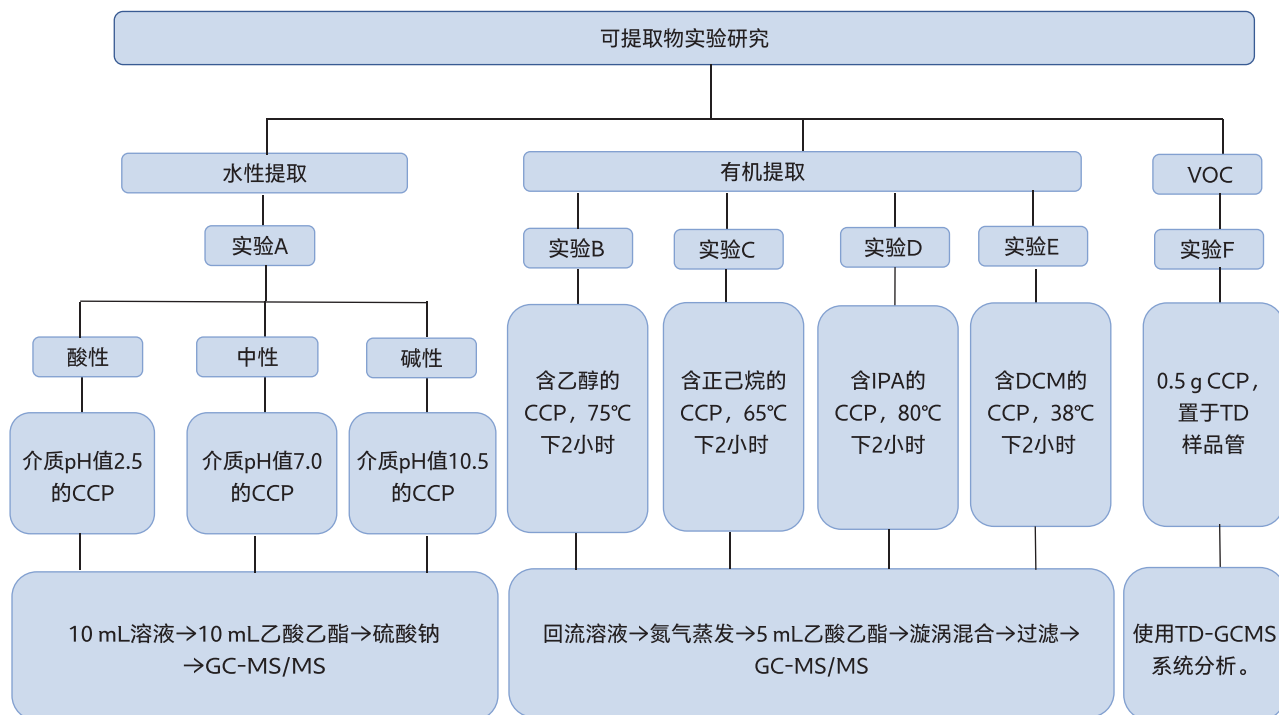


图 4: 设计用于样品制备的实验的详细布局图

本研究中使用了两种技术，即 GC-MS/MS 和 TD，以获得更好的定量限，涵盖 17 种常见的可提取物、16 种多环芳烃 (PAH) 和挥发物 / 半挥发物。

对 GC-MS/MS 开发了三种方法。

方法 I → 17 种常见的可萃取物。

方法 II → 16 种多环芳烃 (PAH)。对于未知物质的鉴定和半定量采用方法 I。

方法 III → TD 技术提取挥发物 / 半挥发物

■ 分析方法:

■ 方法 I:

本方法中，采用 AOC-20i 自动采样器，通过 GCMS-TQ8040 NX 分析了 17 种标准品。对于方法适用性，执行了一些重要参数，如系统适用性、线性和 LOQ 精密度。

仪器参数如下所示。

使用的仪器 : 带 AOC-20i 的 GCMS-TQ8040 NX

色谱柱 : SH-I-5Sil MS 0.25 mm I.D. × 30 m d.f=0.25 μm (P/N: 221-75954-30)

进样模式 : 分流

分流比 : 10

进样温度 : 250°C

流量控制模式 : 线速度

线速度 : 36.5 cm/sec

载气 : 氦气

吹扫流量 : 3 mL/min

总流量 : 20 mL/min

温度程序 : 40°C (1 min) _10°C/min_160°C (7 min) _25°C/min_280°C (5.20 min)

离子化模式 : EI

离子源温度 : 250°C

接口温度 : 280°C

进样量 : 2 μL

采集模式 : SCAN/MRM

扫描范围 : 40 m/z 至 500 m/z

检测器电压 : 通过在自动调谐中调整 m/z 314 = 50000 的强度进行优化

参数				
化合物名称	目标 MRM	CE-1	参考 MRM	CE-2
异丁基苯	134.00>91.10	22	92.00>65.10	26
十甲基环戊硅氧烷	267.00>250.90	22	355.00>73.10	26
2-氟-1,1'-联苯	172.00>170.00	26	172.00>146.20	22
邻苯二甲酸二甲酯	163.00>77.10	26	163.00>92.10	28
十四甲基环庚硅氧烷	147.00>73.10	18	281.00>73.10	32
3-叔丁基-4-羟基茴香醚 (BHA)	165.00>137.10	8	180.00>165.10	10
二叔丁基对甲酚 (BHT)	205.00>57.10	16	220.00>205.00	12
2-6-二叔丁基-4-乙基苯酚 (BHEB)	234.00>219.20	14	234.00>57.10	26
邻苯二甲酸二乙酯	149.00>65.10	22	149.00>93.10	14
3,5-二叔丁基-4-羟基苯甲醛	219.00>191.10	10	219.00>57.10	22
邻苯二甲酸二异丁酯	149.00>65.10	24	149.00>93.00	18
邻苯二甲酸二戊酯	149.00>65.10	26	149.00>93.10	18
邻苯二甲酸丁苯酯	149.00>65.10	26	149.00>93.10	16
邻苯二甲酸二环己酯	149.00>65.10	26	167.00>149.00	8
邻苯二甲酸二苯酯	225.00>77.10	26	77.00>51.10	16
邻苯二甲酸二壬酯	149.00>65.10	24	149.00>93.00	22
邻苯二甲酸二正辛酯	149.00>65.10	26	149.00>93.10	20

标准溶液制备:

购买以上所列标准化学品，并用乙酸乙酯适当稀释，达到表 2 中提到的所需浓度。

同时所有上述列出的化合物在扫描模式下建立从 1 ppm 到 15 ppm 的线性方程，并用于对未知可提取物进行半定量。

续

表 2: 方法 1 的标准采集结果

序号	化合物名称	RT (min)	线性范围 (ppb)	LOQ (ppb)	相关系数 (r^2)	LOQ 精密度 % RSD)	LOQ 下的信噪比
1	异丁基苯	7.3	5-150	5	0.996	5.1	25
2	十甲基环戊硅氧烷	9.2	5-150	5	0.998	0.8	79
3	2- 氟 -1,1'- 联苯	12.8	25-200	25	0.996	3.3	16
4	邻苯二甲酸二甲酯	13.9	50-250	50	0.995	10.6	33
5	十四甲基环庚硅氧烷	14.0	5-150	5	0.999	11.5	23
6	3- 叔丁基 -4- 羟基茴香醚 (BHA)	14.5	25-200	25	0.999	2.1	30
7	二叔丁基对甲酚 (BHT)	14.7	5-200	5	0.995	8.6	21
8	2-6- 二叔丁基 -4- 乙基苯酚 (BHEB)	15.7	5-200	5	0.994	6.0	52
9	邻苯二甲酸二乙酯	16.5	25-250	25	0.991	6.6	114
10	3,5- 二叔丁基 -4- 羟基苯甲醛	21.3	10-200	10	0.997	1.8	51
11	邻苯二甲酸二异丁酯	22.6	10-250	10	0.997	6.6	178
12	邻苯二甲酸二戊酯	24.6	5-200	5	0.994	1.4	43
13	邻苯二甲酸丁基基酯	25.6	25-250	25	1.000	5.1	54
14	邻苯二甲酸二环己酯	26.5	5-250	5	0.986	0.8	60
15	酞酸二苯酯	26.7	10-200	10	0.992	6.3	28
16	邻苯二甲酸二壬酯	27.2	5-250	5	0.991	12.7	11
17	邻苯二甲酸二正辛酯	27.8	10-250	10	0.987	3.9	37

一些化合物, 如 2- 氟 -1,1'- 联苯、邻苯二甲酸二甲酯、邻苯二甲酸二乙酯和邻苯二甲酸二苯酯, 由于色谱柱的化学性质, 在洗脱过程中会出现拖尾。尽管具有宽峰, 但它们仍被纳入到报告中, 因为该方法并非针对它们, 而是考虑将它们用于筛选目的。

校准曲线 (a)、线性标准品的重叠色谱图 (b) 和 LOQ 水平的色谱图 (c) 等代表性数据如图 5-11 所示。

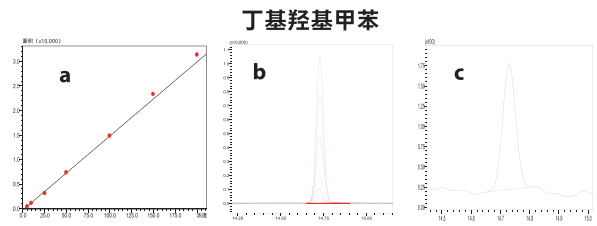


图 8: 二叔丁基对甲酚数据

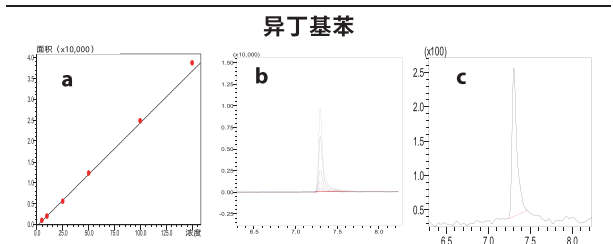


图 5: 异丁基苯数据

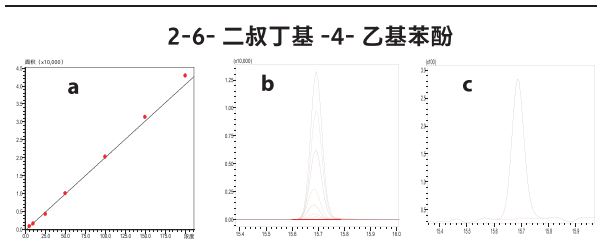


图 9: 2-6-二叔丁基-4-乙基苯酚数据

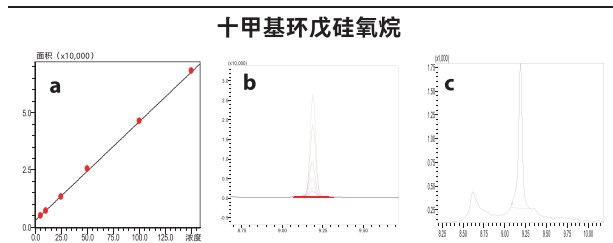


图 6: 十甲基环戊硅氧烷数据

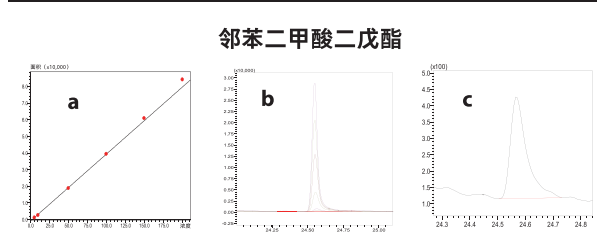


图 10: 邻苯二甲酸二戊酯数据

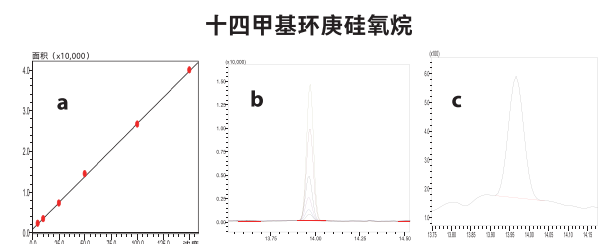


图 7: 十四甲基环庚硅氧烷数据

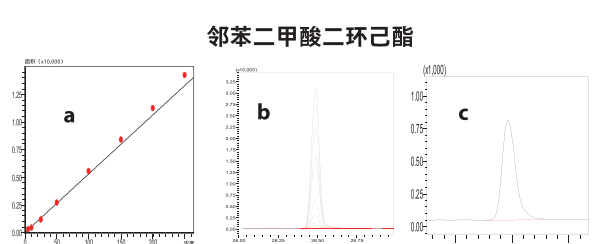


图 11: 邻苯二甲酸二环己酯数据

■ 方法 II:

本方法中, 采用 AOC-20i 自动采样器, 通过 GCMS-TQ8040 NX 分析了 16 种 PAH 标准品。对于方法适用性, 执行了一些重要参数, 如系统适用性、线性 and LOQ 精密度。

仪器参数如下所示。

使用的仪器 : 带 AOC-20i 的 GCMS-TQ8040 NX
色谱柱 : SH-I-PAH 0.25 mm I.D.X 30m
 d.f=0.1 μm (P/N: 227-36074-01)
进样模式 : 分流
分流比 : 10
进样温度 : 320°C
流量控制模式 : 线速度
线速度 : 50 cm/sec
载气 : 氦气
吹扫流量 : 3 mL/min
总流量 : 24 mL/min
温度程序 : 50°C (2 min) _12°C/min 至 270°C (2 min)
 _30°C/min_300°C (6.67 min)
离子化模式 : EI
离子源温度 : 250°C
接口温度 : 300°C
采集模式 : MRM
检测器电压 : 通过在自动调谐中调整 m/z 314 = 50000 的强度进行优化
进样量 : 2 μL

MRM 通道				
化合物名称	目标 MRM	CE-1	参考 MRM	CE-2
萘	128.10>128.10	5	128.10>102.10	25
萘烯	152.10>152.10	5	152.10>126.10	25
萘	153.10>153.10	5	153.10>151.10	25
芴	166.10>166.10	7	166.10>164.10	37
菲	178.10>178.10	5	178.10>152.10	25
蒽	178.10>178.10	5	178.10>152.10	23
荧蒽	202.10>202.10	5	202.10>200.10	29
芘	202.10>202.10	5	202.10>200.10	33
苯并 [a] 蒽	228.10>228.10	7	228.10>226.10	27
蒎	228.10>228.10	7	228.10>226.10	31
苯并 [b] 荧蒽	252.10>252.10	7	252.10>250.00	31
苯并 [k] 荧蒽	252.10>252.10	11	252.10>250.10	31
苯并 [a] 芘	252.10>252.10	7	252.10>250.00	33
茚并 [1,2,3cd] 芘	276.10>276.00	19	276.10>274.00	35
二苯并 [a,h] 蒽	278.10>278.10	13	278.10>275.90	35
苯并 [ghi] 花	276.10>276.10	7	276.10>274.00	37

PAH 因具有稳定的分子特性, 对于裂解非常重要。使用伪 MRM 通道作为定量通道, 可消除噪声并提高灵敏度。此外, 通过定性 MRM 在相同的保留时间确认了这些定量 MRM。茚并 [1,2,3cd]、芘和二苯并 [a,h] 蒽同时洗脱。

因此, 选择 MRM 通道中的特定母离子来定量这些 PAH。

标准溶液制备:

用乙酸乙酯适当稀释含有 16 种 PAH 的多环芳烃标准混合物, 以达到线性水平的浓度。在该浓度下, 从 1 ppb 到 15 ppb 进行线性分析。为确定 LOQ 精密度, 将 1 ppb 标准品分六次重复进样, 并计算面积的 %RSD。

在用标准溶液采集数据时观察到的结果记录在下表 3 中。

表 3: 方法 II 的标准采集结果

序号	化合物名称	RT (min)	相关系数 (r ²)	LOQ 精密度 % RSD	LOQ 下的信噪比
1	萘	7.9	0.998	4.4	66
2	萘烯	11.3	0.999	7.1	23
3	萘	11.6	0.999	13.0	17
4	芴	12.7	0.998	7.4	10
5	菲	14.9	0.997	12.4	13
6	蒽	15.0	0.999	7.0	12
7	荧蒽	17.4	0.998	3.5	50
8	芘	18.0	0.998	2.8	42
9	苯并 [a] 蒽	20.6	0.999	3.7	12
10	蒎	20.7	0.999	7.9	17
11	苯并 [b] 荧蒽	23.3	0.999	4.9	11
12	苯并 [k] 荧蒽	23.4	0.999	7.3	10
13	苯并 [a] 芘	24.2	0.999	4.7	11
14	茚并 [1,2,3cd] 芘	27.1	0.997	4.1	13
15	二苯并 [a,h] 蒽	27.1	0.997	7.5	16
16	苯并 [ghi] 花	28.2	0.998	6.6	13

图 12 至 15 描绘了代表性化合物的校准曲线 (a)、线性标准叠加图 (b)、LOQ 水平色谱图 (c)。

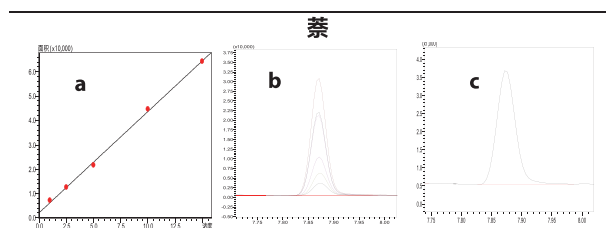


图 12: 萘数据

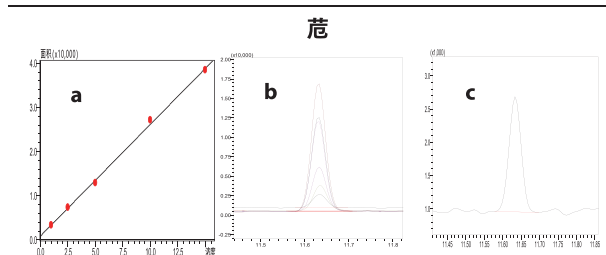


图 13: 萘数据

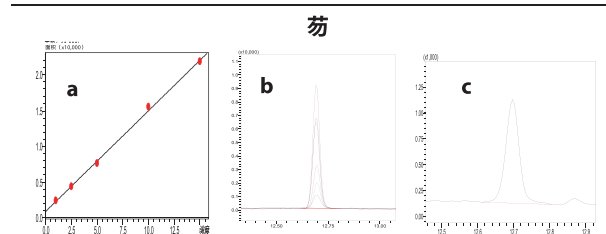


图 14: 芴数据

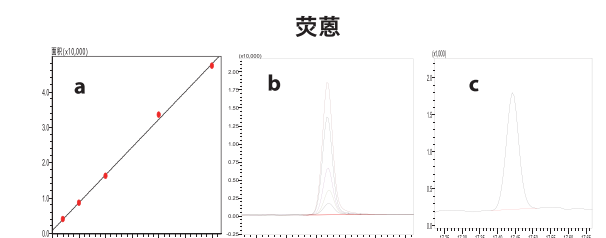


图 15: 蒽数据

■ 方法 III:

热脱附系统使得用户可以将样品直接装入样品管，从而减少提取时间。VOC 可以很容易地在 TD 上进行分析，因为它们可能会在溶剂提取法中损失掉。

此外，岛津的 TD-30R 提供了最低的捕集阱冷却范围，即室温 -50°C 至 80°C，使得易挥发的化合物不能从捕获阱中排出，有利于对自然界中易挥发的化合物进行痕量定量。同时，TD-30R 中的恢复功能可通过恢复同一试管中的标准品或样品来存储珍贵的标准品或样品。该功能有利于用户在可提取物研究中重复分析难以获得或价格昂贵的目标化合物。岛津 TD-30R 的典型图像如下图 16 所示。

在这种方法中，瓶子被切割成狭长的小块（大约 5 cm×0.1 cm）并插入 TD- 样品管中，并通过配置有 GCMS 仪器的 TD 系统进一步分析。为进行定量，选择了五种目标标准品，即苯、甲苯、乙苯和邻二甲苯和对二甲苯。

对于方法适用性，执行了一些重要参数，如系统适用性、线性和 LOQ 精密度的。

仪器参数如下所示。

- 使用的仪器** : 带 TD-30R 的 GCMS-QP2020 NX
色谱柱 : SH-I-5Sil MS 0.25 mm I.D.× 30 m d.f=0.25 μm (P/N: 221-75954-30)
进样模式 : 分流
分流比 : 10
流量控制模式 : 线速度
线速度 : 44 cm/sec
载气 : 氦气
总流量 : 19.5 mL/min
温度程序 : 30°C (2 min) _7°C /min_100°C (5 min) _20°C /min_280°C (4 min)
电离模式 : EI
离子源温度 : 200°C
接口温度 : 220°C
检测器电压 : 通过在自动调谐中调整 m/z 314 = 160000 的程度进行优化
采集模式 : Scan
扫描范围 : 35 m/z 至 500 m/z
TD 参数
试管解吸 : 300°C下以 50 mL/min 的速度，持续 10 min
捕获冷却 : -20°C
捕获解析 : 280°C下持续 5 min
接头温度 : 250°C
阀门温度 : 250°C
传输线温度 : 250°C

提取离子详情			
化合物名称	定量	定性 -1	定性 -2
苯	78	77	52
甲苯	91	92	65
乙苯	91	106	55
邻二甲苯	91	106	105
对二甲苯	91	106	105

数据以扫描模式获得，并用总离子流色谱图 (TIC) 处理。使用观察到的 TIC 面积，评价校准曲线。根据校准曲线的信息进行半定量。

对于方法适用性，执行了一些重要参数，如系统适用性、线性和 LOQ 精密度的。



图 16: 带热解析系统的岛津 GC-MS/MS 仪器

标准溶液制备:

用甲醇适当稀释苯、乙苯、甲苯、邻二甲苯和对二甲苯的标准品，以达到表 4 中所述的线性储备溶液浓度。线性分析范围为 0.2 ng 至 20 ng。这是 TD 样品管中的浓度。以样品 0.5g 计，该浓度为 0.4 ppb 至 40 ppb。为确定 LOQ 精密度，将 0.2 ng 标准品分六次重复进样，并评价面积的 %RSD。

在用标准溶液采集数据时观察到的结果记录在下表 4 中。

表 4: 方法 3 的标准采集结果

序号	化合物名称	RT (min)	相关系数 (r ²)	LOQ 精密度 % RSD	LOQ 下的信噪比
1	苯	2.6	0.999	5.9	40
2	乙苯	4.4	0.999	13.3	32
3	甲苯	6.5	0.999	13.1	25
4	邻二甲苯	7.0	0.999	8.5	19
5	对二甲苯	7.3	0.999	7.7	30

图 17 至 21 描绘了代表性化合物的校准曲线 (a)、线性标准叠加图 (b)、LOQ 水平色谱图 (c)。

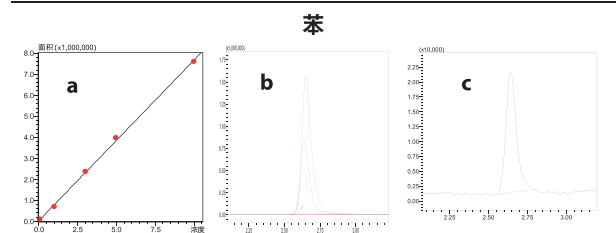


图 17: 苯数据

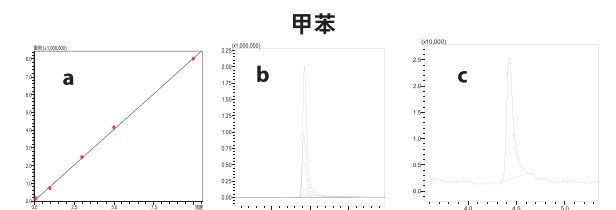


图 18: 甲苯数据

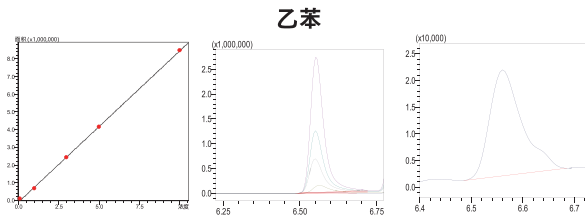


图 19: 乙苯数据

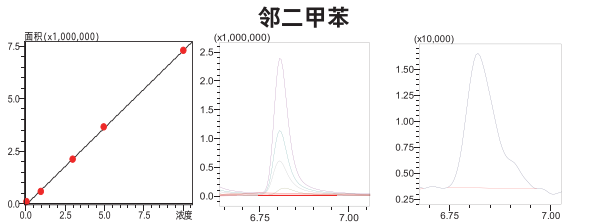


图 20: 邻二甲苯数据

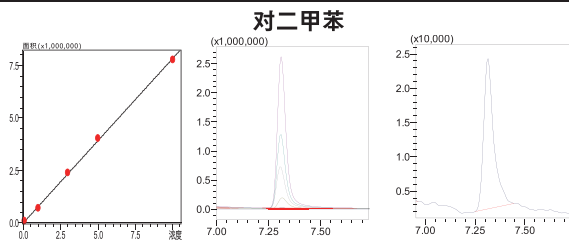


图 21: 对二甲苯数据

■ 结果和讨论:

所有提取实验的样品都通过 GC-MS/MS 和 TD 仪器进行分析, 如方法 I、方法 II 和方法 III 中所述。通过方法 I 和方法 II 对目标提取物使用 MRM 方法定量。每个实验样品中的目标提取物使用方法 I 和方法 II 进行监测。表 5 和表 6 分别列出了每种方法各自实验中观察到的最高含量。例如, 在方法 I 中观察到的异丁基苯在实验 D、E 和 G 中分别为 10 ppb、34.47 ppb 和 4.5 ppb。因此, 实验 E 报告了 34.47 ppb。方法 III 下的其他目标可提取物数据如表 7 所示。未知可提取物通过方法 I 中的扫描采集进行半定量。

表 5: 方法 I 目标化合物的结果

目标可提取物名称	LOQ (ppb)	含量 (ppb)	实验中观察
异丁基苯	5	34.47	E
十甲基环戊硅氧烷	5	BLQ	A2
2-氟-1,1'-联苯	25	BLQ	E
邻苯二甲酸二甲酯	50	BLQ	E
十四甲基环庚硅氧烷	5	BLQ	C
3-叔丁基-4-羟基茴香醚 (BHA)	25	BLQ	B
二叔丁基对甲酚 (BHT)	5	28.13	B
2-6-二叔丁基-4-乙基苯酚 (BHEB)	5	ND	NA
邻苯二甲酸二乙酯	25	236.43	E
3,5-二叔丁基-4-羟基苯甲醛	10	208.89	C
邻苯二甲酸二异丁酯	10	1938.92	E
邻苯二甲酸二戊酯	5	8.92	D
邻苯二甲酸丁基基酯	25	BLQ	B
邻苯二甲酸二环己酯	5	349.77	B

目标可提取物名称	LOQ (ppb)	含量 (ppb)	实验中观察
酞酸二苯酯	10	BLQ	D
邻苯二甲酸二壬酯	5	14.42	A2
邻苯二甲酸二正辛酯	10	BLQ	B

其中 BLQ 为低于定量限

表 6: 方法 II 目标可提取物的结果

目标可提取物名称 (PAH 的 LOQ 为 1 ppb)	含量 (ppb)	实验中观察
萘	61.9	B
蒽烯	1.5	B
蒽	10.5	E
芴	12.9	C
菲	36.6	E
蒽	9.0	B
荧蒽	12.2	E
芘	7.6	E
苯并 [a] 蒽	BLQ	B
蒽	BLQ	D
苯并 [b] 荧蒽	ND	NA
苯并 [k] 荧蒽	ND	NA
苯并 [a] 芘	ND	NA
茚并 [1,2,3-cd] 芘	ND	NA
二苯并 (a,h) 蒽	ND	NA
苯并 [ghi] 芘	ND	NA

其中: BLQ= 低于定量限; ND= 未检出; NA= 不可用。

表 7: TD 分析中目标可提取物的结果

目标可提取物名称	LOQ (ppb)	含量 (ppb)
苯	0.4	1.5
甲苯		178
乙苯		23
邻二甲苯		32
对二甲苯		22

表 5 和表 6 中报告的结果根据目标化合物的校准曲线进行定量。如实验设计部分所述, 所有样品都按照方法 I 和方法 II 在 GC-MS/MS 中进样。TD (方法 III) 结果总结在表 7 中。

对于所有目标可提取物, 仅报告了最高的可提取物。

在本研究下, 仅使用方法 I 和 III 筛选未知可提取物, 因为方法 II 专门用于 PAH 分析。结果分别见表 8 和表 9。

表 8: 方法 I 未知化合物的结果

序号	未知可提取物名称	RT (min)	SI	含量 (ppm)
1	四氯乙烯	4.1	100	34.0
2	2,4- 二甲基 - 庚烷	4.3	99	1.2
3	乙苯	4.9	97	1.4
4	3- 甲基 -1- 苯基 -2- 丁酮	5.0	97	1.2
5	3- 甲基 -1- 丁醇乙酸酯	5.1	99	1.1
6	1,3,5,7- 环辛四烯	5.4	99	3.7
7	右旋柠檬烯	7.6	99	4.4
8	5- 乙基 -2- 甲基辛烷	8.0	100	1.9
9	3- 十四烯 (Z)-#	10.1	100	4.7
10	1- 十四烯 #	13.0	100	14.1
11	十四烷	13.1	100	14.1
12	2,4,7,9- 四甲基 -5- 癸炔 -4,7- 二醇	13.2	98	2.1
13	十八烷	13.8	87	1.0
14	十七烷	14.0	91	1.1
15	十七烷	14.4	98	1.5
16	十五烷	14.6	100	3.7
17	3, 5- (双 1,1- 二甲基乙基) 苯酚	14.8	100	40.2
18	十七烷	15.2	98	1.2
19	十七烷	15.9	97	1.1
20	十六烷, 2,6,10,14- 四甲基 -	16.0	100	5.3
21	邻苯二甲酸二乙酯	16.4	89	1.3
22	1- 十七碳烯 #	16.5	100	21.7
23	十六烷	16.7	100	53.4
24	十一烷基环戊烷	18.4	99	2.9
25	1- 氯代十八烷	18.6	88	1.1
26	十七烷	19.9	98	4.1
27	2,6,10- 三甲基十三烷	20.1	96	1.0
28	2,2- 二甲基 - 十四烷	20.4	98	1.9
29	二十烷	21.0	99	2.6
30	3- 乙基 -3- 甲基十七烷	21.2	96	1.7
31	二十八烷	21.4	97	1.6
32	3- 甲基十七烷	21.5	100	16.4
33	2- 乙基己基丙烯酸酯	21.7	89	1.9
34	1- 十七碳烯 #	21.8	100	18
35	二十一烷	21.9	100	56.1
36	二十烷	22.4	94	1.1
37	邻苯二甲酸双 (7- 甲基 -10 辛基) 酯	22.6	95	2.4
38	十一烷基环戊烷	22.6	99	5.6
39	3- 亚甲基十一烷	22.8	94	1.6
40	辛基十四烷基醚	22.9	82	1.4
41	7,9- 二叔丁基 -1- 氧杂螺 (4,5) 癸 -6,9- 二烯 -2,8- 二酮	23.0	97	10.3
42	2,2- 二甲基十八烷	23.1	99	4.5
43	三十烷酸甲酯	23.2	77	2.6
44	2- 甲基二十八烷	23.3	97	2.2
45	邻苯二甲酸二丁酯	23.4	98	8.8
46	3- 甲基十七烷	23.5	93	26.9
47	3- 亚甲基十一烷	23.6	70	2.1
48	五氟丙酸十七酯 #	23.7	63	19.6
49	二十一烷	23.7	97	57.0
50	九碳 -1- 烯	23.8	90	1.0
51	二十一烷	23.9	94	2.1
52	1- 环戊烯二十烷	24.1	99	12.3
53	正十九醇 -1 #	24.2	100	24.1
54	二十一烷	24.3	98	7.0
55	2,2- 二甲基 - 十四烷	24.4	99	8.7
56	辛基十四烷基醚	24.5	92	4.9
57	1- 碘代二十六烷	24.7	94	37.1

序号	未知可提取物名称	RT (min)	SI	含量 (ppm)
58	二十一烷	24.8	88	72.5
59	1- 碘代二十六烷	24.9	98	5.6
60	十四乙基十五烷	25.1	96	4.5
61	1- 环戊烯二十烷	25.2	96	9.1
62	3- 碘丙酸十八烷基酯	25.2	99	17.1
63	2,2- 二甲基 - 十四烷	25.3	99	9.4
64	十八甲基环九硅氧烷	25.4	98	5.0
65	七氟丁酸二十四烷基酯	25.4	79	3.3
66	1- 碘代二十三烷	25.6	94	43.7
67	四十四烷	25.7	96	88.4
68	1,54- 二溴 - 四十五烷	25.8	96	7.8
69	十八甲基环九硅氧烷	26.0	95	7.7
70	3,3- 二乙基十五烷	26.1	97	3.3
71	1- 十六醇	26.2	99	12.1
72	2- 甲基二十六烷	26.2	95	13.8
73	2,2- 二甲基 - 十四烷	26.3	98	9.9
74	四十烷	26.4	94	2.9
75	1,54- 二溴 - 四十五烷	26.5	93	5.9
76	1- 碘代三十烷	26.6	93	50.2
77	十八甲基环九硅氧烷	26.7	93	7.7
78	四十四烷	26.8	95	91.0
79	1- 碘代二十六烷	26.9	99	6.0
80	五十四烷	26.9	98	5.0
81	2- 环己基十九烷	27.0	97	6.0
82	1- 碘代三十烷	27.1	88	3.1
83	二十六烷基壬基醚	27.2	96	2.1
84	二十五烷	27.3	97	2.3
85	七氟丁酸二十二烷基酯	27.5	80	21.3
86	3- 甲基十二烷	27.6	84	16.4
87	四十烷	27.7	98	4.0
88	2- 甲基二十六烷	27.9	98	6.4
89	1- 碘代三十烷	28.0	95	2.0
90	1- 碘代三十烷	28.1	100	47.8
91	13- 二十二碳酰胺	28.2	91	240.8
92	四十烷	28.3	96	99.6
93	山萘酸酰胺	28.4	71	18.5
94	角鲨烯	28.5	95	20.4
95	2- 环己基十九烷	28.7	93	10.4
96	十八甲基环九硅氧烷	28.7	90	9.8
97	2- 甲基二十六烷	29.0	94	1.2
98	1- 碘代三十烷	29.1	95	2.2
99	1,54- 二溴 - 四十五烷	29.3	100	19.9
100	2,2- 二甲基二十烷	29.5	99	10.0
101	四十烷	29.6	96	3.6
102	2- 甲基二十六烷	29.9	98	6.0

可提取物来自实验 B 样品, 其余的来自实验 C 样品。

本为仅报告了在库中检测到的可提取物, 考虑到最坏情形, 将其相似性指数和未知杂质质谱中观察到的总离子响应用于半定量。将标准品的校准曲线用于未知可提取物的半定量。

尽管这种半定量不能提供可提取物的准确含量, 但它给出了其可能含量的概念, 可以与 AET 的 CCP 评价进行比较。如有, 可以获得用于定量的标准, 且可以进行进一步的毒理学评估过程。

续.....

在 TD 分析中检测到表 9 中报告的化合物。报告的内容与分析中使用的一种 CCP 有关。经报告了观察到在 20 ppb 以上的未知杂质。

表 9: TD 分析中未知可提取物的结果

序号	未知可提取物名称	RT (min)	SI	含量 (ppm)
1	硬脂酸桉酯	10.1	100	73
2	2- 甲基二十八烷	12.3	100	28
3	1,1- 双 (十二烷氧基) 十六烷	12.4	100	26
4	2- 甲基二十八烷	15.3	100	95
5	1,1- 双 (十二烷氧基) 十六烷	15.6	100	21
6	2- 甲基二十八烷	18.7	100	78
7	七氟丁酸正十四酯	20.1	100	30
8	2- 甲基二十八烷	20.3	100	515
9	十五氟辛酸十四酯	20.8	92	31
10	1,2,2- 二溴二十二烷	20.9	96	25
11	四十四烷	20.9	95	21
12	1- 碘代二十烷	21.1	92	22
13	2- 甲基二十八烷	21.2	100	175
14	1- 碘代二十二烷	21.6	98	24
15	5- 甲基二十九烷	21.7	98	29
16	2- 甲基二十八烷	21.8	100	146
17	2- 甲基二十八烷	21.8	99	29
18	邻苯二甲酸双 (10- 羟基癸基) 酯	22	81	84
19	1- 碘代二十烷	22.1	99	569
20	十五氟辛酸十二碳二烯一酯	22.1	100	26
21	N2- 苯甲酰基 -2- 溴 -3- 硝基 -N1- 苯基苯酰胺	22.3	100	173
22	七氟丁酸十六烷基酯	22.5	97	88
23	二十二烷基辛基醚	22.6	97	67
24	1- 碘代二十烷	22.7	100	190
25	丁基二十六烷基醚	22.8	96	41
26	三十四烷	23	99	47

序号	未知可提取物名称	RT (min)	SI	含量 (ppm)
27	1- 碘代三十二烷	23.1	96	29
28	1- 碘代二十四烷	23.2	99	236
29	亚硫酸十八烷基戊基酯	23.2	98	35
30	三十六烷	23.3	100	290
31	二十四烷酸异丙酯	23.4	97	34
32	三十六烷	23.6	97	40
33	十五氟辛酸十八烷基酯	23.7	86	132
34	2- 甲基二十八烷	23.9	96	58
35	N- (2- 羟基 -4- 辛酰胺基苯基) -3,5- 双 (1,1- 二甲基丙基) 苯氧乙酰胺	24	97	170
36	邻苯二甲酸丁基十三酯	24.2	99	75
37	1- 碘代二十六烷	24.3	99	185
38	三十四烷	24.4	99	220
39	七氟丁酸二十烷基酯	24.8	100	87
40	四十三烷	24.9	97	41
41	1- 碘代三十烷	25.2	100	126
42	三十四烷	25.4	99	175
43	七氟丁酸二十二烷基酯	25.7	99	30
44	三十六烷	26.1	100	83
45	三十四烷	26.2	99	132
46	1- 碘代三十二烷	27.1	100	43
47	三十六烷	27.2	100	87
48	1- 碘代二十六烷	28.4	100	21
49	三十四烷	28.6	100	45
50	角鲨烯	28.7	99	31

本文报告的代表性色谱图很少。色谱图中有一些突出显示的区域，在这些区域中检测到紧密洗脱的峰。图 22 至图 26 描述了实验 A 样品的叠加色谱图，即在不同 pH 介质下的水性培养，乙醇回流样品、己烷回流样品、异丙醇回流样品、DCM 回流样品的色谱图，以及分别有突出显示的关键区域的回流样品的叠加色谱图。

续

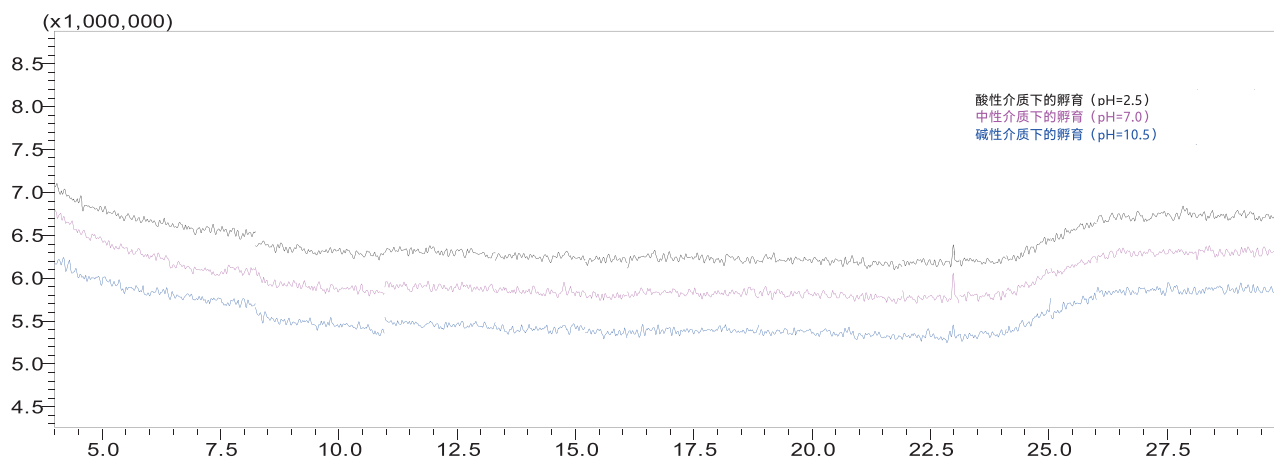


图 22: 不同 pH 介质下水浸提实验样品的重叠色谱图

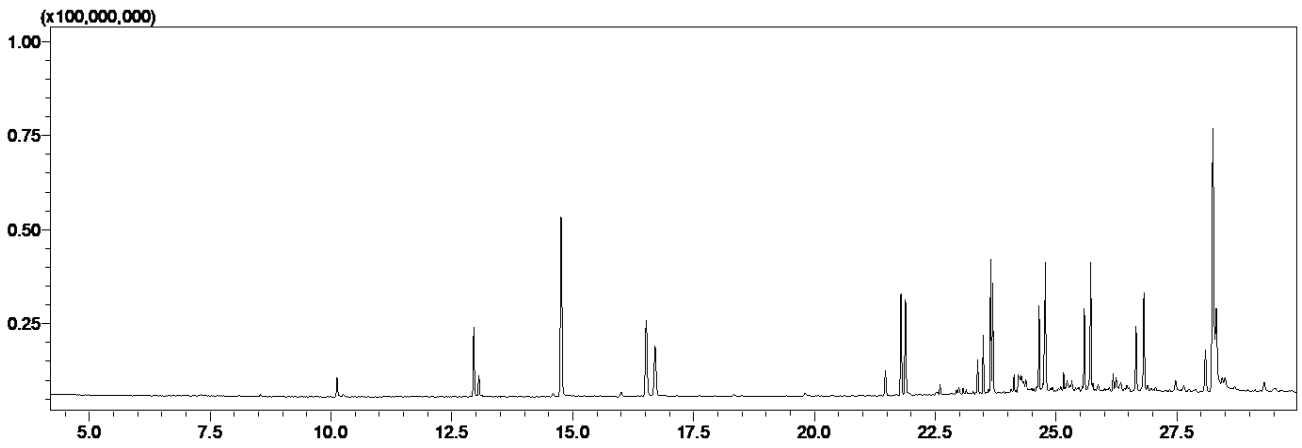


图 23: 75° C 下乙醇回流样品 2 小时的色谱图

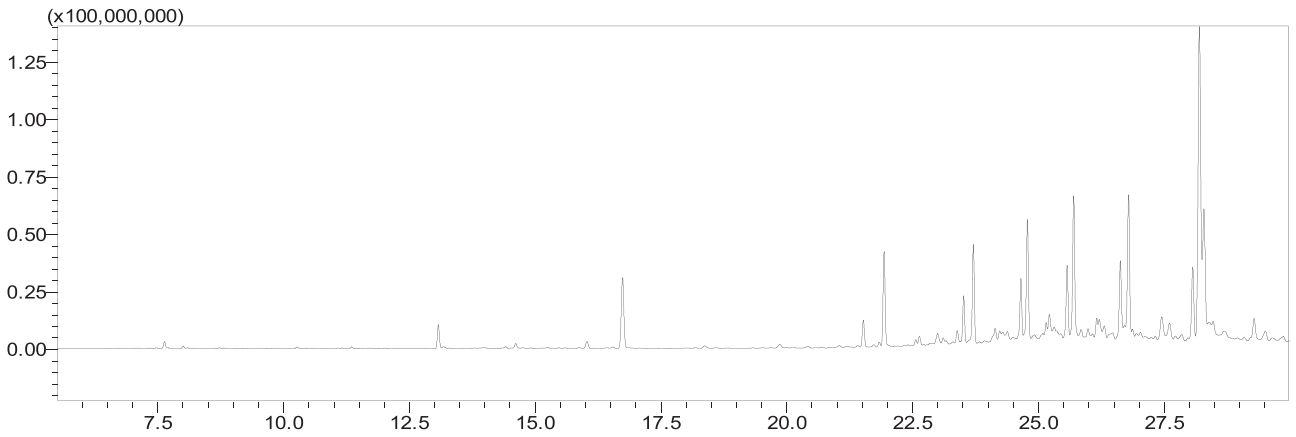


图 24: 65° C 下己烷回流样品 2 小时的色谱图

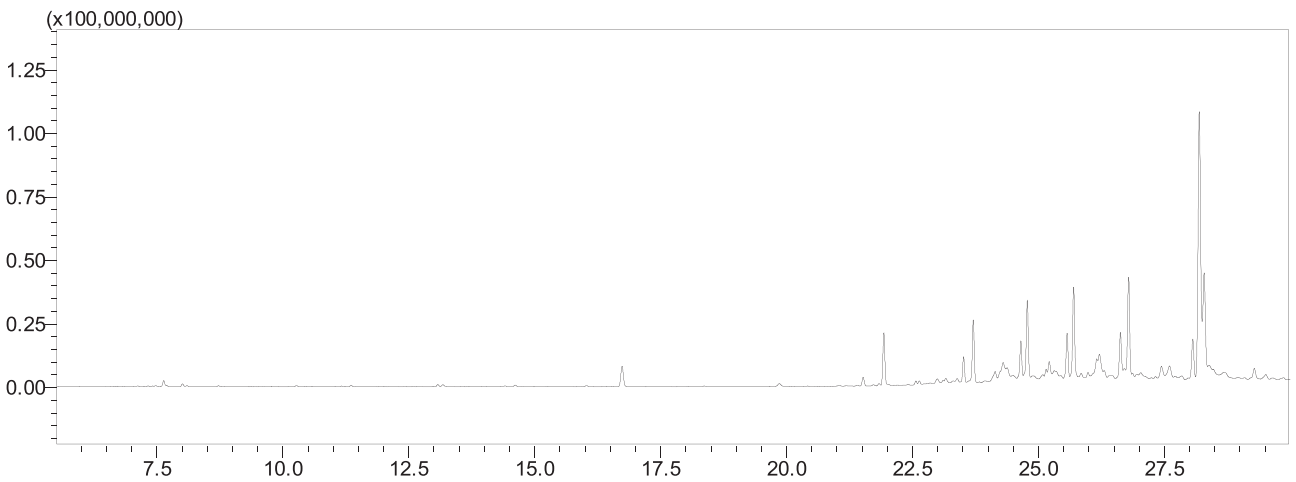


图 25: 80° C 下异丙醇回流样品 2 小时的色谱图

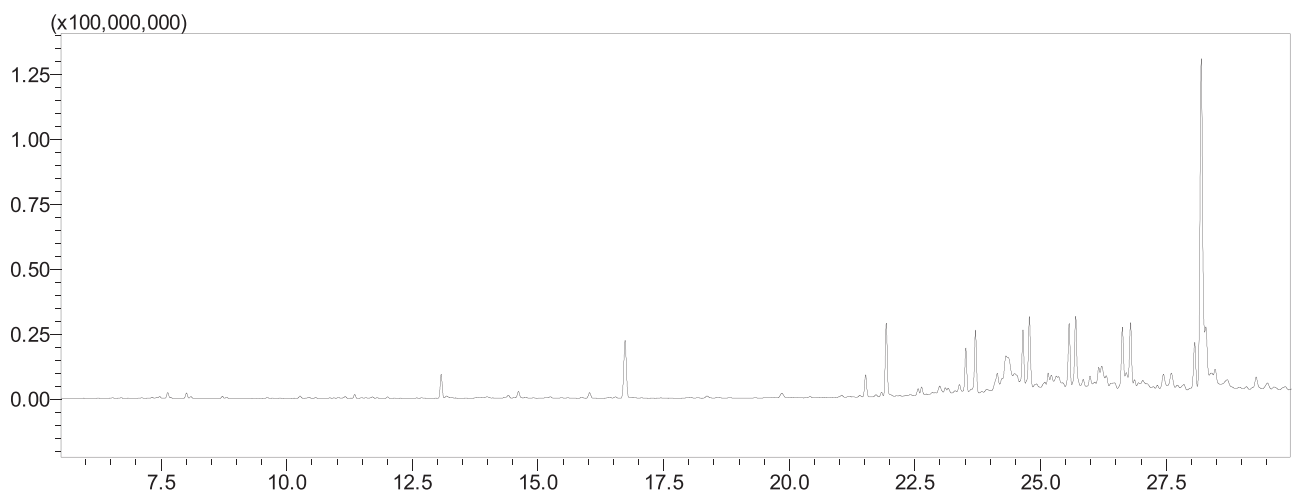


图 26: 38° C 下二氯甲烷回流样品 2 小时的色谱图

提取曲线与实验 A 相似。该实验描述了所研究的 CCP 不浸出任何未知化合物。参见图 22。

实验 B、C、D 和 E 通过在溶剂处于其沸点时回流 CCP 样品进行。除了少数化合物外，提取曲线彼此相当。由于溶剂的提取亲和力，这些实验中鉴定的每种未知化合物的响应不同。在己烷回流样品中检测到最高强度的最大未知化合物（实验 C）。因此，该样品被认为报告了表 8 中的未知化合物。

从 23.5 min 到 28 min，洗脱了多种未知化合物。此事件范围请参考聚焦 TIC 窗口。发现在该时间范围内观察到的提取曲线在所有回流样品中均相似。所研究的 CCP 为高密度聚合物瓶。因此，它往往会浸出自然界中非极性的化合物。这也反映在实验 A 以及回流样品的后期洗脱曲线性质中。表 8 中总结的半定量结果提供了可提取化合物的暂定量，如果样品储存在各自的 CCP 中，这些化合物在样品中可能会被浸出。此外，它们的浓度水平为材料特性鉴定设计了前进的方向。

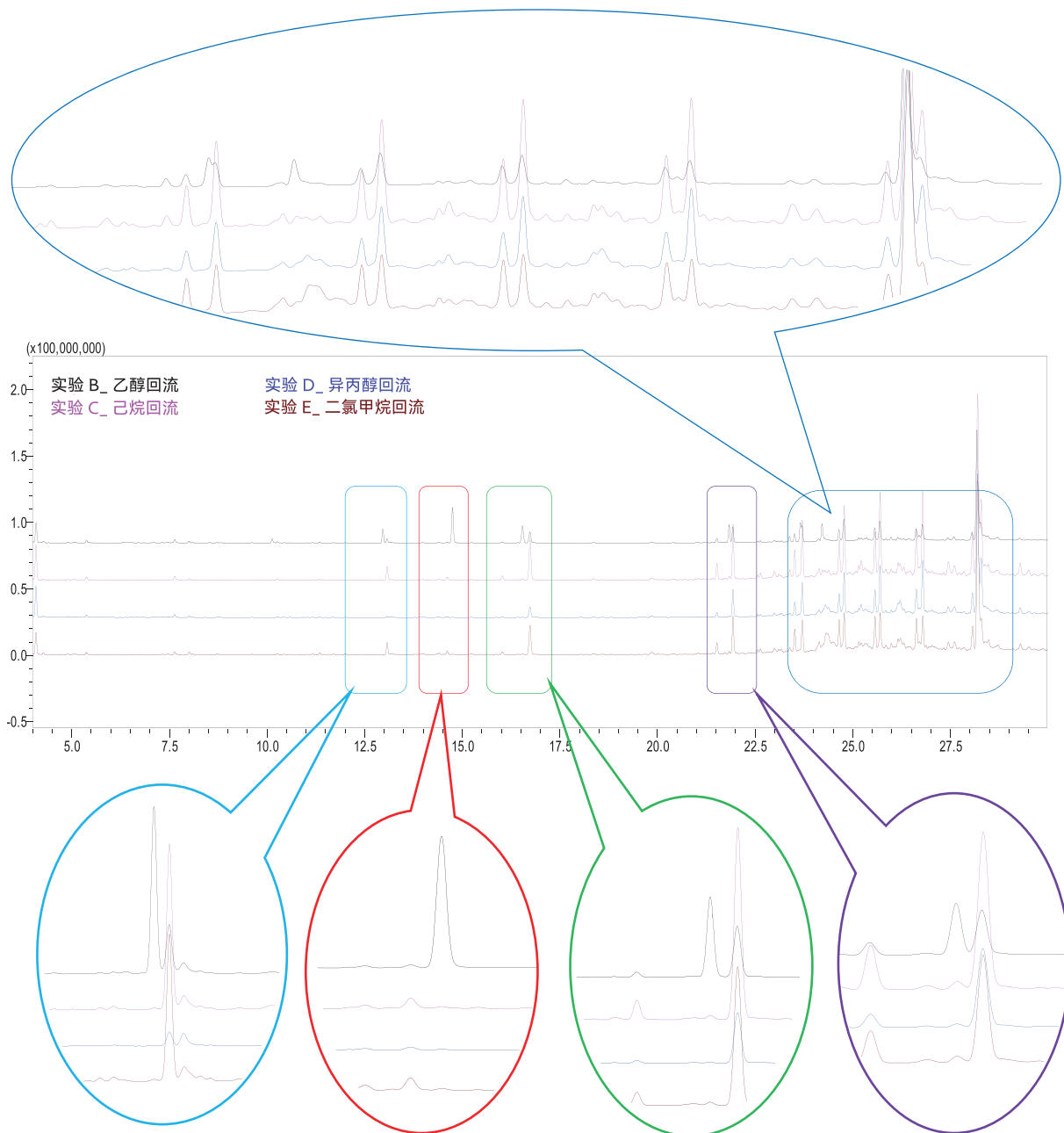


图 27: 有机回流实验样品的 TIC 覆盖图，突出显示了仅在实验 B (乙醇回流) 中检测到的特定未知可提取物。

图 27 对回流样品进行了比较。在一些关键区域检测到了特定的化合物。聚焦了叠加色谱图中的区域，并呈现了缩放大图，以便明确说明。在 13 min 左右检测到的一种未知化合物在特定条件下有可能在乙醇介质中浸出。在任何其他回流样品中没有检测到这种未知化合物。参见图 27 中 13 min 处的 TIC。同样地，在乙醇回流样品中特异性检测到而在其他样品中没有检测到的少数化合物参见 15 min、17 min 和 22 min 处的聚焦 TIC 窗口。

热脱附系统正成为可提取物分析的非常有用的技术。通过这种技术，可以很容易地识别出在加热条件下有浸出趋势的化合物。本文中在高温下解吸样品。用合适的吸附材料将放出的气体收集在二级捕集阱中，然后注入 GCMS 仪器。按照图 4 实验 F 下的解释，使用岛津 TD-30R 仪器分析 CCP。识别了所有峰，并在表 9 报告。

图 28 描绘了通过在 200°C 下加热 CCP 样品 15 min 分析的样品色谱图。从 19 min 到 29 min 的色谱图中的一些区域以缩放视图呈现，以展示精心制作的洗脱曲线。

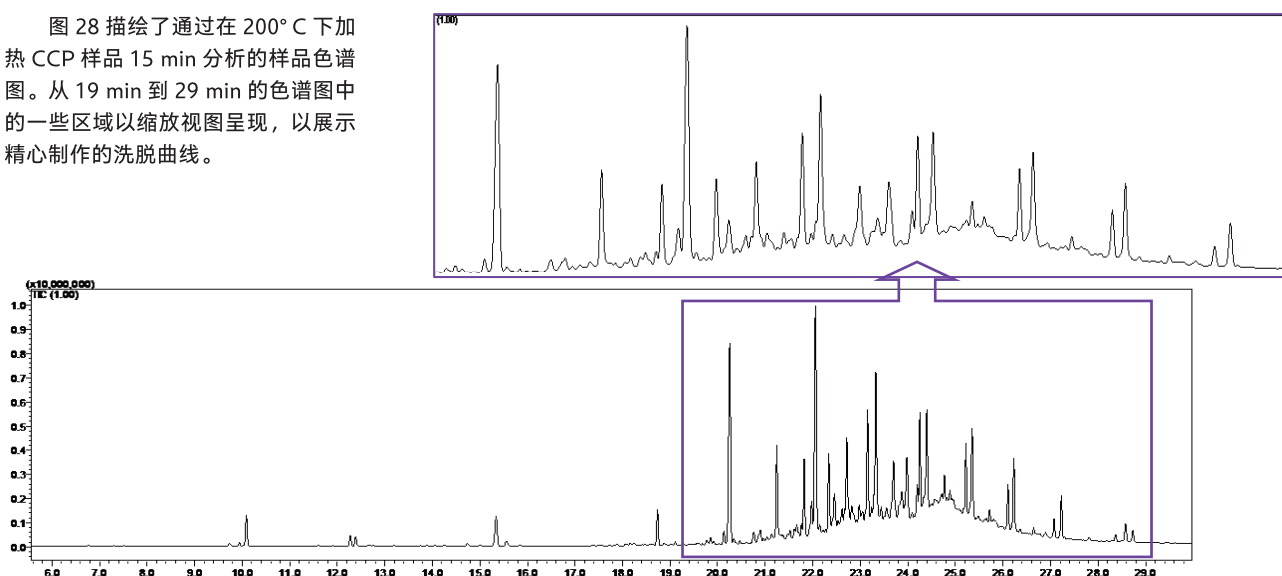


图 28: 采用热解吸系统分析的样品的色谱图

■ 结论:

- 溶剂回流实验的色谱图显示可提取物数量比水性孵育更高。此外，在水性孵育中，可提取物的含量远低于 AET 水平。由于眼用药品的安慰剂完全为水性，因此 CCP 可用于储存。
- 不同实验的色谱图表明，在提取萃取中检测到的化合物不同于在 TD 分析中获得的化合物。因此，从 TD 渠道获得的额外信息将进一步有助于材料特性鉴定。
- 岛津的 GCMS-TQ8040 NX 三重四极杆质谱仪采用 ASSP 技术，扫描速度高达 20000 amu/sec，可实现同步 Scan/MRM 分析，这对于 E&L 研究至关重要。UFsweeper 技术支持 800 MRM/sec，最大限度地减少了串扰，提高了选择性和灵敏度。

■ 参考文献:

- [1] USP <1663> 药品包装 / 递送系统相关可提取物评估
- [2] 产品质量研究所 (PQRI) 的可提取物和可浸出物建议

岛津应用云



GCMS-TQ、AOC、ASSP 和 UFsweeper 是岛津制作所或其附属公司在日本和 / 或其他国家 / 地区的商标。



岛津企业管理（中国）有限公司
岛津（香港）有限公司

<http://www.shimadzu.com.cn>

用户服务热线电话: 800-810-0439
400-650-0439

免责声明:

* 本资料未经许可不得擅自修改、转载、销售;
* 本资料中的所有信息仅供参考, 不予任何保证。
如有变动, 恕不另行通知。

第一版发行日: 2024 年 9 月