

分析静脉输液袋系统中的可萃取物与可浸出物

直接热萃取材料和搅拌棒结合配备单位质量和高分辨率质谱检测的热脱附气相色谱仪吸附萃取水溶液

应用简报

制药

作者

Andreas Hoffmann、Thomas Albinus
Gerstel GmbH & Co. KG,
Eberhard-Gerstel-Platz 1,
D-45473 Mülheim an der Ruhr,
Germany

Elizabeth Almasi,
Agilent Technologies, Inc.
5301 Stevens Creek Boulevard,
Santa Clara, CA 95051, USA

Kurt Thaxton
Gerstel, Inc.
701 Digital Dr. Suite J,
Linthicum, MD 21090, USA

摘要

为了确保药品的安全性，必须监测产品本身或包装里的潜在有害污染物。本研究使用直接热脱附/热萃取与单位分辨率 GC/MS 系统组合分析静脉输液袋组件中的可萃取物。将该结果与搅拌棒吸附萃取水溶液（存储在完全相同类型的静脉输液袋中）获得的可浸出物经过 GC/MS 测定所得到的结果进行比较。还使用高分辨率 GC/Q-TOF 质谱仪来确认或否定通过单位分辨率 MSD 系统加上商用谱库搜索得到的一些分析物鉴定结果。



Agilent Technologies

前言

用于药品运输和储存的高效经济型包装或包装系统可能含有不良的化学物质，这些化学物质可能与药品本身接触，导致药物被污染。合适的包装必须能确保药品的安全性、疗效和质量不受影响，还能方便地送达给患者。

“可浸出物”是有机和无机分析物，与药品直接接触时可浸出物会在正常储存或使用条件下从包装转移到药品中，如果直接接触人体还会转移到患者体内。

“可萃取物”是指在高温等极端实验室条件（加速这些分析物从包装中转移到其他物品中）下从包装材料转移到药物制剂或患者体内的化合物。

可浸出物通常是可萃取物的一部分，或者源自可萃取物。

美国食品药品监督管理局 (FDA) [1]、产品质量研究学会 (PQRI)、美国药典 (USP 1663 和 USP 1664) [2] 和国际标准化组织 (ISO 10993) 针对包装中的“可浸出物/可萃取物”提出了检测方法、法规指导和安全阈值。根据 USP 1664

的描述，以下几类药品包装中的可浸出物/可萃取物会带来极大的风险和问题：吸入气雾剂和喷雾剂，注射液和混悬注射液，吸入溶液和眼用溶液，透皮软膏和贴剂。因此，必须对这些化合物进行严格的定性定量检测，浓度不得超过规定的限值。

静脉输液袋的风险越来越大，因为静脉输液袋的溶液会直接进入患者静脉。因此，对静脉输液袋的研究十分重要，需要分析静脉输液袋及其组件可萃取物以及静脉输液袋中水性介质可浸出物的含量。

本研究采用了独特的样品前处理 [3,4] 和检测方法来满足萃取或浸出化学物质（后者通常存在于水性基质中）的鉴定以及某些亚 ppb 级的检测要求，将在实验部分进行介绍。检测到的可浸出或可萃取分析物的浓度差异通常非常大（10-100+ 倍），因此必须确保没有交叉污染，从而保证结果准确。样品前处理和仪器分析需采用完全空白的溶剂进行对照，即使前一次分析中化合物浓度非常高，也要进行对照。

表 1. 以可浸出物为目标的修订版 FDA/CDER/CBER 风险控制法^a, USP 1664 [1]

常见药品类别的包装潜在风险示例

与给药途径的 相关程度	包装组件与剂型相互作用的可能性		
	高	中	低
最高	吸入气雾剂和喷雾剂	注射液和混悬注射液；吸入溶液	无菌粉剂和注射用粉剂；吸入粉剂
高	透皮软膏和贴剂	眼用溶液和混悬液；鼻用气雾剂和喷雾剂	—
低	局部用溶液和混悬液； 外用和口腔气雾剂； 口服溶液和混悬液	—	口服片剂和口服（硬和软明胶）胶囊； 局部用粉剂；口服粉剂

^a 尽管该表提供了与可浸出物有关的各种剂型的一般监管问题的方便概述，但不应推断“低风险”剂型（例如，口服片剂）不存在可浸出物的风险。

实验部分

材料

无菌的 250 mL 空的静脉输液袋由客户提供。静脉输液袋由聚丙烯制成，其中一些组件（阀、管线）含有 DEHP 增塑的 PVC。

采样/样品前处理

使用两种简单且方便的采样和样品富集技术进行测量：

可萃取物

在不同温度下采用直接热脱附法来分析输液袋及其组件。

从静脉输液袋中采集小的样品片（取 3 至 15 mg，图 1 所示位置）。然后将这些材料置于空的预老化 TDU 管中，随后在 80、140 和 200 °C 的温度下直接进行热萃取。在该过程中，挥发性分析物用载气吹扫到预冷的 PTV 进样口，然后在此处被浓缩萃取，用于后续 GC/MS 分析。



图 1. 静脉输液袋采样位置

可浸出物

使用搅拌棒 (Twister) 吸附萃取 [SBSE] 采样法来富集静脉输液袋内含水介质中的可浸出物。

SBSE 是一种无溶剂样品萃取技术，可从水性样品中富集溶质，该技术由 Baltussen 等人在 1999 年首次提出 [5]。它最大限度减少了样品前处理，还有效避免样本被有机溶剂污染，从水性样品中萃取分析物通常需要使用有机溶剂。此外，无需进一步的浓缩步骤（例如萃取物的大体积进样），因为分析物已经被浓缩在搅拌棒的 PDMS 涂层中。

将 250 mL 去离子水注入空的静脉注射袋中，并在 40 °C 下储存 48 小时，使化合物浸出到水溶液中。然后，将 10 mL 水的等份试样转移到空的样品瓶中。放入 Twister 搅拌棒 (24 μ L PDMS)，盖上样品瓶盖。在室温下用 Twister 搅拌样品 60 min 完成萃取。取出搅拌棒，用瓶装水冲洗，干燥，并置于活化的热脱附管中进行分析。Twister 在 240 °C 下脱附。

采用可萃取物和可浸出物测量中常见的分析法完成剩下的分析。

仪器

将配备有 Gerstel PTV 进样口 (CIS 4)、热脱附单元 (TDU) 和多用途进样器 (MPS) 的 Agilent 5977A MSD 与 Agilent 7890B 气相色谱仪联用。

使用涂覆 24 μ L PDMS 的 Gerstel Twister 搅拌棒进行 SBSE 实验。Twister 脱附后，使用上述 GC/MS 系统进行分析。

然后使用配备有 Gerstel PTV 进样口 (CIS 4)、TDU 和 MPS 自动进样器的 Agilent 7200 Q-TOF 与 7890B 气相色谱仪联用，对分析结果进行确认分析。

GC/MS 分析

可萃取物的热脱附

Gerstel TDU

管类型	空 (3-15 mg 样品)
气路模式	不分流
样品模式	样品去除
温度	30 °C, 以 60 °C/min 先后升至 80 °C/140 °C/200 °C (10 min)
转换区域温度	280 °C

Gerstel CIS 4 PTV 进样口

液氮冷却	
衬管类型	填充有去活处理的玻璃毛
载气	氦气
气路模式	溶剂排空
排空流速	50 mL/min
排空压力	0.1 min 之前为 49 kPa
分流流速	0.01 min 时为 30 mL/min
温度	-150 °C (0.1 min), 以 16 °C/s 升至 150 °C, 以 12 °C/s 升至 280 °C (3 min)

Agilent 7890B 气相色谱仪

色谱柱	Agilent HP-5ms, 30 m × 0.25 mm, 0.25 μm
色谱柱流速	He, 1.0 mL/min, 恒流
温度	40 °C (1 min), 以 10 °C/min 升至 200 °C, 以 20 °C/min 升至 280 °C (5 min)

Agilent 5977A MSD

传输线温度	280 °C
质谱离子源	230 °C
MS 四极杆	150 °C
扫描范围	19 至 350 <i>m/z</i> , 1.14 次扫描/秒
阈值	40

搅拌棒吸附萃取 (SBSE) 水性模拟物中的可浸出物

Gerstel TDU

管类型	空 (Twister)
温度	30 °C, 以 60 °C/min 升至 240 °C (5 min)

Gerstel CIS 4 PTV 进样口

分流流速	1.1 min 时为 30 mL/min
------	----------------------

Agilent 7890B 气相色谱仪, 色谱条件如上所述

Agilent 7200 Q-TOF

质谱离子源	230 °C
电子轰击能量	70 eV
扫描速率	29 至 350 <i>m/z</i>
采集速率	10 谱图/秒
调谐模式	4 GHz (高分辨率)

结果与讨论

静脉输液袋组件中可萃取物的直接热脱附

在高温下热萃取固体材料能够检测挥发性和半挥发性物质, 无论其极性如何。该技术简便易用且十分高效, 能够快速完成大量可萃取物的研究, 涵盖了最相关的化合物 (即具有相对较高迁移度的化合物)。这也是与可萃取物分析中的溶剂萃取法相比最大的优势。在溶剂萃取法中, 分析物萃取的速度更多取决于溶剂的极性而不是其迁移度 [6]。

该技术可最大程度减少样品前处理, 还能避免溶剂对样品造成污染。

在 80 °C 和 200 °C 下萃取透明输液袋样品, 将结果与带印刷文字的输液袋样品进行比较。

在 80 °C 热萃取实验中鉴定出的化合物包括环己酮, 其通常用作 PVC 生产中的溶剂。最近有研究表明, 医疗手术中使用的输血塑料管含有的环己酮可能会导致心脏功能衰退、肿胀、味觉丧失和短期记忆丧失 [7]。全球各地生产的几乎所有 2-乙基己醇都会转化为增塑剂邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯 (DEHP)。这两种化合物通常与聚丙烯的生产无关, 聚丙烯是制造这种静脉输液袋的材料。

当萃取温度升高至 200 °C 时, 所得的 (红色) 色谱迹线不仅如预期一样显示出半挥发性化合物的回收率增加, 而且挥发性化合物 (在环己酮之前 (0-8 min) 流出的化合物) 的回收率也有所增加。显然, 这些化合物 (主要是残留溶剂如乙醛、丙酮、叔丁醇、己烷、甲基异丁基酮 (MIBK)、甲苯、己醛、苯乙烯、环己酮等) 只有在较高的萃取温度下才会从材料中释放出来。

带印刷文字的输液袋样品中检测到源自油墨的其他三种成分。此类研究可以鉴定出污染物的来源。

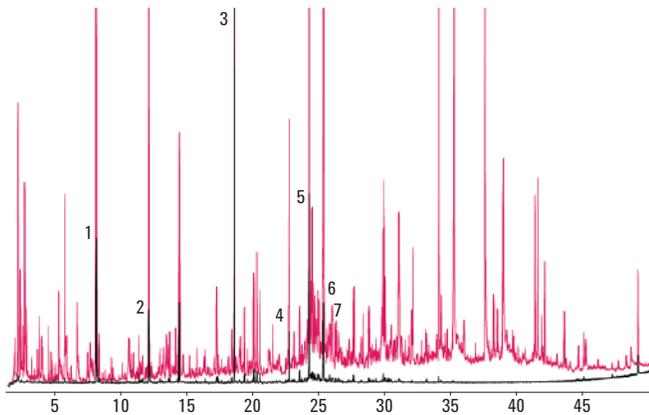


图2. 分别在 80 °C (黑色迹线) 和 200 °C (红色迹线) 下热萃取 16.3 mg 静脉输液袋材料后以 1:30 的分流比分析得到的叠加色谱图

表2. 在 80 °C 热萃取下鉴定的化合物

编号	化合物	可能的来源
1	环己酮	残留溶剂
2	2-乙基己醇	DEHP 分解产物, 中间体
3	1,3-二叔丁基苯	抗氧化剂降解产物
4	二苯醚类	表面活性剂和高温润滑剂生产中形成的中间体
5	2,6-二叔丁基苯醌	BHT 分解产物, 中间体
6	丁羟甲苯 (BHT)	抗氧化剂
7	2,4-二叔丁基苯酚	抗氧化剂降解产物

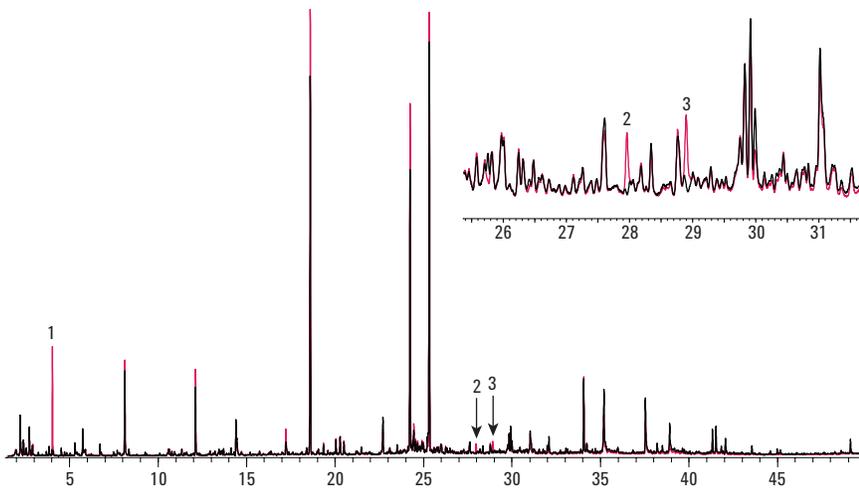


图3. 在 200 °C 下热萃取 15.1 mg 静脉输液袋材料 (黑色迹线) 和 15.4 mg 带印刷文字的静脉输液袋材料 (红色迹线) 后以 1:30 的分流比分析得到的叠加色谱图

表3. 从带印刷文字的输液袋样品中鉴定出的其他化合物

编号	化合物	可能的来源
1	甲基丙烯酸甲酯	中间体 (来自印刷文字)
2	邻甲苯磺酰胺	增塑剂、添加剂 (来自印刷文字)
3	对甲苯磺酰胺	增塑剂、添加剂 (来自印刷文字)

其他峰被鉴定为甲基丙烯酸甲酯（一种用于生产油漆和漆料的化学品）以及邻甲苯磺酰胺和对甲苯磺酰胺。后两种化学品通常用作涂料、油漆和印刷油墨中的增塑剂。此外，它们还可以促进粘合，并且具有极佳的热稳定性。这些化合物可能会导致 DNA 损伤（遗传毒性杂质），因此被列为高度关注物质，浓度必须非常低（ppb 级）。

管线和阀的色谱指纹谱图十分相似，表明它们来自相同的聚合物，很可能是 PVC。由于静脉输液管中 DEHP 的含量较高，因此热萃取实验仅在 140 °C 下进行。图 4 显示了所得的色谱图。

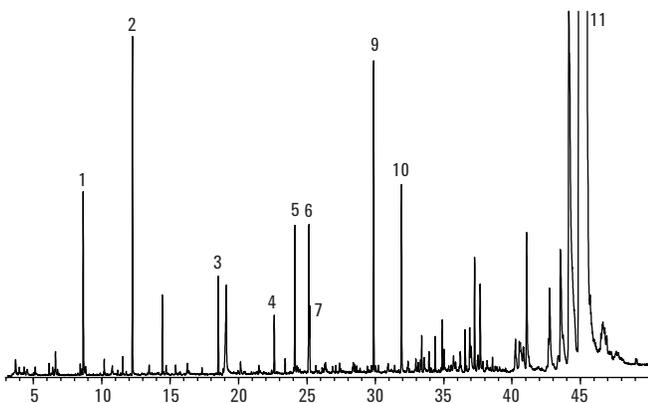


图 4. 在 140 °C 下热萃取 3.7 mg 静脉输液管线 (PVC)，分流比为 1:30

表 4. 从静脉输液袋和阀中鉴定出的化合物

编号	化合物	阀	输液袋	可能的来源
1	环己酮	是	是	残留溶剂
2	2-乙基己醇	是	是	DEHP 分解产物，中间体
3	1,3-二叔丁基苯	是	是	抗氧化降解产物
4	二苯醚类	是	是	表面活性剂和高温润滑剂生产中形成的中间体
5	2,6-二叔丁基苯醌	是	是	BHT 分解产物
6	丁羟甲苯 BHT	是	比阀中的浓度低	抗氧化剂
7	2,4-二叔丁基苯酚	是	是	抗氧化剂降解产物
8	邻苯二甲酸二乙酯 (DEP)	是	否	增塑剂
9	苯甲酸乙基酯	是	否	增塑剂
10	水杨酸-2-乙基己基酯	是	否	紫外线稳定剂
11	DEHP (邻苯二甲酸二乙基己酯)	是	否	增塑剂

色谱图表明样品中极有可能存在环己酮和 2-乙基己醇。静脉输液管由含有大量 DEHP 增塑剂的 PVC 制成。残留的环己酮溶剂通常存在于 PVC 产品中，2-乙基己醇是 DEHP 生产形成的中间体。

将这些结果与静脉输液袋材料的结果进行比较可以发现，来自管线或塑料阀的化合物必定迁移到了袋材料中并对其造成了污染。

哪怕是分析含高浓度可萃取物的样品，仍具有出色的系统完整性

图 5 中的色谱图展示了该系统出色的样品高保真度，哪怕是样品浓度非常高，例如在 200 °C 温度下从 PVC 组件（阀和管线）萃取到的高 DEHP 浓度，也丝毫不损保真度。

虽然仅从塑料阀取样 2.3 mg，并且以 1:30 的分流比将萃取的挥发性物质进样到气相色谱柱上，但色谱柱仍过载了 DEHP，色谱峰从大约 45 min 开始延伸了 10 min。这表明成功完成直接萃取实验的基本前提是惰性样品流路，该样品流路在分析结束时进行再生处理，以便进行下一次样品分析。这样可以确保不会发生样品间的交叉污染，哪怕分析浓度相当高的物质也不会影响分析结果。图 5 显示了过载色谱图（在 200 °C 下萃取）与随后立即使用空样品管和相同的仪器条件运行空白对照的叠加色谱图。

TDU GC/MS 系统非常可靠，哪怕上一次运行中测量浓度非常高的化合物，也几乎不会发生交叉污染。

GC/MS 分析 — 水性模拟物的搅拌棒吸附萃取 (SBSE)

使用 Twister 对样品前处理部分描述的可浸出物模拟实验的 10 mL 等份水样进行 SBSE。平行地对 10 mL 空白水样进行 Twister 萃取，随后进行热脱附 GC/MS 分析。所得的空白色谱图显示了来自 Twister 搅拌棒的 PDMS 涂层的几种硅氧烷，但没有其他有机化合物的明显迹线。以下所有色谱图均用星号 (*) 标记硅氧烷色谱峰。

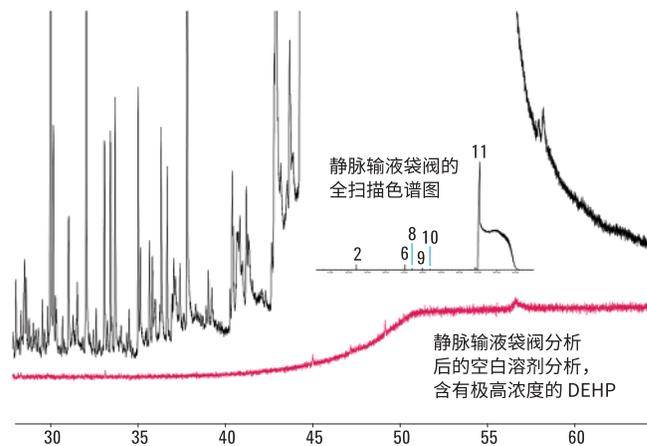


图 5. 在 200 °C 下热萃取 2.3 mg 静脉输液塑料阀 (PVC) (分流比 1:30, 黑色迹线) 并随后在相同条件下运行空白溶剂 (红色迹线) 的叠加色谱图

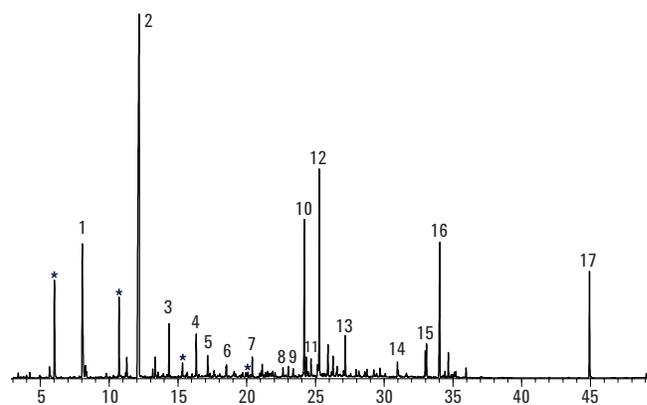


图 6. 搅拌棒吸附萃取在静脉输液袋内 40 °C 下存储了 48 h 的 250 mL 去离子水样的 10 mL 等份试样，采用不分流进样

编号 化合物

1	环己酮
2	2-乙基己醇
3	壬醛
4	壬醇
5	2-叔丁基-1,4-苯醌
6	1,3-二叔丁基苯
7	乙酰基甲基噻吩 (?)
8	二苯醚类
9	1,1-二甲基乙基-4-甲氧基苯酚 (BHA)
10	2,6-二叔丁基对苯醌
11	BHT
12	2,4-二叔丁基苯酚
13	邻苯二甲酸二乙酯
14	3,5-二叔丁基-4-羟基苯甲醛
15	邻苯二甲酸异丁酯
16	7,9-二叔丁基-1-氧杂螺-[4.5]癸-6,9-二烯-2,8-二酮
17	DEHP

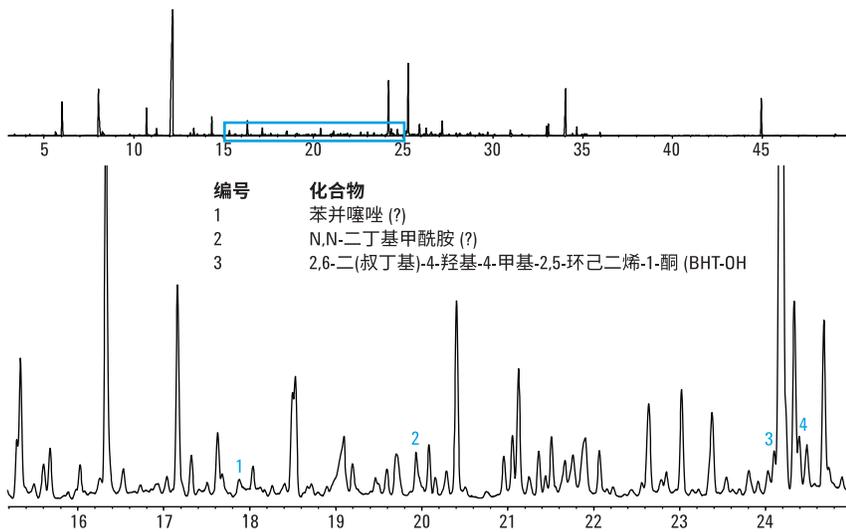


图 7. 搅拌棒吸附萃取在静脉输液袋内 40 °C 下存储了 48 h 的 250 mL 去离子水样的 10 mL 等份试样，采用不分流进样（放大 15–25 min 的谱图）

使用 SBSE 可以鉴定出在前述包装材料的热萃取实验中发现的几种化合物。显然，这些化合物的其中一些被浸出到水性模拟物中。实验还发现了未被鉴定为可萃取物的其他化合物，可能是由于它们的浓度相当低。

使用 Agilent 7200 Q-TOF 质谱仪进一步确认那些使用 MSD 进行初步鉴定的痕量化合物（苯并噻唑和 N,N-二丁基甲

酰胺）以及主要质量数均是 m/z 125 和 140 的一组化合物。Wiley 6 和 NIST 14 表明它们是含硫分析物。

图 8 显示了苯并噻唑的确证 Q-TOF 分析 (RT 17.2 min)，提供了化合物相应的分子式。精确质谱图未确认 N,N-二丁基甲酰胺的存在。

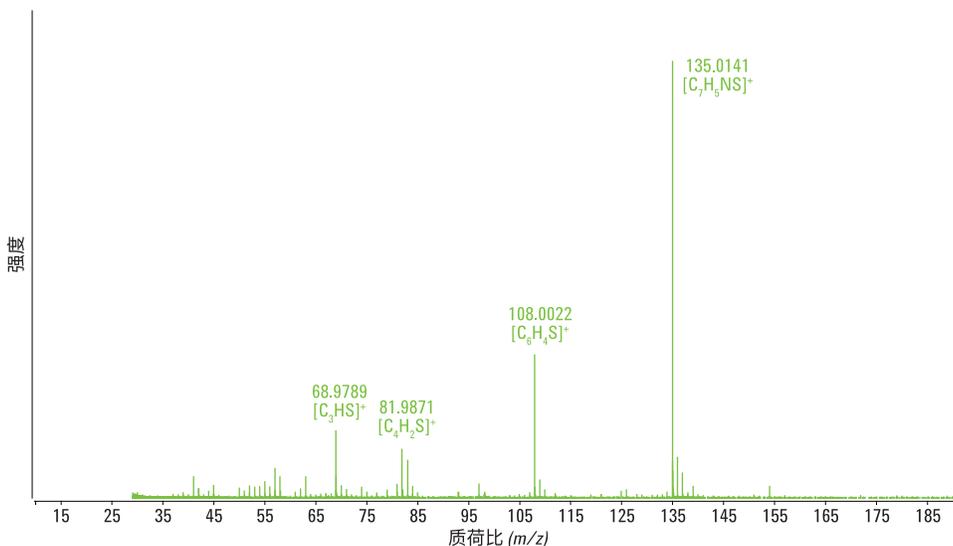


图 8. 搅拌棒吸附萃取在静脉输液袋内 40 °C 下存储了 48 h 的 250 mL 去离子水样的 10 mL 等份试样，采用不分流进样使用 Q-TOF 系统确认存在苯并噻唑（质量误差：-0.4 mDa = 2.8 ppm）

单四极杆谱库结果 (Wiley 6 和 NIST 14) 未显示出令人满意的结果, 特别是具有 m/z 125 和 140 的峰组。两个谱库均表明这些化合物含有硫原子, 例如乙酰基甲基噻吩。Q-TOF 精确质量数测量结果排除了分子中含有硫,

并且通过精确质量数分析否定了含硫分析物的存在。需要使用化学电离和 MS/MS 测量进一步分析, 揭开未知类似物的身份。

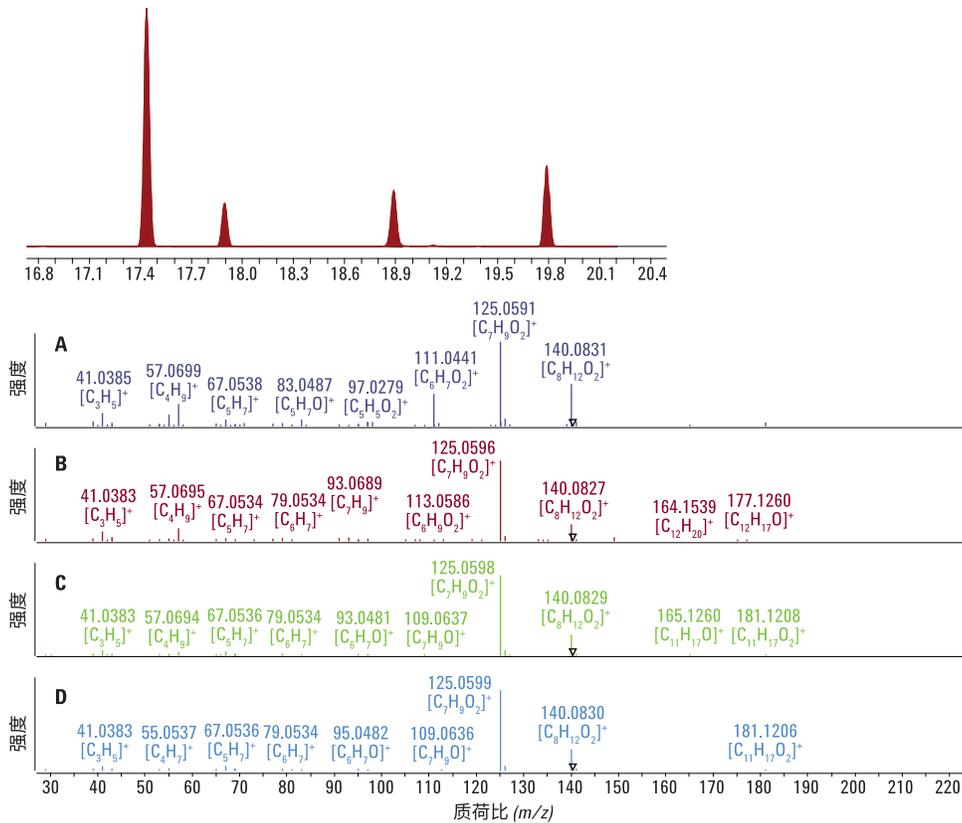


图 9. 搅拌棒吸附萃取在静脉输液袋内 40°C 下存储了 48 h 的 250 mL 去离子水样的 10 mL 等份试样, 采用不分流进样通过 Q-TOF 结果排除了质量数 m/z 为 125 和 140 的化合物中硫的存在

表 5 列出了搅拌棒吸附萃取法测定的化合物以及可能来源于静脉输液袋的组件。

表 5. 静脉输液袋水样的搅拌棒吸附萃取化合物鉴定，与来自静脉输液袋的具体组件有关

编号	化合物	主要来源	可能的来源
1	环己酮	静脉输液管	残留溶剂
2	2-乙基己醇	塑料阀	DEHP 分解产物，中间体
3	苯乙酮	静脉输液袋	残留溶剂
4	壬醛		
5	壬醇		
6	2-叔丁基-1,4-苯醌	静脉输液袋	BHT 分解产物
7	苯并噻唑		硫化剂
8	1,3-二叔丁基苯	静脉输液袋	抗氧化剂降解产物
9	二苯醚类		表面活性剂和高温润滑剂生产中形成的中间体
10	1,1-二甲基乙基-4-甲氧基苯酚（丁基羟基苯甲醚，BHA）	静脉输液袋	抗氧化剂
11	2,6-二(叔丁基)-4-羟基-4-甲基-2,5-环己二烯-1-酮 (BHT-OH)	静脉输液袋	BHT 分解产物
11	2,6-二叔丁基对苯醌	静脉输液袋	BHT 分解产物
13	2,5-二叔丁基-1,4-苯醌 (BHT-quinone)	静脉输液袋	BHT 分解产物
14	丁羟甲苯 BHT	塑料阀	抗氧化剂
15	2,4-二叔丁基苯酚	静脉输液袋	抗氧化降解产物
16	叔丁基对苯二酚	静脉输液袋	抗氧化剂
17	邻苯二甲酸二乙酯	塑料阀	增塑剂
18	二苯甲酮		紫外线稳定剂
19	苯甲酸乙基己酯	塑料阀、静脉输液管	增塑剂
20	1,4-二叔丁基对苯二酚	静脉输液袋	抗氧化剂
21	3,5-二叔丁基-4-羟基苯甲醛	静脉输液袋	BHT 分解产物
22	3,5-二叔丁基-4-羟基苯乙酮	静脉输液袋	BHT 分解产物
23	邻苯二甲酸异丁酯	静脉输液袋	
24	7,9-二叔丁基-1-氧杂螺[4.5]癸-6,9-二烯-2,8-二酮	静脉输液袋	2,4-二叔丁基苯酚的降解产物
25	DEHP	塑料阀、静脉输液管	增塑剂

结论

对包装组件进行热吸附，随后对水性模拟物进行 Twister 分析是一种简单、高效的方法，为将来的可浸出实验创建了全面的目标物列表。不使用在线阀或传输线进行热脱附时，即使在严重过载的样品之间也可以成功地将重 SVOC 输送到 GC/MS，并且交叉污染极低。实验表明，这在查找包装中的可萃取化合物的来源方面非常有用。

本研究还证明了在一些情况下需要借助 GC/Q-TOF MS 的高分辨能力和精确质量数分析，以便确认和排除目标可萃取物。使用 Twister 可以得到包括很多痕量物质的色谱图；本文仅针对其中几种物质进行了讨论。Q-TOF 是一款强大的工具，可用于确认痕量分析物，或明确是否需要进一步研究以进行阳性鉴定。将简单、耐用且高效的热脱附样品引入与 Q-TOF 联用可以最大程度发挥仪器的潜能。

最后要说明，本文展示的数据主要用于概念展示，自然还不尽完善；从业人员执行的分析比示例中描述的工作更为严格。按照 FDA 的要求，我们还需要进行更多的重复实验，并确定可萃取物的定量或半定量估计值。

参考文献

1. FDA. Guidance for Industry: Container Closure Systems for Packaging Human Drugs and Biologics. Rockville, MD: FDA; 1999.
2. USP 1664. Assessment of Drug Product Leachables Associated with Pharmaceutical Packaging Delivery Systems. Rockville, MD; 2013.
3. Jiun-Tang Huang, *et al.* Method Development and Validation for the Determination of 2,4,6-Tribromoanisole, 2,4,6-Tribromophenol, 2,4,6-Trichloroanisole, and 2,4,6-Trichlorophenol in Various Drug Products using Stir Bar Sorptive Extraction and Gas Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Detection, *J. Chromatog. A* (2012).
4. B. L. Armstrong, *et al.* Stir Bar Sorptive Extraction Combined with GC-MS/MS for Determination of Low Level Leachable Components from Implantable Medical Devices. *J. of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **74**, 162-70 (02/2013).
5. E. Baltussen, *et al.* Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE), a Novel Extraction Technique for Aqueous Samples: Theory and Principle, *Journal of Microcolumn Separations* **11**, 737-747 (1999).
6. C. Zweiben, A. J. Shaw, Use of Thermal Desorption GC-MS to Characterize Packaging Materials for Potential Extractables, *J. of Pharma. Sci. and Technol.* **63**, No. 4, (July-August 2009).
7. C. S. Thompson-Torgerson, *et al.* Cyclohexanone Contamination from Extracorporeal Circuits Impairs Cardiovascular Function. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* **296(6)**, H1926-32 (Jun 2009).

更多信息

这些数据仅代表典型的结果。有关我们的产品与服务的信息，请访问我们的网站 www.agilent.com。

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

安捷伦对本资料可能存在的错误或由于提供、展示或使用本资料所造成的间接损失不承担任何责任。

本资料中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）公司，2015

2015年11月6日，中国出版

5991-6348CHCN



Agilent Technologies