

基于高分辨液质的包材E&L鉴定新流程

安彦¹ 杨炜春¹ 刘国强² 周哲²

1.苏州百特医疗用品有限公司

2.赛默飞世尔科技(中国)有限公司

关键词

Q Exactive Focus高分辨质谱、包材、相容性、E&L

1.引言

药包材的选择对于确保药品质量有着举足轻重的作用。不恰当的包装材料会引发药物活性成分的迁移、吸附甚至使其发生化学反应，导致药物失效，有的还会导致药物对人体产生严重的不良反应[1]。从近期陆续出台的相容性指导原则（表1），YY/T 1550-2017标准及注射剂一致性评价征求意见，都可以看出，包材相容性在药品安全性研究中占据着日益重要的作用。

表1. CDE药审中心近年发布的包材相容性相关指导原则

化学药品注射剂与塑料包装材料相容性研究技术指导原则（2012）
化学药品注射剂与药用玻璃包装容器相容性研究技术指导原则（2015）
化学药品与弹性体密封件相容性研究技术指导原则（2018）

Extractable & Leachable（可提取物和可浸出物，E&L）安全评估贯穿于产品的整个生命周期。原材料筛选是产品研制过程的初级“去除”阶段。通过功能性筛选的包装材料需经过可提取物初步评估[2]。质谱技术，特别是高分辨质谱技术，因其对未知物高灵敏度的定性能力，被越来越多的应用于E&L的非靶标分析。本文采用Q Exactive Focus高分辨液质联用，对某原料树脂的可提取物进行了分析。

• EXTRACTABLE

• Chemical released from process equipment, packaging or delivery system; **under laboratory extraction conditions.**

• LEACHABLE

• Chemical that **migrates** from process equipment, packaging or delivery system; into drug formulation **under normal usage conditions.**



2.实验条件

2.1 液相色谱条件:

仪器: Thermo Fisher Vanquish Flex超快速液相色谱仪

色谱柱: Synchronis(150×2.1mm, 1.9μm)

流速: 0.3ml/min

流动相A: 0.03%FA, 流动相B: 0.03%乙腈

梯度条件:

时间(min)	A%	B%
0	95	5
2	95	5
20	5	95
25	5	95

2.2 质谱条件

仪器: Thermo Q Exactive Focus四极杆-静电场轨道阱高分辨串联质谱

HESI离子源参数: Spray Voltage +3.5KV/-2.8KV, 正负离子模式; Sheath Gas Pressure: 40arb; Aux Gas Pressure: 10arb; Capillary Temp: 300°C; Heater Temp: 350°C。

质谱扫描参数: 全扫描范围70-1000m/z, 分辨率70,000 FWHM; 二级: 数据依赖自动触发; 母离子隔离窗口1.5 amu; 分辨率17,500 FWHM。



图1. Q Exactive Focus高分辨液质联用仪

2.3 样品制备

称取原料树脂60g，加入500mL水121℃密闭提取90分钟。值得注意的是，因为该测试的目的是衡量测试流程的合理性，未对测试方法进行任何方法学的评估。

3. 结果和讨论

3.1 数据采集

采用0.03%甲酸作为流动相添加剂，以保证较好的峰型和在正负离子下的响应。采用Q Exactive Focus快速极性切换(Fast polarity switching)+数据依赖采集 (Fullscan+ddMS2) 的扫描方

式。在保持高质量精度的情况下，实现一针进样，同时采集正负离子及一级二级数据，实现了高效的数据采集（图2）。

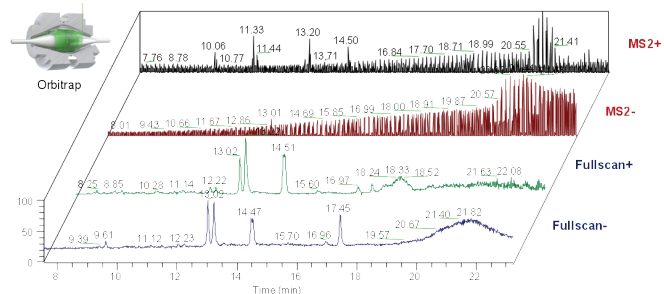


图2. 一针进样获得正负离子Fullscan+ddMS2数据

3.2 数据处理：E&L鉴定策略流程图

数据处理采用Compound discoverer (简称CD)的E&L Unknown ID with Online and Local Database Searches工作流程进行成分鉴定。实现自动峰提取、空白扣除、分子式生成等步骤，通过在线和离线多级质谱数据检索对E&L成分进行检索鉴定。采用全新的mzLogic算法对完全未知物进行解析推断。

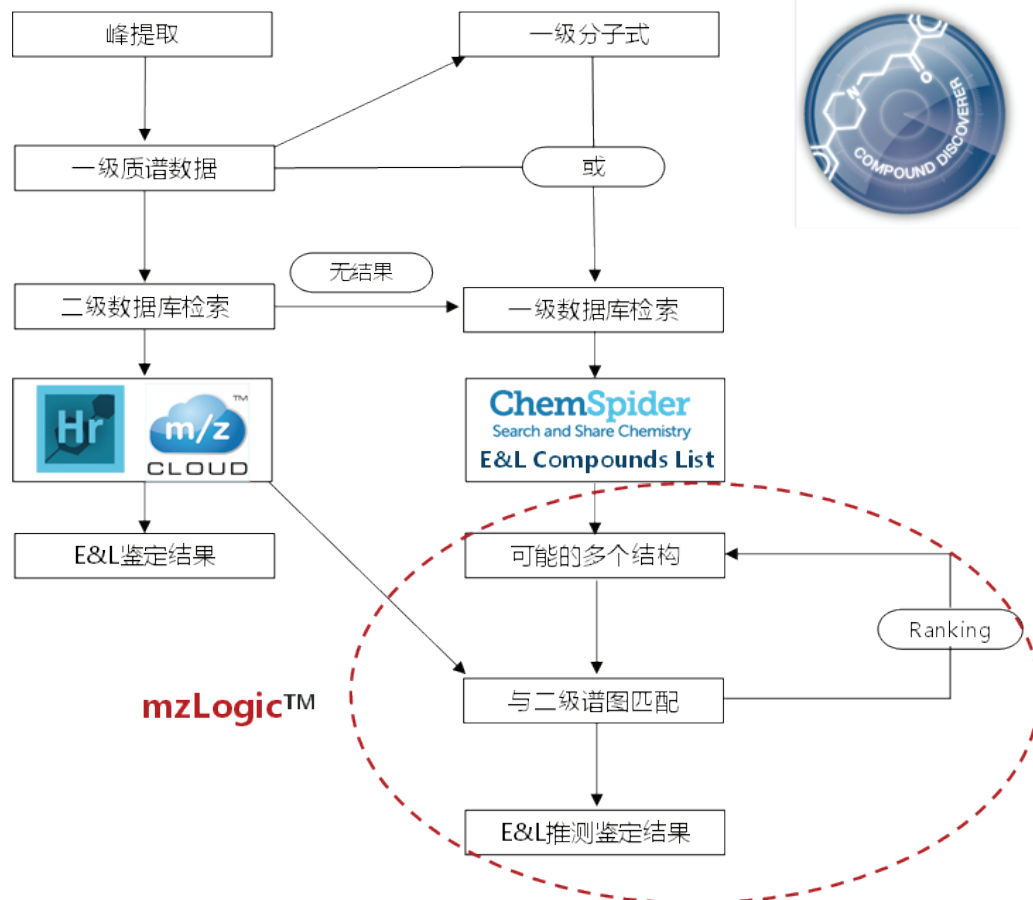


图3. E&L鉴定策略流程图

3.2.1 E&L数据库鉴定结果

在对数据完成峰提取后，CD将化合物所归属的一级和二级质谱数据与mzCloud或mzVault数据库进行匹配。匹配参数：离子活化能偏差<20，质量偏差<10ppm，鉴定算法:Cosine，匹配阈值：60%。满足以上匹配条件的结果将返回到CD软件中。由软件界面（图4）可以直观的看见鉴定化合物列表，化合物列表，选定化合物提取离子流图，化合物结构及匹配分值，二级质谱镜像图等信息。对谱库中已收录的E&L化合物进行高效鉴定。

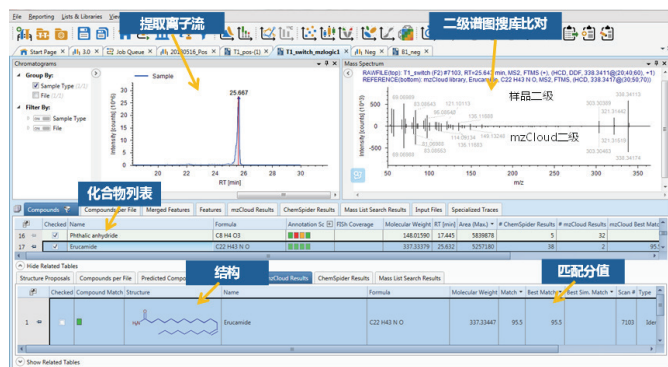


图4.数据库鉴定结果界面

3.2.2 mzLogic应用于未知E&L分析

如有化合物未包含在数据库中，则可以首先计算出该未知物分子式，然后通过分子式和精确质量数检索可能的结构。但因为同分异构体众多，往往对结构推断形成挑战。以m/z 277.14441的峰为例，CD结合精确质量数，同位素丰度比，氮率，C/H比等多个维度，计算该分子式为C₁₆H₂₂O₄。使用Chemspider search node，检索获得超过18个同分异构体结果（图5），通过传统方法，需要花费大量精力用于筛选和排除。

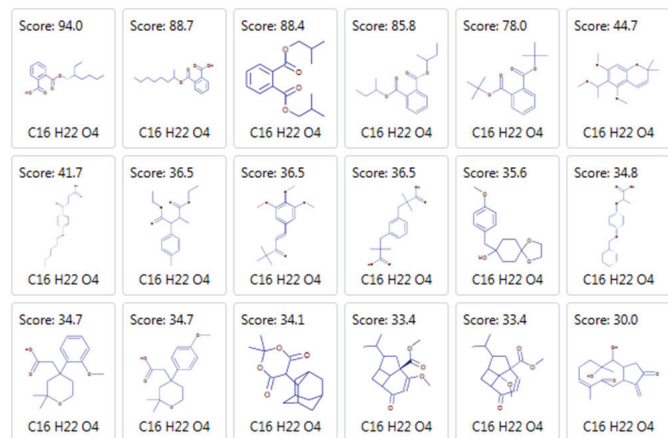


图5. C₁₆H₂₂O₄部分同分异构体结果

mzLogic使用创新的算法，将mzCloud与Chemspider有机结合，通过利用mzCloud超过2,800,000张多级谱图中的海量碎片结构信息，对所有的候选结构进行快速解析、匹配和排序。通过排序，得出>90分的Top1结构为邻苯二甲酸单乙基己基酯 (MEHP)，一个常见的塑料增塑剂的降解产物。mzLogic为完全未知E&L结构分析提供了一种高效、批量的智能筛选方案。

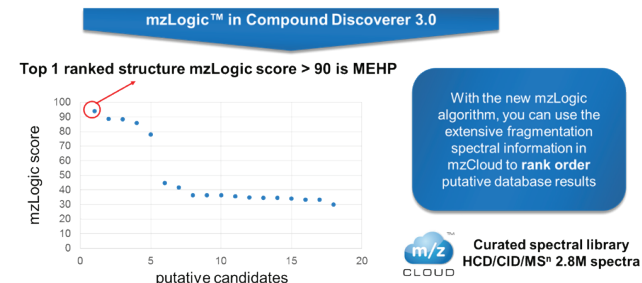


图6. mzLogic算法对候选结构进行筛选排序

4. 小结:

采用Q Exactive Focus高分辨液质联用技术，结合Compound discoverer软件中E&L Unknown ID with Online and Local Data-base Searches工作流程，对树脂样品中的可提取物进行鉴定。通过在线和离线数据库对已载的成分进行检索。对于未知化合物，使用创新的mzLogic算法，利用mzCloud已收录的数百万个碎片结构，对候选结构进行筛选和排序，进一步获得可能的结构。本实验中通过上述策略鉴定到可提取物见表2。

表2. 树脂样品可提取物鉴定结果

中文名	Name	Formula	Molecular Weight	RT [min]
环氧亚麻油相关物质	Exoxidized oil related substance	C18 H34 O5	330.23981	13.0,13.2,14.5
聚乙二醇相关物质	PEG related substance	C14H22O(C2H4O)n	—	17.0~18.7
邻苯二甲酸	Phthalic acid	C8 H6 O4	166.02636	17.442
邻苯二甲酸二丁酯	Dibutyl phthalate	C16 H22 O4	278.15117	17.444
羟基-十八碳烯酸	Hydroxy-octadecenoic acid	C18 H30 O3	294.21877	13.222
三甲基乙酞基丙酮酸乙酯	Ethyl 5-dimethyl-2,4-dioxohexanoate	C10 H16 O4	200.10457	7.031
3-环己基-3-氧代丙酸乙酯	Ethyl 3-cyclohexyl-3-oxopropanoate	C11 H18 O3	198.12523	13.637
十八碳烯酸类	Octadecenoic acid	C18 H32 O6	344.21911	10.993
苯乙酮	Acetophenone	C8 H8 O	120.05731	11.773
丙二酸二丁酯	Dibutyl ethylmalonate	C13 H24 O4	244.16691	8.848
二羟基十八酸	9,10-Dihydroxystearic acid	C18 H36 O4	316.26061	16.971
10-羟基癸烯酸	10-hydroxy-2-decenoic acid	C10 H18 O3	186.12537	11.704
十八碳四烯酸	Moroctic acid	C18 H28 O2	276.2083	14.511
癸二酸二丁酯	Dibutyl sebacate	C18 H34 O4	314.24495	15.982
丙二酸二丁酯	Dibutyl ethylmalonate	C13 H24 O4	244.16694	8.151
邻苯二甲酸二(2-乙基己)酯	Bis(2-ethylhexyl) phthalate	C24H38O4	390.27625	21.53
芥酸酰胺	Erucamide	C22H43NO	337.33379	25.667
磷酸三乙酯	Triethyl phosphate	C6H15PO4	182.07065	10.337
邻苯二甲酸单乙基己基酯	Mono(2-ethylhexyl) phthalate (MEHP)	C16 H22 O4	278.15169	17.452
双羟基乙磺酸	2,2-Dihydroxyethanesulfonic acid	C2 H6 O5 S	141.99324	1.103
2-(2-正丁氧基乙氧基)乙酸乙酯	2-(2-Butoxyethoxy)-ethyl acetate	C10 H20 O4	204.13612	9.615
苯二甲酸	Terephthalic acid	C8 H6 O4	166.02641	7.353
庚酸	Heptanoic acid	C7 H14 O2	130.09931	9.288

Reference

- [1] G. Kaushal, Stability-indicating HPLC method for the determination of the stability of oxytocin parenteral solutions prepared in polyolefin bags, Drug Discoveries & Therapeutics, (2012).
- [2] D. Jenke, Compatibility of Pharmaceutical Products and Contact Materials - Safety Considerations Associated with Extractables and Leachables, Wiley, 2009.



赛默飞
官方微信

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

ThermoFisher
SCIENTIFIC