

作者

Padmaja Prabhu

PerkinElmer, Inc.
Shelton, CT USA

五氟苄羟胺衍生 静态顶空GC/MS法 定量测定药物辅料 中的甲醛

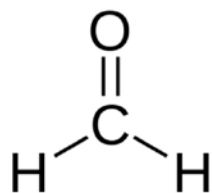


图1 甲醛分子结构图

简介

虽然认为药物是惰性的，但有研究表明药物辅料与活性物质之间的相互作用仍明显的影响了药品的安全和效用，因此人们了解最终药物剂量中辅料和活性成分（API）之间相互作用的意识不断加强。主要关注领域之一是辅料中的杂质与药物分子之间潜在化学反应导致反应物的产生，即使痕

量的反应杂质也能够引起药物明显的稳定性问题，因为就重量和摩尔质量而言，辅料远超过API。痕量的反应产物也很容易超过多数药品关于降解产物低于0.2%的限量要求。辅料中的甲醛能够与药品降解产物中的初级和/或二级胺基团形成聚合物。也有报道指出，甲醛能够导致胶囊凝胶键合，从而引起药物体外分解的不利效果。由于醛类物质极高的活性，在药物的配方设计过程中，及时评估辅料中醛类物质的存在，对避免后续药物研发过程发生无法预料的稳定性问题至关重要。

本应用文献建立了辅料中甲醛定量测定方法，为药物配方的设计提供了独特的见解。本文基于PFBHA的衍生，使用静态顶空气相色谱（SHS-GC）电子轰击（EI）质谱联用仪，采用全扫描和选择离子扫描（SIM）同时监测。该方法可用于筛查辅料中的甲醛。

甲醛是无色具有刺激性气味的气体（图1），具有挥发性，分子量为30amu，沸点低（-21 °C）。由于甲醛的易挥发性，各种基体样品中的甲醛可采用顶空方法很容易的测定，且准确度高。

试验

本应用文献使用PerkinElmer Clarus® 680气相色谱仪，Clarus质谱仪和TurboMatrix™顶空40系统。表1,2,3提供了GC/MS、顶空的仪器操作参数，仪器的连接、数据分析和报告由PerkinElmer TurboMatrix™数据系统完成。

储备溶液：称取20mg的甲醛置于100mL的容量瓶中，用瓶装水定容至刻度，制备200µg/mL的甲醛储备溶液。

溶液A：取5mL的储备溶液用瓶装水稀释至100mL，得到浓度为10µg/mL的溶液。

溶液B：5mL的溶液A用瓶装水稀释至100mL，得到浓度为0.5µg/mL的溶液。

内标物质（I.S.）：称取50mg环己酮于50mL的容量瓶中，用瓶装水稀释至刻度，得到浓度1000µg/mL的溶液。取10mL的1000µg/mL的环己酮溶液用瓶装水稀释至250mL后，再移取20mL用瓶装水稀释至1000mL。该I.S.溶液用于稀释校准溶液和制备样品溶液。

PFBHA溶液：100mgPFBHA使用瓶装水溶解，并且分别移取1mL与顶空瓶中，用于衍生样品和标准溶液中的甲醛。

校准曲线：改变移取0.5µg/mL甲醛溶液（溶液B）的体积，用瓶装水稀释，得校准溶液，见表4所示。每一个样品瓶中加入1mL的PFBHA衍生，然后在每个样品瓶中加入1g的NaCl，降低甲醛和水的混溶性，并增加顶空的平衡。

表1 GC分析条件

仪器	PE Clarus 680气相色谱仪
分析色谱柱	PE Elite -5 MS (30 m,0.25 mm 内径, 0.25 µm 膜厚)
气体流速	1.2mL/min,He恒流模式
进样口温度	190°C
分流比	5:1
炉温	50°C保持3min, 7°C/min到150°C保持5min,40°C/min升至280°C保持5min, 运行时间为20min

表2 HS分析条件

仪器	TurboMatrix HS-40	
温度	加热器	60°C
	针	100°C
	传输线	130°C
时间	进样	0.2min
	加压	0.5min
	Withdrawal	0.2 min
	平衡	20min
	循环	20min
	Options	顶空瓶放空
	振摇	ON
	操作模式	Constant
	进样模式	Time
	Hi psi injection	ON
PPC	进样	25psi
	柱/顶空压力	25psi

表3 MS条件

仪器	PE Clarus 质谱仪
离子源温度	200°C
传输线温度	200°C
扫描范围	m/z40-380
SIM模式: 监测离子	178,181,197
扫描时间	7.5-30min
倍增电压	550

表4 校准曲线的浓度梯度

校准梯度	甲醛浓度ppb	加入标准溶液的体积mL	最终体积mL
1	10	2(溶液B)	100
2	20	4(溶液B)	100
3	30	0.6(溶液A)	100
4	40	0.8(溶液A)	100
5	50	1.0(溶液A)	100

每个顶空瓶中加入1gNaCl

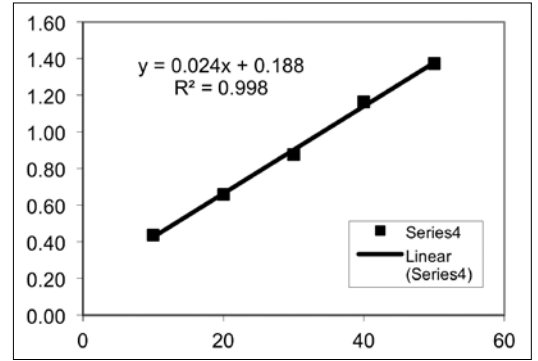


图2 甲醛校准曲线

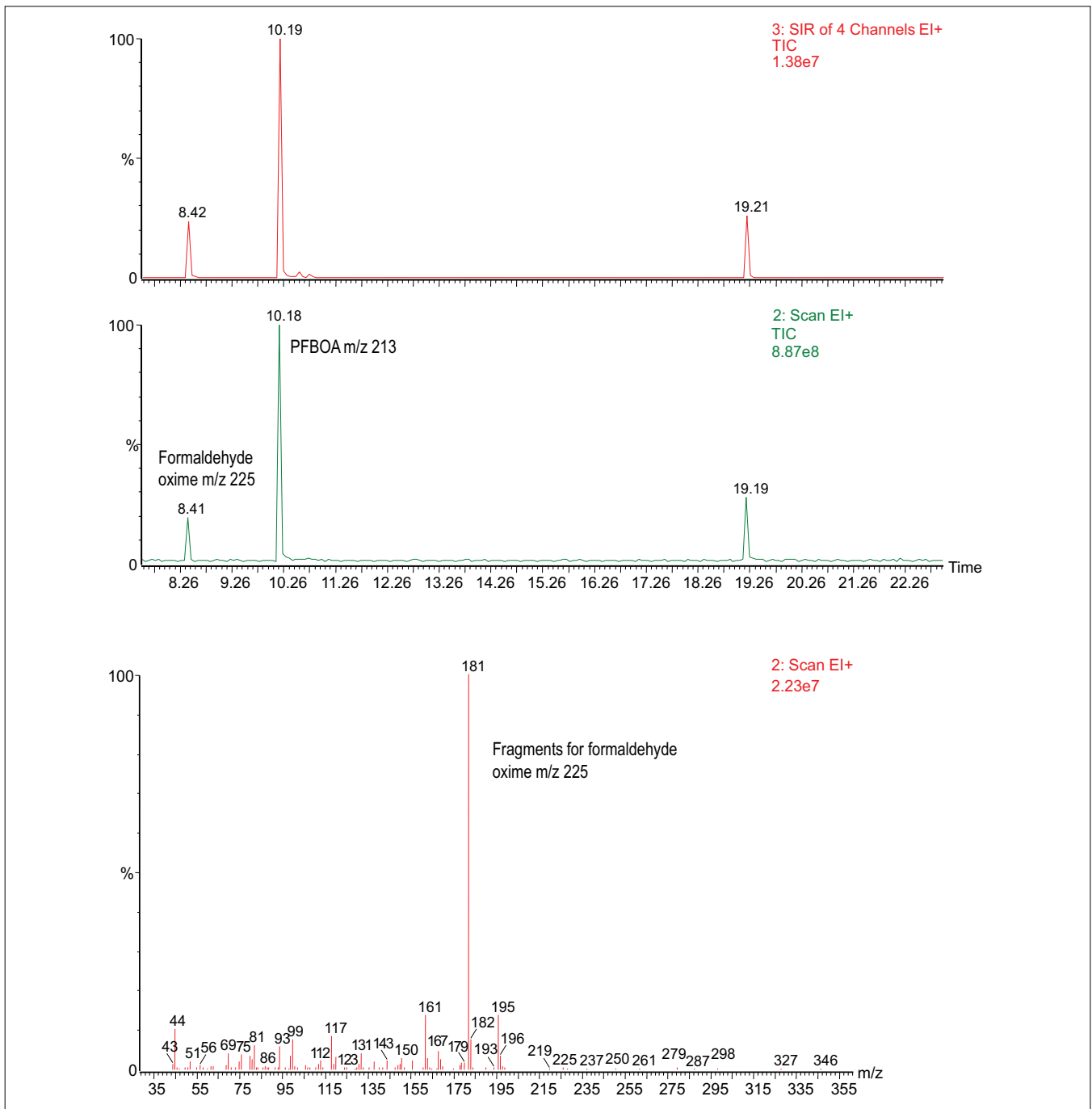


图3 甲醛标准品色谱及质谱图

校准：以浓度范围为10.0-50ppb的甲醛作为校准溶液，每个校准点运行3次，以计算系统精密度。甲醛校准曲线见图2，甲醛线性相关系数的平方为0.998。在线性范围内，方法精密度很好，相对标准偏差见表5所示。标准溶液的分析色谱图见图3所示，保留时间8.41min的化合物是甲醛肟，未反应的PFBOA出峰时间为10.82min。

表5 3个线性点的%RSD

甲醛浓度ppb	峰面积比平均数 (n=3)	RSD%
10	0.44	9.23
20	0.66	4.42
30	0.88	6.29
40	1.17	10.76
50	1.37	9.77

试验采用5ppb的标准溶液测定方法精密度，该方法的检测限约为5ppb，RSD19.30%。

样品制备

从当地的制药公司(Getz Pharma®, India)获得Plasdone, pregelatinised starch, povidone, polyethylene glycol (PEG-400), microcrystalline cellulose 和lactose样品。顶空样品制备非常简单，分别称取上述样品各 (0.05g-2g) 于不同的顶空瓶中，再分别加入10mL的I.S.溶液，1gNaCl和1mLPFBOA溶液。样品瓶在顶空条件下加热并分析。所有的样品现用现配，并立刻进行分析。

方法确认

通过10,20,30ppb三个浓度水平的加标来测定该方法的回收率。回收率值见表6所示，结果表明顶空技术可定量的分析溶液基质中的甲醛。

表6 方法确证试验总结

线性:	10.0ppb-50ppb甲醛
RSD:	10ppb为9.23%
检测限:	5.0ppb
定量限:	10.0ppb
回收率试验:	3个浓度水平为80-120%

结果与讨论

应用文献建立的SHS-GC/MS法可用于测定6种普通的药物辅料样品，有报道指出该6种辅料中含有醛类物质。检测结果显示，PEG-400中含有最高浓度的甲醛，为3.5ppm。表7为样品测定结果，样品分析的代表色谱和质谱图见图4所示。

表7 药物辅料测定结果

样品序号	样品名称	测定甲醛的含量 (ppm)	回收率
1	Plasdone	2.2	81.37-108.66
2	Pregelatinised starch	1.2	91.33-112.86
3	Povidone	0.5	92.43-95.34
4	PEG-400	3.5	76.63-111.15
5	Microcrystalline cellulose (MCC)	0.3	93.28-104.46
6	Lactose monohydrate	0.5	99.16-104.46

在选择辅料中低分子量甲醛的分析技术之前，已经考虑到了方法灵敏度（检测限）的目标水平，该灵敏度与辅料的反应有关。由于醛类化合物种类及与之反应药品之间的确切关系未知，并且两者在药物配方中的具体关系未知，所以假定希望检测限是非常好糟糕的事情。在药品配方中辅料和API的重量比超过100:1是不寻常的，对分子质量为500的小分子API，辅料中醛类物质的含量为1µg/g就可导致甲醛产物的含量超过ICH指南0.2%的最低限量值。因此辅料中低分子量的醛类物质总量为1µg/g作为阈值是合理的。

PFBHA衍生的一个主要优势是可以在溶液中完成，符合顶空分析的要求，且使用水作为基质通常具有非常干净的背景。

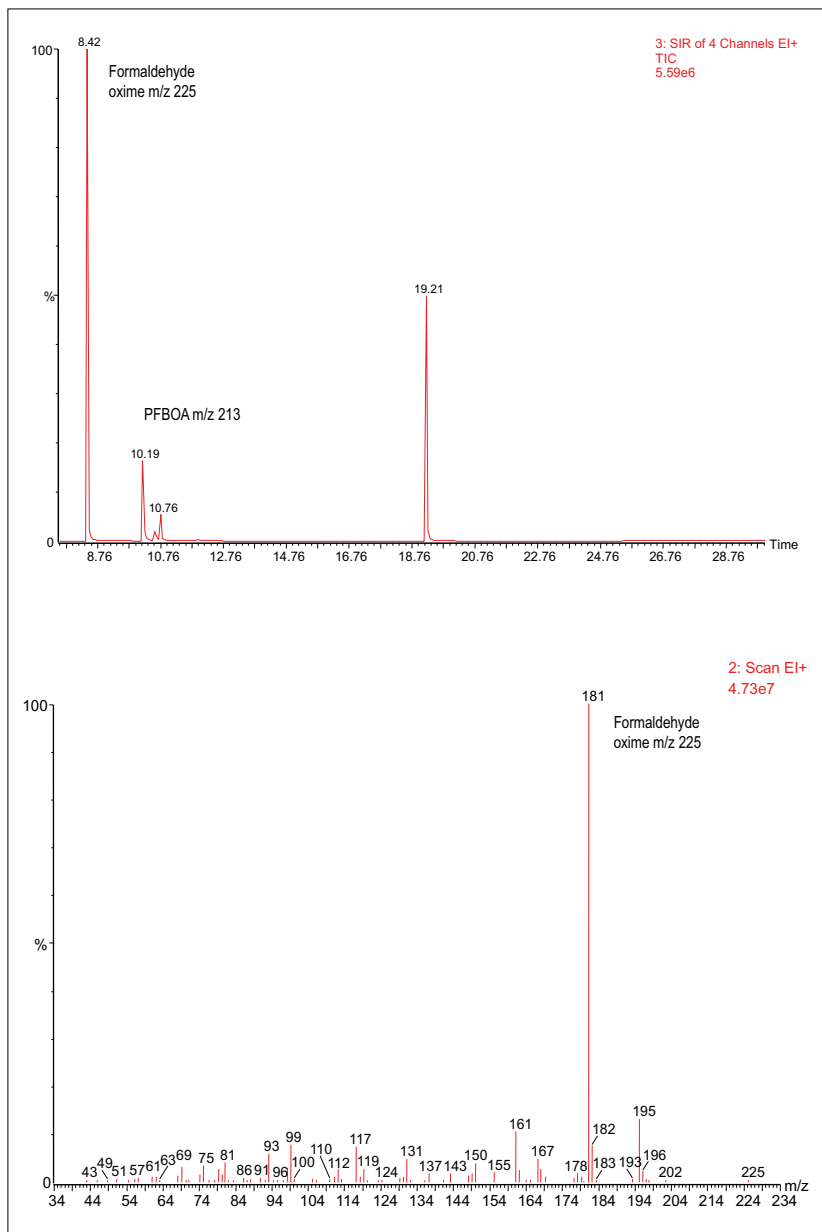


图4 样品色谱及质谱图

结论

该应用文献建立了使用SHS-GC/MS简单有效分析药物辅料中甲醛的方法，方法快速、可靠，可用于分析大多数常规药用辅料中低分子量的醛类物质的定量分析。在1-50ppb浓度范围内甲醛具有很好的线性。该方法使用从当地药厂获得的一些实际样品进行确证，加标回收率在80-120%之间。通过GC和MS联用，甲醛肟不仅通过保留时间匹配进行鉴定，且通过质谱棒图的谱库搜索确证。

参考文献

1. Excipient Toxicity and Safety, M.L. Weiner, L.A. Kotkoskie, Marcel Dekker, New York, 1999.
2. Journal of Chromatography, Volume A 1104, Issues 1-2, Pages 1-384 (February 2006), Detection and Quantification of Low-molecular Weight Aldehydes in Pharmaceutical Excipients by Headspace Gas Chromatography, Zhong Li, Laura K. Jacobus, W. Peter Wuelfing, Mary Golden, Gregory P. Martin and Robert A. Reed.
3. ICH Harmonized Tripartite Guidelines, Q3B, Impurities in New Drug Products.

PerkinElmer, Inc.

珀金埃尔默仪器（上海）有限公司

地址：上海张江高科园区李冰路67弄4号

邮编：201203

电话：800 820 5046 或 021-38769510

传真：021-50791316

www.perkinelmer.com.cn



要获取全球办事处的完整列表，请访问<http://www.perkinelmer.com.cn/AboutUs/ContactUs/ContactUs>

版权所有 ©2012, PerkinElmer, Inc. 保留所有权利。PerkinElmer® 是PerkinElmer, Inc. 的注册商标。其它所有商标均为其各自持有者或所有者的财产。