

Triple Quad™ 4500在橡胶塞3种硫化剂检测中的应用

Detection of Three Vulcanizing Agents in Rubber Plug by Triple Quad™ 4500

陈西¹、程海燕¹、李立军¹、郭立海¹、王刚²

Chen Xi¹、Chen Haiyan¹、Li Lijun¹、Guo Lihai¹、Wang Gang²

¹, SCIEX亚太应用支持中心, 上海; ², 四川省食品药品检验检测院

Key words: Rubber Plug, Vulcanizing Agent, PBP, PAP, POP, LC-MS/MS, MRM

仪器设备

背景

药品与包装容器的相容性涉及产品安全, 一直为药品监管部门高度关注, 也是药品研发及生产企业亟待了解并进行研究的内容。橡胶因其良好的化学稳定性、弹性、热稳定性和阻隔性, 常用于制作各种注射液及注射用混悬液包装的胶塞。为了保证胶塞的良好性能, 常添加多种橡胶助剂, 如抗氧化剂、硫化剂、硫化促进剂、活性剂等, 但在一定程度上增加了胶塞与药品的相容性风险^[1]。目前药用胶塞使用的硫化剂有硫磺、含硫化合物和树脂类^[2]。树脂类硫化剂常用品种是苯酚甲醛树脂, 如叔丁基苯酚甲醛树脂和叔辛基苯酚甲醛树脂等。实际生产过程中, 该类硫化剂中可能有未反应的单体苯酚残留, 胶塞在与药品接触时, 此类单体可能迁移出来, 从而影响药品的安全性和有效性。据报道, 此类叔丁基苯酚有中等毒性, 对皮肤、粘膜、眼睛有刺激性^[3], 对水生生物有毒, 可能对水体环境产生长期不良影响。

本文结合橡胶塞生产实际情况, 建立了三种常用的苯酚甲醛树脂类硫化剂的单体苯酚: 4-叔丁基苯酚(PBP)、4-叔戊基苯酚(PAP)和4-叔辛基苯酚(POP)的LC-MS/MS定量方法(图1), 并应用于实际样品的测定。该方法在SCIEX ExionLC™和Triple Quad™ 4500质谱系统基础上建立, 灵敏度高、分析时间短、重复性好, 定量下限可达fg级别, 可以为橡胶塞中硫化剂的监测提供参考。

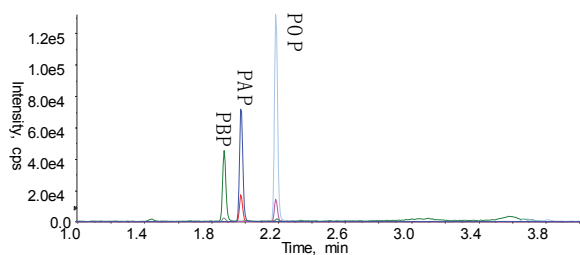


图1. 3种硫化剂单体典型色谱图。



图2. SCIEX ExionLC™液相系统 + Triple Quad™ 4500质谱系统

实验方法

液相条件:

色谱柱: Phenomenex Kinetex C18, 2.6 μm, 3.0 mm × 50 mm;

流动相: A相: 0.01% 氨水

B相: 甲醇 - 乙腈 (1:1)

流速: 0.5 mL/min;

柱温: 40 °C;

进样量: 5 μL;

洗脱程序:

Time(min)	A (%)	B (%)
0.00	90	10
1.50	5	95
3.00	5	95
3.10	90	10
5.00	90	10

质谱方法

离子源: ESI 源, 负离子模式

气帘气 CUR: 35 psi

碰撞气 CAD: 8

IS 电压: -4500 V

源温度 TEM: 450 °C

雾化气 GS1: 35 psi

辅助加热气 GS2: 65 psi

表1. 三种待测物离子对信息。

化合物名称	母离子	子离子	DP	CE
PBP	149.0	133.0	-80	-30
		93.0	-80	-50
PAP	163.0	133.0	-75	-39
		117.0	-75	-62
POP	205.0	133.0	-95	-32
		117.0	-95	-80

样品前处理

橡胶塞, 剪碎, 混匀, 取直径不大于 50 mm 的橡胶塞颗粒 0.5 g, 精密称定, 至于 15 mL 离心管中, 加入纯水 (或乙醇) 5 mL, 置 37 °C 烘箱, 72 h 后取出, 用 0.22 μm 微孔过滤膜过滤, 取续滤液进样测定^[4]。

试验结果

定量下限及线性范围

用纯乙醇逐级稀释硫化剂混合标准工作溶液至 0.03, 0.1, 0.3, 1.0, 3.0, 10.0, 30.0, 100.0 ng/mL 分别进样分析, 以峰面积对浓度做线性回归, 权重系数: 1/x。各待测物检测限为 0.03 ng/mL, 定量限为 0.1 ng/mL (图 4); 在 0.1-100 ng/mL 范围内线性相关系数均大于 0.9996 (图 3)。

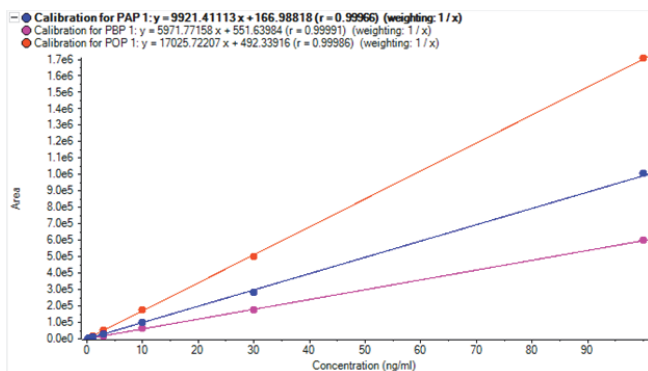


图3. 三种待测物的标准曲线和相关系数。

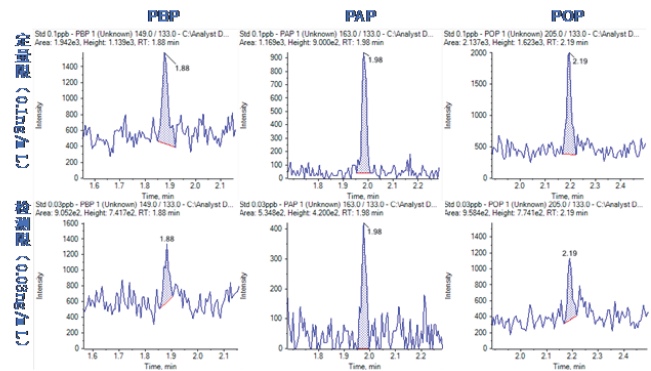


图4. 待测物检出限 (0.03 ng/mL) 及定量限 (0.1 ng/mL) 色谱图。

加标回收

取 2、3、4 号样品乙醇提取液混合, 作为空白, 加标浓度为 2、20 和 100 ng/mL, 平行制备四份, 进行测试, 考察方法可靠性。结果见表 2。三种待测物的三个不同浓度样品的平均回收率在 91.0-99.1% 之间, 平行样品的 RSD% 在 0.64-2.93% 之间, 回收率和 RSD% 均满足测试要求。

表2. 三种待测物低、中、高三个浓度加标回收率结果 (n=4)。

Compound	2 ng/mL		20 ng/mL		100 ng/mL	
	Recovery (%)	RSD (%)	Recovery (%)	RSD (%)	Recovery (%)	RSD (%)
PBP	99.1	2.43	93.1	1.53	97.5	1.64
PAP	96.8	2.93	94.4	1.60	98.2	0.64
POP	91.0	2.37	96.4	2.42	98.4	1.18

重复性

用纯乙醇逐级稀释混合标准工作溶液至 0.3, 3.0, 30.0 ng/mL, 分别连续进样 6 针, 考察方法重复性, 结果见表 3。

表3. 待测物在3个不同浓度的重复性结果 (RSD%, n=6)。

Sample	PBP	PAP	POP
0.3 ng/mL	3.82	3.19	3.97
3 ng/mL	1.74	1.67	1.84
30 ng/mL	0.89	0.87	0.98

样品测试

分别取四种不同来源橡胶塞, 按上述前处理方法进行处理, 检测结果见表 4, 谱图结果见图 5。

表4. 四种不同橡胶塞样品的检测结果 (ng/g)。

Sample	PBP	PAP	POP
水 -1	5.59	0.80	9.20
水 -2	5.54	2.15	7.68
水 -3	5.09	2.39	6.85
水 -4	2.24	0.73	7.32
乙醇 -1	8.76	3.97	5695.80*
乙醇 -2	8.16	8.05	67.15
乙醇 -3	5.09	8.21	14.63
乙醇 -4	8.23	5.85	152.64

* 乙醇提取的 1 号样品, 由于浓度太大, 用乙醇稀释 20 倍后进样测定。

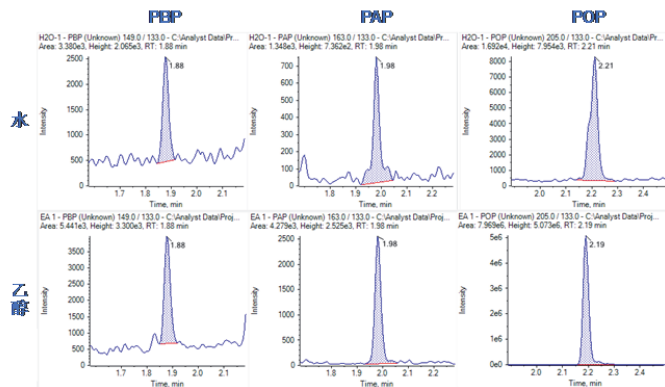


图5. 样品测试结果典型图谱 (样品1)。

总结

1. 本文使用SCIEX Triple Quad™ 4500建立了LC-MS/MS方法测定药用胶塞中3种硫化剂单体的含量。结果表明, 该方法的灵敏度高, 无明显基质干扰; 在0.1-100 ng/mL的极宽范围内有良好的线性关系, 相关系数大于0.9996。低、中、高浓度加标回收率以及重复性均良好。
2. 从测试结果来看, 四种样品均不同程度含有三种硫化剂单体, 其中1号胶塞含量最高; 三种单体中4-叔辛基苯酚 (POP) 在1号胶塞的乙醇提取液中检出量最高, 达5695.80 ng/g。
3. 从两种提取介质的提取浓度比较可以看出, 三种化合物均在极性较弱的乙醇中更容易迁移。

参考文献

1. Corredor C, Tomasella FP, Young J. Drug interactions with potential rubber closure extractables. Identification of thiol-disulfide exchange reaction products of captopril and thiram. J Chromatogr A, 2009, 1216(1): 43-48
2. 李立根, 张毅兰. 药用胶塞及其与药品的相容性简述[J]. 中国医药工业杂志 2015, 46(12)
3. 李立根, 吴莹, 张毅兰. 药用胶塞硫化剂对叔辛基苯酚甲醛树脂中对叔辛基苯酚的测定[J]. 中国医药工业杂志2016, 47(5)
4. GB/T 16886.12-2005 医疗器械生物学评价



SCIEX中国
官方微信



SCIEX
客户服务



SCIEX
毛细管电泳

For Research Use Only. Not for use in Diagnostics Procedures.

AB Sciex is operating as SCIEX.

© 2018. AB Sciex. The trademarks mentioned herein are the property of AB Sciex Pte. Ltd. or their respective owners. AB SCIEX™ is being used under license.

RUO-MKT-02-8850-ZH-A



SCIEX中国公司

北京分公司
地址: 北京市朝阳区酒仙桥中路24号院
1号楼5层
电话: 010-5808 1388
传真: 010-5808 1390
全国免费垂询电话: 800 820 3488, 400 821 3897

上海公司及亚太区应用支持中心
地址: 上海市长宁区福泉北路518号
1座502室
电话: 021-2419 7200
传真: 021-2419 7333
网址: www.sciex.com.cn

广州分公司
地址: 广州市天河区珠江江西路15号
珠江城1907室
电话: 020-8510 0200
传真: 020-3876 0835
微博: @SCIEX