

Andreas Fankhauser

Bachelor-Thesis, Molecular Life Science, Analytik

Auftraggeber: Bernhard Burn, Interlabor Belp AG
Expert/in: Dr. Markus Ehrat, EK Biosciences GmbH
Begleitdozent/in: Prof. Dr. Götz Schlotterbeck, FHNW

ZUSAMMENFASSUNG

Um die Gesundheit von Patienten zu schützen ist es notwendig, dass Analysen von pharmazeutischen Primärpackmitteln durchgeführt werden. Aus diesem Grund wurden in der vorliegenden Bachelorarbeit Screening-Methoden für die Analyse von Leachables und Extractables entwickelt. Dabei wurden Leachables und Extractables identifiziert, welche mit UPLC/DAD analysiert werden können. Mit den identifizierten Analyten konnten UPLC/DAD Methoden entwickelt werden, welche für die Detektion mit ESI/HRMS respektive APCI/HRMS verwendet werden können. Nachdem die Robustheit der Methode bestimmt wurde, konnten die UPLC Methoden auf das UPLC/HRMS transferiert werden. In einem weiteren Schritt konnten die Analyten identifiziert werden, welche mit ESI respektive APCI ionisiert werden können. Schlussendlich konnten die UPLC/HRMS Methoden erfolgreich an verschiedenen Kunststoffproben angewendet werden.

EINLEITUNG

Die Verwendung von Kunststoffen hat in der heutigen Zeit eine hohe Bedeutung. So auch als Primärverpackungsmaterialien bei Pharmaprodukten. Besonders bei flüssigen Formulierungen können Substanzen aus den Primärverpackungsmaterialien herausgelöst werden. Bei den herausgelösten Substanzen handelt es sich um Additive, Abbauprodukte und Monomere welche bei der Herstellung der Kunststoffe verwendet werden respektive entstehen. Wird der Begriff Leachables verwendet, so handelt es sich um die Substanzen welche bei normaler Lagerung und normalem Gebrauch aus dem Primärverpackungsmaterial herausgelöst werden. Bei den Extractables handelt es sich um die Substanzen welche bei bestimmten Laborbedingungen ausgewaschen werden [1] [2].



Abb. 1: Beispiele einiger Kunststoffverpackungsmaterialien der Pharmaindustrie

Für die Methodenentwicklung standen die UPLC/DAD und UPLC/HRMS Analysetechniken zur Verfügung. Für die Trennung der Analyten ist eine hohe Bodenzahl und Peakkapazität notwendig. Deshalb ist die Verwendung einer UPLC Anlage unumgänglich. Das hochauflösende Massenspektrometer wird eingesetzt, da in einem späteren Zeitpunkt auch Analyten (teil)identifiziert werden sollen, welche nicht in den Standardlösungen vorhanden sind. Dafür ist ein Massenspektrometer nötig, das exakte Massen liefert.



Abb. 2-4: Verwendete Analysegeräte: Waters Synapt G2 HRMS; Thermo Vanquish UPLC; Waters Acquity UPLC (von links nach rechts)

RESULTATE

In einem ersten Schritt konnten 65 Substanzen aus dem Anhang 1 der EU-Verordnung 10/2011 und dem Buch «Compatibility of pharmaceutical products and contact» identifiziert werden. Dabei handelt es sich um Substanzen, welche aus Kunststoff herausgelöst werden können. Zusätzlich sind die Substanzen UV-

aktiv und können mit der UPLC Analysetechnik analysiert werden. Danach wurden drei UPLC/DAD Methoden entwickelt, die je nach Methode 45 bis 47 der identifizierten Substanzen auftrennen und detektieren können. Die Robustheitsuntersuchung der drei Methoden hat gezeigt, dass die UPLC Parameter (pH, Flussrate, Säulentemperatur) nicht variiert werden dürfen, damit auch die kritischen Peakpaare mit einer Auflösung $R \geq 1$ aufgetrennt werden können. Die UPLC Methoden wurden erfolgreich auf das UPLC/HRMS Gerät transferiert. Anschliessend wurde mit dem UPLC/HRMS Gerät die Analyten identifiziert, welche mit ESI und APCI ionisiert werden können. Dabei konnten 41 von 47 Analyten mit ESI, respektive APCI ionisiert werden. Es konnte nicht in jedem Fall nur das Precursor-Ion detektiert werden, wie die Abbildung 6 zeigt.

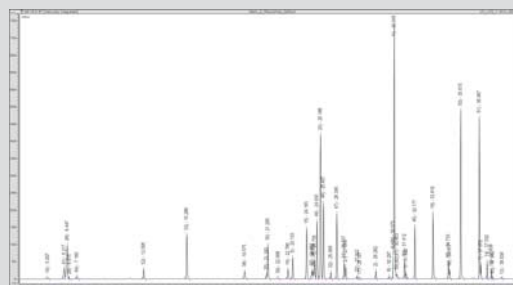


Abb. 5 Chromatogramm von der Auftrennung mit der UPLC Methode 2

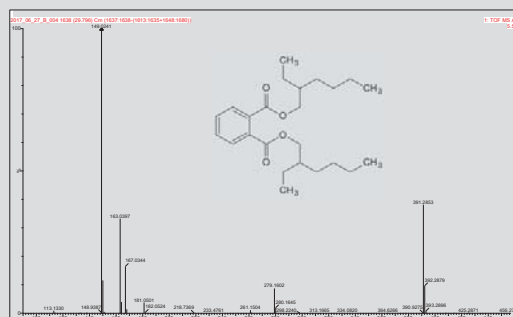


Abb. 6: Massenspektrum des Analyten Bis(2-ethylhexyl)phthalat $[M+H]^+ = 391,2848$. Bei den Massen $m/z = 149, 163$ und 167 handelt es sich um typische Phthalatfragmente aus der In-source-Fragmentierung

Mit den entwickelten UPLC/HRMS Methoden konnten schlussendlich Extractables-Analysen durchgeführt werden.

SCHLUSSFOLGERUNG

Mit den entwickelten UPLC/DAD Methoden kann eine grosse Anzahl von möglichen Leachables und Extractables innerhalb von 40-45 Minuten analysiert werden. Dabei konnten UPLC Methoden entwickelt, welche speziell für die ES- oder APC-Ionisation geeignet sind. Dank den unterschiedlichen Methoden ist es möglich, ein breites Spektrum von unterschiedlichen Analyten mit dem HRMS zu detektieren. Werden die UPLC Methoden für die Detektion mit dem hochauflösenden Massenspektrometer verwendet, können 41 mögliche Leachables/Extractables in Proben identifiziert werden.

REFERENZEN

- [1] D. Jenke, Evaluation of the Chemical Compatibility of Plastic Contact Materials and Pharmaceutical Products; Safety Considerations Related to Extractables and Leachables (2007)
- [2] USP <1664> Assessment of Drug Product Leachables associated with Pharmaceutical Packaging/Delivery System, (2016)