

# 预装式注射器与药物相容性的研究进展

刘小慧<sup>1</sup>,印晖<sup>2</sup>,严方<sup>1,3</sup>,狄斌<sup>1,3\*</sup>

(<sup>1</sup>中国药科大学药学院药物分析系,南京 210009; <sup>2</sup>江苏省医疗器械检验所,南京 210012;

<sup>3</sup>中国药科大学药物质量与安全预警教育部重点实验室,南京 210009)

**摘要** 预装式注射器(PFS)包装的注射液作为一种药械组合产品,近几年得到了迅速的发展。但是,其包装材料与生物药物发生相互作用的可能性很高,因此,有关二者的相容性也成为研究热点。本文就PFS的可提取物和浸出物、安全性评价和相关分析方法等方面的研究进展进行了综述。

**关键词** 预装式注射器;药械组合;生物药物;可提取物;浸出物;相容性;分析方法

**中图分类号** R197.39    **文献标志码** A    **文章编号** 1000-5048(2016)03-0275-07

doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20160304

**引用本文** 刘小慧,印晖,严方,等. 预装式注射器与药物相容性的研究进展[J]. 中国药科大学学报,2016,47(3):275-281.

**Cite this article as:** LIU Xiaohui, YIN Hui, YAN Fang, et al. Compatibility of pre-filled syringes with pharmaceutical products[J]. J China Pharm Univ, 2016, 47(3): 275-281.

## Compatibility of pre-filled syringes with pharmaceutical products

LIU Xiaohui<sup>1</sup>, YIN Hui<sup>2</sup>, YAN Fang<sup>1,3</sup>, DI Bin<sup>1,3\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Pharmaceutical Analysis, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009; <sup>2</sup>Medical Instrument Testing Institute of Jiangsu Province, Nanjing 210012; <sup>3</sup>Key Laboratory of Drug Quality Control and Pharmacovigilance, Ministry of Education, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

**Abstract** Pre-filled syringes are becoming increasingly popular for packaging and delivering system of pharmaceutical products. However, their compatibility with biotherapeutics needs to be carefully assessed. This review highlights and makes critically review on the extractables and leachables, the safety evaluation and analytical methods related to the compatibility study.

**Key words** pre-filled syringe; drug/medical device combination product; biopharmaceuticals; extractables; leachables; compatibility; analytical methods

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81202500)

预装式注射器(pre-filled syringe, PFS)的起源可以追溯到20世纪80年代。目前,全世界已有超过65种药物和疫苗采用预装式注射器作为药品包装<sup>[1]</sup>。与传统的注射液包装(如:冻干粉针和安瓿瓶)相比,PFS具有操作更简便、给药体积更精确、减少吸附和避免二次污染等优势<sup>[2]</sup>。

包装材料直接影响药品的稳定性和安全性,由于注射液给药后直接进入血液系统,且其处方中除

活性成分外还含有一些功能性辅料(助溶剂、防腐剂和抗氧剂等),与包装材料发生相互作用的可能性较大,因此,FDA将注射液列为可能与包装材料发生相互作用的高风险制剂<sup>[3]</sup>。在1998到2002年间,有多名患者在注射阿法依泊汀(EPREX<sup>®</sup>)后出现红细胞发育不全(PRCA)等症状。其可能原因之一为辅料中的吐温80加速了橡胶活塞中芳香化物的浸出,引发一系列用药安全问题<sup>[4]</sup>。由于

采用 PFS 包装的主要生物药物,其本身就具有不稳定的特性,所以二者的相容性研究就显得更加重要。本文从提取研究、相互作用研究和安全性研究 3 个方面,结合应用到的分析方法,综述了 PFS 与药物相容性的研究进展。

## 1 提取研究

提取研究(extraction studies)是指采用适宜溶剂,在较剧烈的条件下,对包装材料进行提取试验。其目的是建立灵敏、专属和可行的分析测试方法,获得包装材料中可提取物的信息<sup>[5]</sup>。

### 1.1 提取溶剂的选择

提取溶剂应综合考虑实验目的、样品材质和分析要求等因素。提取研究可采用极限浸提和模拟浸提两种思路。其中,模拟浸提是很多实验的仲裁方法,一般采取与制剂拥有相同或者相似化学性质(如,pH 和极性)的溶剂作为提取溶剂<sup>[6]</sup>。溶剂的 pH 和极性会直接影响可提取物的浓度和种类。比如,与酸性溶剂相比,碱性溶剂更有利于有机酸、硅油和金属离子的浸出<sup>[2]</sup>。理论上,最佳的提取溶剂是制剂或不含药的空白制剂<sup>[7]</sup>。但是,由于可提取物浓度低,制剂中的辅料常常会干扰测定。所以,必须考虑提取溶剂与分析方法的兼容性。例如,测定可提取物的总有机碳量(TOC)时,必须使用无机缓冲盐溶液(如,磷酸盐缓冲液)作为提取溶剂。对于溶剂极性的选择,Jenke 等<sup>[8]</sup>建立了一种模型,用于确定提取溶剂(如,乙醇-水)中有机相的比例,以模拟制剂的极性。

上文提到,EPREX® 中的吐温 80 能够加速橡胶活塞中芳香化合物的浸出<sup>[4]</sup>,所以提取试验也应考虑辅料对提取结果的影响<sup>[2]</sup>。Zhou 等<sup>[9]</sup>发现提取到的金属离子浓度与提取溶剂中金属螯合剂以及蛋白质的浓度在一定范围内成正比。

### 1.2 提取方法和提取条件的确定

常用的提取方法有:回流提取、索氏提取、超声萃取和微波萃取。一般情况下粉碎包装材料和增加包装材料的加入量,可以提高提取效率。其次,应根据提取溶剂种类和可提取物类型,选择合适的提取方法和容器。例如,当水溶液作为提取溶剂时,就不宜采用加热回流和索氏提取法;当提取有机物时,应使用玻璃容器;提取无机物(如,金属)

时,应使用聚四氟乙烯容器,避免提取容器中的可提取物干扰结果。此外,为解决超声提取时超声对于温度带来的影响,Jenke 等<sup>[6]</sup>采用 0 ℃ 冰水浴进行温控。

同时,提取试验需要模拟产品在整个货架期可能遇到的各种接触条件,如高温、振摇和搅拌等。由于提取试验的目的是加速浸出物的累积过程,而非获得稳定性试验过程中根本不会出现的浸出物的相关信息。因此,过于剧烈的提取条件不利于后续的安全性评价<sup>[10]</sup>。

### 1.3 可提取物

PFS 中直接接触药品的包装组件包括针管和活塞。目前,市售针管的材质主要为玻璃和塑料。其中,塑料针管以其不易碎和质量轻等优点,得到广泛使用<sup>[2]</sup>。常用的塑料种类有聚丙烯、环烯烃聚合物(COP)和环状聚烯烃(COC)。活塞的材质主要是橡胶,常见的为溴化丁基橡胶(BIIR)。为了选择合适的分析方法,在提取试验开始前,需明确包装材料的化学组成。常用橡胶和塑料的主要化学组成见表 1。由于组成不同,不同包装材料的可提取物种类和含量均有较大差异。美国药品质量研究会(PQRI)通过提取试验得到 5 种常见注射剂和眼用制剂(PODP)的包装材料(包括橡胶和COC 塑料)在不同提取溶剂和提取条件下的可提取物信息<sup>[6]</sup>。玻璃针管可提取物中硅、钠和铝的含量是塑料针管的几十甚至几百倍<sup>[11]</sup>。橡胶可提取物的 TOC 远高于塑料和玻璃;聚丙烯塑料可提取物的 TOC 远高于其他 3 种针管材料<sup>[12]</sup>。Jenke 等<sup>[13]</sup>将塑料中大约 510 种可提取物,进行安全性分类,便于研究者根据得到的可提取物信息选择合适的包装材料。

表 1 橡胶和塑料的主要化学组成<sup>[14]</sup>

材料	组成	含量/%
(BIIR)	溴化异丁烯-异戊二烯共聚物	57.3
	煅烧硅酸铝	38.2
	二氧化钛	1.2
	氧化锌	0.6
	聚乙烯	0.6
	碳黑	0.4
	煅烧氧化镁	0.3
	吗啉/聚异丁烯	0.3
(COC)	抗氧剂 Irganox 1010	-
	群青蓝	-

## 2 相互作用研究

### 2.1 迁移研究

2.1.1 迁移试验与提取试验的相关性 迁移试验 (migration studies) 一般选择该药品上市包装的最高浓度, 在加速和长期稳定性试验的条件下进行, 采用提取研究中所建立的分析方法对浸出物进行测定, 目的是检测真实的浸出物信息, 并据此进行安全性评价。通常, 可提取物 (extractables) 指提取研究中包装材料在提取溶剂中可能溶出的物质; 浸出物 (leachables) 指通过迁移研究获得的从包装材料中迁移或因此而产生并进入药品中的物质<sup>[5, 15]</sup>。浸出物与可提取物的关系可能是直接的, 即浸出物结构与可提取物结构相同; 二者关系也可能是间接的, 例如, 硬脂酸与制剂中的乙醇反应, 最终以硬脂酸乙酯的形式出现在浸出物中<sup>[16]</sup>。

2.1.2 浸出物 由于截至 2012 年, 市售预装式注射器中, 塑料针管只约占市场份额的 0.5%<sup>[2]</sup>, 所以, 有关塑料针管浸出物的报道甚少。文献报道最多的浸出物仍是玻璃针管中的硅油和钨, 这两种物质均可能引起蛋白质聚集或变质, 从而引发安全性问题。

在玻璃注射器内腔成型过程中, 需要使用钨针。高温条件下, 钨会被氧化并残留在玻璃内壁上, 影响制剂的稳定性<sup>[17]</sup>。Seidl 等<sup>[18]</sup> 在两批引起 PRCA 的促红细胞生成素产品中检测到钨。推测其引起免疫反应的原因有两种: 第一, 多钨酸钠使蛋白质聚集为二聚体, 成为免疫原; 第二, 多钨酸钠与蛋白质快速、可逆的结合, 改变蛋白质二级结构, 导致糖蛋白展开, 新的表位暴露, 引起免疫反应。钨的存在形式与蛋白质的聚集也有着密切关系。在酸性溶液中, 钨及其氧化物以多钨酸根阴离子的形式存在<sup>[19]</sup>, 与简单的阴离子相比, 更易引起蛋白质的聚集<sup>[11]</sup>。Mensch 等<sup>[20]</sup> 发现十六烷基三甲基溴化铵 (CTAB) 可抑制钨介导的单克隆抗体聚集反应。另外, 通过调节注射液的 pH、蛋白质浓度和离子强度等方式, 也可以有效地减少残留钨对生物药物稳定性的影响<sup>[19]</sup>。

硅油, 即聚二甲基硅氧烷 (PDMS), 作为润滑剂, 被用于 PFS 的针管中, 以方便活塞的移动。药物与针管内壁直接接触, 在货架期内一直暴露在有硅油的环境中, 运输过程中的振动以及温度变化,

均可能加速硅油迁移进入注射液<sup>[19]</sup>。虽然大量稳定性试验结果和数十年的使用历史表明, 硅油本身拥有良好的生物相容性, 但仍不能忽视其对药物稳定性的影响, 尤其是生物药物<sup>[21]</sup>。首先, 硅油在注射液中形成油滴, 增加了注射液的不溶性微粒数目<sup>[19]</sup>。而且, 硅油作为佐剂 (adjuvant), 增强了蛋白质药物的免疫原性<sup>[22]</sup>; 其次, 蛋白质会快速吸附在硅油-水界面, 形成一层薄膜, 当搅拌产生气泡, 蛋白质则暴露在油-水、油-气、气-水的三相交叉点, 发生聚集<sup>[23]</sup>。Majumdar 等<sup>[24]</sup> 研究发现, 使用有硅油针管会加速蛋白质的聚集, 而使用有 BD-42 涂布的针管却可以降低蛋白质发生聚集的概率。需要说明的是, 上述研究试验中, 硅油的浓度均高于其用于临床的实际浓度。

### 2.2 吸附研究

吸附试验 (sorption studies) 主要针对微量、治疗窗窄、结构上存在易与包装材料发生吸附的官能团, 以及处方中含有微量的功能性辅料的药物。通常选择该药品加速和长期试验条件进行, 主要对药品及拟考察辅料的含量进行检查<sup>[15]</sup>。蛋白质和多肽类药物尤其容易吸附在玻璃上<sup>[25-26]</sup>, 导致药物浓度减小或蛋白质变性发生聚集<sup>[27]</sup>。在制剂中加入表面活性剂 (如, 吐温 80) 或牛血清蛋白 (BSA) 是减少药物吸附的常用方法<sup>[28]</sup>。另外, 使用硅烷化玻璃和环状聚烯烃塑料也可明显减少药物吸附<sup>[27]</sup>。物质的酸碱性和亲/疏水性与吸附作用关系密切。Jenke 等<sup>[12]</sup> 发现塑料只吸附强亲脂性物质。

对于含量较高的蛋白质药物, 仅测定药物含量的变化往往不能满足吸附试验考察要求。因此, Eu 等<sup>[27]</sup> 将吸附的蛋白质用金纳米粒染色, 通过拉曼光谱进行原位测定。与传统方法相比, 此法的灵敏度和准确度都更高。此外, 还可以通过荧光染料标记的方法对吸附的蛋白质进行定量测定<sup>[25]</sup>。

## 3 安全性评价

一种包装材料中, 会有数百甚至上千种可提取物和浸出物被检出。如果对所有检测到的物质都逐一进行定性和定量研究, 工作量之大可想而知。因此, 建立安全阈值 (safety threshold) 可以帮助研究者们从众多可提取物和浸出物中, 高效地筛选出那些需要进行定性和定量研究的物质<sup>[29]</sup>。

### 3.1 安全阈值

安全性阈值(safety concern threshold, SCT)指当浸出物的水平低于SCT时,其致癌和非致癌的毒性作用及安全影响可忽略不计<sup>[30]</sup>。PQRI根据PODP的特点,对其有基因毒性的浸出物推荐的SCT为1.5 μg/d,对有致敏性/刺激性的浸出物推荐的SCT为5 μg/d<sup>[14]</sup>。对于含有某些特定化学结构的化合物(如,亚硝基、氧化偶氮基和黄曲霉素类似物),即使其水平低于SCT,仍存在较高的致癌风险,需要单独建立专属的分析方法和限度要求<sup>[30-31]</sup>。可采用DEREK或Multicase等软件,对化合物进行构效关系(SAR)评估确认<sup>[32]</sup>。

界定阈值(qualification threshold, QT)指如果浸出物是非致癌物质,当其水平低于QT时,则无需进行安全性界定,除非其含有可能存在致癌性或刺激性的化学警示结构<sup>[30]</sup>。PQRI对于PODP推荐的QT为150 μg/d<sup>[14,30]</sup>。

分析研究者需要根据SCT和每日最大用药剂量等,计算单位包装中某可提取物或浸出物的最大允许含量,作为分析评价阈值(analytical evaluation threshold, AET),其单位为 μg/g<sup>[32]</sup>。理论计算得到是AET估值,但提取和分析方法具有不确定性,如,多步操作会导致测量值低于真实值。因此,研究者通过计算校正因子得到AET终值<sup>[10,30]</sup>,或加入相当于AET浓度的内标,以内标的响应信号作为参照,对可提取物或浸出物进行定量分析。

### 3.2 生物药物的安全性评价

传统的安全性评价常局限于对可提取物和浸出物的毒理学评价,而忽视了其与药物制剂由于相互作用而可能引发的安全性问题<sup>[11]</sup>。蛋白质的相对分子质量大、空间结构复杂、表面积大、反应位点多,加之其既有亲水基团又有疏水基团,可能对浸出物有助溶作用。因此,相比于小分子药物,生物药物发生相互作用的可能性更高<sup>[33]</sup>。

由此可见,如果不能建立浸出物与蛋白质生成免疫原的反应定量关系,那么,即使掌握了浸出物的结构和含量信息,也不能对其进行全面的免疫学评价<sup>[11]</sup>。浸出物除了可以直接作用于蛋白质,如催化氧化反应、聚集反应和形成蛋白质加合物;也可能间接地通过与制剂辅料反应,造成蛋白质沉淀<sup>[14]</sup>,同样应该在研究中给与重视。

在对EPREX<sup>®</sup>不良反应发生原因的调查研究

中,Mueller等<sup>[34]</sup>用柱塞的可提取物刺激树突状细胞,将细胞中CD86分子水平的上调作为一种“危险信号”,结果表明柱塞的浸出物并非导致不良反应的直接因素。据此推断,可能是浸出物诱导蛋白质变质,引发不良反应。

## 4 分析方法

### 4.1 可提取物和浸出物的分析

对于挥发和半挥发性物质,多采用气相色谱(GC)与氢火焰离子化检测器(FID)或质谱(MS)联用进行分析。由于水会损害气相色谱柱,因此以水作为提取剂的样品,需用有机溶剂(如,二氯甲烷)进行萃取和浓缩。萃取时要在pH 2~10之间反复调节溶液的酸碱性,并经多次萃取,以保证酸性和碱性物质都被萃取出来。同时,需要引入内标物,来监控整个处理过程,并对测量结果进行校正<sup>[6]</sup>。另外,包材中极易挥发的化合物,在提取试验中容易损失,需要通过顶空气相色谱法来测定<sup>[6]</sup>。对于非挥发性物质,一般使用反相高效液相色谱(RP-HPLC)与二极管阵列检测器(PDA/DAD)和质谱(MS)联用进行测定。另外,总有机碳(TOC)可以反映可提取物或浸出物的总量<sup>[12]</sup>。范能全等<sup>[35]</sup>应用TOC分析仪测定聚乙烯(PE)和聚丙烯(PP)等药品包装材料中的易氧化物的含量。

对于金属元素的分析,多采用电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS)或电感耦合等离子体发射光谱法(ICP-AES或ICP-OES)。Fujimori等<sup>[36]</sup>建立了用ICP-MS测定玻璃PFS内钨含量的方法,检测限可以低至0.05 ng/L。Zhou等<sup>[37]</sup>应用ICP-MS测定可提取物中铁、铬和镍的含量,线性范围分别为 $1 \times 10^{-9} \sim 5 \times 10^{-7}$ (铁)和 $1 \times 10^{-9} \sim 1 \times 10^{-7}$ (铬和镍)。Jenke等<sup>[6]</sup>用ICP-MS对可提取物中的17种元素进行了半定量分析。Seidl等<sup>[18]</sup>应用ICP-OES测定EPREX<sup>®</sup>注射液中钨和铬等金属元素的含量,铬的检测限为 $5 \times 10^{-8}$ ,其他元素的为 $5 \times 10^{-7}$ 。

### 4.2 蛋白质构象变化的检测

可提取物和浸出物对蛋白质的影响之一是引起其空间构象发生变化,使其失活。目前没有一种分析方法可以全面地检测蛋白质的结构,所以,研究者们会根据研究目的和蛋白质的特性选择合适的分析方法<sup>[38]</sup>。

Jones 等<sup>[39]</sup>应用远紫外圆二色光谱法(CD)和二阶导数紫外光谱法(UV),考察不同温度下硅油(0.5%)对蛋白质二级和三级结构的影响。Yuan 等<sup>[40]</sup>借助蛋白质中色氨酸荧光光谱的变化,研究金属离子( $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 和 $\text{Ag}^+$ )对蒜头果蛋白二级结构的影响。Gerhardt 等<sup>[41]</sup>利用自发射荧光猝灭原理,测定在不同离子强度下,硅油所引起的蛋白质三级结构变化。对于没有芳香族氨基酸的蛋白质,可加入荧光探针[如,8-苯胺基-1-萘磺酸(ANS)]进行测定<sup>[42]</sup>。此外,由于蛋白质二级构象的改变是由不同氨基酸C=O和N-H基团间的氢键变化引起的,因此,最终可以体现在傅里叶变换红外光谱(FTIR)中振动频率的微小改变上<sup>[42]</sup>。

表面等离子共振法(SPR)和等温滴定量热法

(ITC)可以通过测定配体与受体间的相互作用,可以更加准确地监测蛋白质的构象变化,并应用于蛋白质与浸出物(如,钨和硅油)之间的反应动力学的研究<sup>[18]</sup>。

#### 4.3 蛋白质聚集反应的检测

生物药物最主要的稳定性问题是易发生蛋白聚集。Narhi 等<sup>[43]</sup>分别从粒径大小、可逆性、空间构象、共价修饰和形态学这5个层面对蛋白质聚集体进行了分类。其中,最常用的就是按照粒径大小进行分类。这些聚集体的粒径从几纳米到几百微米不等,有些甚至是肉眼可见的沉淀。因此,必须借助多种分析手段(图1)对制剂中不同粒径范围的聚集体进行检测<sup>[44]</sup>。

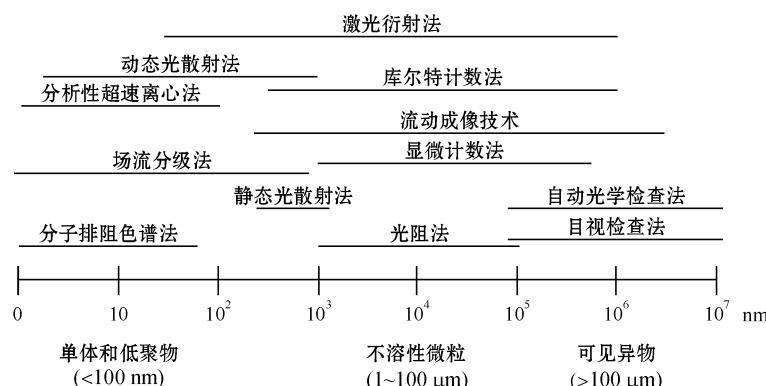


图1 聚集体颗粒的常用分析方法<sup>[44]</sup>

分子排阻色谱法(SEC)是常见的用于测定蛋白质或多肽相对分子质量的方法之一<sup>[18]</sup>。但是,SEC 用于研究蛋白质聚集体有几大缺陷<sup>[45]</sup>:第一,SEC 不能测得分子的真实相对分子质量;第二,SEC 色谱柱对聚集体有过滤、吸附和剪切作用,造成回收率偏低;第三,流动相体系与样品溶液的差异,影响非共价聚集体稳定性。鉴于 SEC 的上述缺点,分析性超速离心法(AUC)、静态光散射法(SLS)、动态光散射法(DLS)和场流分级法(FFF)<sup>[46]</sup>可以与 SEC 优势互补,用于分析粒径小于0.3 μm 的聚集体。

《美国药典》<sup>[47]</sup>和《中华人民共和国药典》<sup>[48]</sup>中推荐了两种测定注射液中不溶性微粒的方法:光阻法(light obscuration, LO)和显微计数法。光阻法测量的粒径范围为2~100 μm,浓度为每毫升10~18 000个。但是,光阻法不能区分颗粒的种类,如

小气泡和硅油油滴均会被计入结果;且其需要较大体积( $\geq 25$  mL)的样品溶液<sup>[44]</sup>。显微计数法的缺点在于,过滤过程会使某些蛋白质聚集体分解,透过滤膜,导致漏检。

流动成像技术(flow imaging techniques)弥补了光阻法的不足,可以监测颗粒形态,提供其高清图像,对于颗粒组成、结构和来源的分析有重要作用,其粒径测量范围为1~500 μm<sup>[49]</sup>。目前,商品化的仪器有流式颗粒分析仪(microflow imaging system, MFI)<sup>[23~24]</sup>和流动颗粒图像分析仪(flow particle imaging analyzer)<sup>[44]</sup>。另外一种常用的颗粒成像技术是原子力显微镜(atomic force microscopy, AFM),其缺点是检测不到蛋白质的可逆聚集。此外,对于粒径在0.4~1 200 μm的颗粒,还可以使用库尔特计数仪(coulter counter)进行计数<sup>[50]</sup>。

## 5 小结

预装式注射器以其操作简便快速和避免二次污染等优点,在临床中使用日益广泛。但是由于预装式注射器既作为给药装置,又是药物制剂的包装,且多用于生物药物,所以药物与包材发生相互作用的可能性极大。鉴于生物药物稳定性差的特点,对于预装式注射器与其相容性的研究不应局限于对可提取物和浸出物的迁移研究,更应该关注可提取物和浸出物与药物的相互作用对患者健康的直接或间接影响。这就要求研究者借助更多样的分析手段,不仅要对痕量甚至超痕量的可提取物和浸出物进行测定,还要监测药物成分的结构和生物活性的微小变化,以达到对安全性的全面和系统评价。

## 参考文献

- [1] Roots Analysis. Prefilled syringes market, 2015-2025 [EB/OL]. [http://www.rootsanalysis.com/reports/view\\_document/prefilled-syringes-market-3rd-edition-2015-2025/99.html](http://www.rootsanalysis.com/reports/view_document/prefilled-syringes-market-3rd-edition-2015-2025/99.html).
- [2] Ingle RG, Agarwal AS. Pre-filled syringe—a ready-to-use drug delivery system: a review [J]. *Expert Opin Drug Deliv*, 2014, **11**(9):1391-1399.
- [3] FDA. Guidance for industry container closure systems for packaging human drugs and biologics [EB/OL]. <http://www.fda.gov/downloads/drugs/guidancecomplianceregulatoryinformation/guidances/ucm070551.pdf>.
- [4] Wang W, Ignatius AA, Thakkar SV. Impact of residual impurities and contaminants on protein stability [J]. *J Pharm Sci*, 2014, **103**(5):1315-1330.
- [5] China Food and Drug Administration. Technical guidelines for the research on the compatibility of chemical medicine injection and plastic packing materials (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) [S]. 2012.
- [6] Jenke D, Castner J, Egert T, et al. Extractables characterization for five materials of construction representative of packaging systems used for parenteral and ophthalmic drug products [J]. *PDA J Pharm Sci Technol*, 2013, **67**(5):448-511.
- [7] EMEA. Guideline on plastic immediate packaging materials [EB/OL]. [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2009/09/WC500003448.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003448.pdf).
- [8] Jenke D, Liu N, Hua Y, et al. A means of establishing and justifying binary ethanol/water mixtures as simulating solvents in extractables studies [J]. *PDA J Pharm Sci Technol*, 2015, **69**(3):366-382.
- [9] Zhou SX, Schoneich C, Singh SK. Biologics formulation factors affecting metal leachables from stainless steel [J]. *AAPS PharmSci Tech*, 2011, **12**(1):411-421.
- [10] Jenke D. *The Prototype Stage* [M]. John Wiley & Sons Inc, 2008: 157-190.
- [11] Jenke DR. Extractables and leachables considerations for prefilled syringes [J]. *Expert Opin Drug Deliv*, 2014, **11**(10):1591-1600.
- [12] Jenke D, Odufu A, Couch T, et al. Evaluation of the general solution compatibility of polymer materials used in medical devices such as syringes [J]. *PDA J Pharm Sci Technol*, 2012, **66**(4):286-306.
- [13] Jenke D. Safety risk categorization of organic extractables associated with polymers used in packaging, delivery and manufacturing systems for parenteral drug products [J]. *Pharm Res*, 2015, **32**(3):1105-1127.
- [14] Paskiet D, Jenke D, Ball D, et al. The product quality research institute (PQRI) leachables and extractables working group initiatives for parenteral and ophthalmic drug product (PODP) [J]. *PDA J Pharm Sci Technol*, 2013, **67**(5):430-447.
- [15] China Food and Drug Administration. Technical guidelines for the research on the compatibility of chemical medicine injection and glass packing container (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) [S]. 2015.
- [16] Norwood DL, Stults CLM, Nagao LM. *Analytical Best Practices for The Evaluation and Management of Extractables and Leachables in Orally Inhaled and Nasal Drug Products* [M]. John Wiley & Sons, Inc., 2012:153-183.
- [17] Jiang YJ, Nashed-Samuel Y, Li C, et al. Tungsten-induced protein aggregation: solution behavior [J]. *J Pharm Sci*, 2009, **98**(12):4695-4710.
- [18] Seidl A, Hainzl O, Richter M, et al. Tungsten-induced denaturation and aggregation of epoetin alfa during primary packaging as a cause of immunogenicity [J]. *Pharm Res*, 2012, **29**(6):1454-1467.
- [19] Jezek J, Darton NJ, Derham BK, et al. Biopharmaceutical formulations for pre-filled delivery devices [J]. *Expert Opin Drug Deliv*, 2013, **10**(6):811-828.
- [20] Mensch CD, Davis HB. Inhibition of tungsten-induced protein aggregation by cetyl trimethyl ammonium bromide [J]. *PDA J Pharm Sci Technol*, 2012, **66**(1):2-11.
- [21] Felsövalyi F, Janvier S, Jouffray S, et al. Silicone-oil-based sub-visible particles: their detection, interactions, and regulation in prefilled container closure systems for biopharmaceuticals [J]. *J Pharm Sci*, 2012, **101**(12):4569-4583.
- [22] Chisholm CF, Nguyen BH, Soucie KR, et al. *In vivo* analysis of the potency of silicone oil microdroplets as immunological adjuvants in protein formulations [J]. *J Pharm Sci*, 2015, **104**(11):3681-3690.
- [23] Gerhardt A, Nguyen BH, Lewus R, et al. Effect of the siliconization method on particle generation in a monoclonal antibody formulation in pre-filled syringes [J]. *J Pharm Sci*, 2015, **104**

- (5):1601–1609.
- [24] Majumdar S, Ford BM, Mar KD, et al. Evaluation of the effect of syringe surfaces on protein formulations [J]. *J Pharm Sci*, 2011, **100**(7):2563–2573.
- [25] Varmette E, Strony B, Haines D, et al. An assay for measurement of protein adsorption to glass vials [J]. *PDA J Pharm Sci Technol*, 2010, **64**(4):305–315.
- [26] Becherer T, Grunewald C, Engelschalt V, et al. Polyglycerol based coatings to reduce non-specific protein adsorption in sample vials and on spr sensors [J]. *Anal Chim Acta*, 2015, **867**:47–55.
- [27] Eu B, Cairns A, Ding G, et al. Direct visualization of protein adsorption to primary containers by gold nanoparticles [J]. *J Pharm Sci*, 2011, **100**(5):1663–1670.
- [28] Joshi O, McGuire J, Wang DQ. Adsorption and function of recombinant factor viii at solid-water interfaces in the presence of tween-80 [J]. *J Pharm Sci*, 2008, **97**(11):4741–4755.
- [29] Ball D, Blanchard J, Jacobson-Kram D, et al. Development of safety qualification thresholds and their use in orally inhaled and nasal drug product evaluation [J]. *Toxicol Sci*, 2007, **97**(2):226–236.
- [30] Norwood DL, Nagao LM, Stults CLM. Perspectives on the pqri extractables and leachables “safety thresholds and best practices” recommendations for inhalation drug products [J]. *PDA J Pharm Sci Technol*, 2013, **67**(5):413–429.
- [31] EMEA. Guideline on the limits of genotoxic impurities [EB/OL]. [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2009/09/WC500002903.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500002903.pdf).
- [32] Ma Y, Ma L, Jiang Y. Interpretation of the guideline of compatibility study of pharmaceutical products and packaging materials—the assessment of experimental data [J]. *Chin New Drugs J(中国新药杂志)*, 2014, **23**(8):940–943.
- [33] Markovic I. Evaluation of safety and quality impact of extractable and leachable substances in therapeutic biologic protein products: a risk-based perspective [J]. *Expert Opin Drug Saf*, 2007, **6**(5):487–491.
- [34] Mueller R, Karle A, Vogt A, et al. Evaluation of the immuno-stimulatory potential of stopper extractables and leachables by using dendritic cells as readout [J]. *J Pharm Sci*, 2009, **98**(10):3548–3561.
- [35] Fan NQ, Lin YH. Study on measuring method of medicinal media materials by total organic carbon meter [J]. *Chin J Pharm Anal(药物分析杂志)*, 2011, **31**(7):1330–1332.
- [36] Fujimori K, Lee H, Phillips J, et al. Development of an inductively coupled plasma mass spectrometry method for quantification of extracted tungsten from glass prefilled syringes used as a primary packaging for pharmaceutical and therapeutic protein products [J]. *PDA J Pharm Sci Technol*, 2013, **67**(6):670–679.
- [37] Zhou SX, Evans B, Schoneich C, et al. Biotherapeutic formulation factors affecting metal leachables from stainless steel studied by design of experiments [J]. *AAPS PharmSciTech*, 2012, **13**(1):284–294.
- [38] Manta B, Obal G, Ricciardi A, et al. Tools to evaluate the conformation of protein products [J]. *Biotechnol J*, 2011, **6**(6):731–741.
- [39] Jones LS, Kaufmann A, Middaugh CR. Silicone oil induced aggregation of proteins [J]. *J Pharm Sci*, 2005, **94**(4):918–927.
- [40] Yuan Y, Zhang W, Dai JH, et al. Studies on the interaction between malanin and metal ions by fluorescence spectra methods [J]. *Spectrosc Spectr Anal*, 2014, **34**(12):3297–3300.
- [41] Gerhardt A, Bonam K, Bee JS, et al. Ionic strength affects tertiary structure and aggregation propensity of a monoclonal antibody adsorbed to silicone oil-water interfaces [J]. *J Pharm Sci*, 2013, **102**(2):429–440.
- [42] Atici EB, Karliga B. Quantitative determination of two polymorphic forms of imatinib mesylate in a drug substance and tablet formulation by X-ray powder diffraction, differential scanning calorimetry and attenuated total reflectance fourier transform infrared spectroscopy [J]. *J Pharm Biomed*, 2015, **114**:330–340.
- [43] Narhi LO, Schmit J, Bechtold-Peters K, et al. Classification of protein aggregates [J]. *J Pharm Sci*, 2012, **101**(2):493–498.
- [44] Narhi LO, Jiang Y, Cao S, et al. A critical review of analytical methods for subvisible and visible particles [J]. *Curr Pharm Biotechnol*, 2009, **10**(4):373–381.
- [45] Philo JS. A critical review of methods for size characterization of non-particulate protein aggregates [J]. *Curr Pharm Biotechnol*, 2009, **10**(4):359–372.
- [46] Sitar S, Kejzar A, Pahovnik D, et al. Size characterization and quantification of exosomes by asymmetrical-flow field-flow fractionation [J]. *Anal Chem*, 2015, **87**(18):9225–9233.
- [47] U. S. Pharmacopeial Convention. *The United States Pharmacopeia 36-The National Formulary 31*: volume 1 [M]. Baltimore: United Book Press Inc, 2013:350–353.
- [48] Chinese Pharmacopoeia Commission. *China Pharmacopoeia*: part 4 (中华人民共和国药典:四部) [S]. Beijing: China Medical Science Press, 2015:114–115.
- [49] Levin I, Zigman S, Komlosh A, et al. Development of flow imaging analysis for subvisible particle characterization in glatiramer acetate [J]. *J Pharm Sci*, 2015, **104**(11):3977–3983.
- [50] Yusko EC, Prangkio P, Sept D, et al. Single-particle characterization of a beta oligomers in solution [J]. *ACS Nano*, 2012, **6**(7):5909–5919.