使用Agilent G1888网络化顶空进样器检测药品中的残留溶剂

应用

医药

作者

Roger L. Firor
安捷伦科技有限公司
2850 Centerville Road
Wilmington, DE 19808-1610
USA

摘要

G1888网络化顶空进样器连接在配置了FID或5973 inert MSD的6890N气相色谱仪，用于测定法规限定的残留溶剂。采用不同浓度的标样混合物溶于水，包括低于已公布的最低限量浓度，证明系统的性能。所测溶剂包括国际协调大会(ICH)确定的一类或二类溶剂，以及美国药典(USP)467所列的溶剂。与上一代进样器相比，新的进样器采用带Siltek流路管线的70位G1888自动进样系统，改善了重复性、惰性，并减少了交叉污染。通过加载软件模式将进样器的一体化控制和序列集成到安捷伦化学工作站中。

前言

有机挥发物杂质(OVIs)可能来自活性药物生产或其它药品的制造过程。许多是用来提高产量、改善结晶性能、或增加溶解度[1]。其他因素如包装、运输和储存也能影响残留溶剂的含量。气相色谱(GC)与静态顶空进样联用是测定药物中低含量溶剂杂质的使用方便的高通量分析手段，几乎所有的药物制造企业的质量控制(QC)实验室都有这样的设备。样品制备相对简单，方法容易认证。

国际协调大会(ICH)通用准则将溶剂分为三类[2]。第一类溶剂不应当用在药物制造过程中，因为它们的毒性和对环境的影响较大，第二类溶剂应当限制使用，因为它们有潜在的毒性。第三类溶剂被认为是对人体健康危害较小的。在USP 467中列出的溶剂包括的第一类和第二类溶剂的子集。

本应用报告将讨论第一类和第二类溶剂的分析和测定。残留溶剂列在表1。

表1A. 药品中的第一类溶剂——避免使用[2]

溶剂	浓度限 (ppm)	危害性
苯	2	致癌物
四氯化碳	4	有毒，且对环境有害
1,2-二氯乙烷	5	有毒
1,1-二氯乙烯	8	有毒
1,1,1-三氯乙烷	1500	对环境有害

表1B. 药品中的第二类溶剂[2]

溶剂	允许每天的接触量(ppm) (mg/day)	浓度限 (ppm)
乙腈	4.1	410
氯苯	3.6	360
氯仿	0.6	60
环己烷	38.8	3880
1,2-二氯乙烯	18.7	1870
二氯甲烷	6.0	600
1,2-二甲氧基乙烷	1.0	100
N,N-二甲基乙酰胺	10.9	1090
N,N-二甲基甲酰胺	8.8	880
1,4-二恶烷	3.8	380
2-乙氧基乙醇	1.6	160
乙烯基乙二醇	6.2	620
甲酰胺	2.2	220
己烷	2.9	290
甲醇	30.0	3000
2-甲氧基乙醇	0.5	50
甲基丁基酮	0.5	50
甲基环己烷	11.8	1180
N-甲基吡咯酮	48.4	4840
硝基甲烷	0.5	50
吡啶	2.0	200
Sulfolane	1.6	160
Tetralin	1.0	100
甲苯	8.9	890
1,1,2-三氯乙烯	0.8	80
二甲苯*	21.7	2170

* 一般为60%间-二甲苯，14%对二甲苯，9%邻二甲苯，含17%乙苯

表1C. 药品中的溶剂，美国药典(USP)467

溶剂	浓度限 (ppm)
二氯甲烷	600
氯仿	60
苯	2
三氯乙烯	80
1,4-二恶烷	380

近年来，随着潜在的长期有害效应和低含量残留溶剂解出方面的信息的增加，随着分析仪器检测灵敏度的提高，残留溶剂和其他污染物含量的安全摄入限不断降低。比如，基于新的毒性数据，2003年法规对于残留溶剂的限量比1997年容许日摄入量(PDE)和溶剂N-甲基吡咯酮(N-Methylpyrrolidone)的残留浓度限降低了10倍[3]。四氢呋喃的分类从第三类划到了第二类的PDE，浓度限比甲苯更严格[3]。表1B还列出了药物中第一类和第二类残留溶剂的浓度限[4]。

实验部分

本文介绍了两种系统。首先，基于火焰离子化检测器的系统被认为是常规质检工作的首选；而第二种系统是基于质量选择检测器，可提供未知化合物的鉴定、共流出峰的定量和溶剂的确认。所有实验采用10 mL的顶空样品瓶，其中装有5 mL水作为基质，加入1 g硫酸钠以辅助被分析物的萃取。顶空进样器配备有1 mL的样品定量管。由于必须维持足够的流速通过系统，以防止过大的峰展宽，故采用分流进样。对于典型的0.53 mm内径色谱柱，推荐的最低分流比为2:1。

表2. 仪器条件

FID系统	
6890N GC	
进样口	挥发性物质分析接口
温度	160 °C
分流比	2:1 to 5:1
载气	氦气
载气流速	9 mL/min
检测器	FID，250 °C
GC柱箱温度程序	
初始温度	35 °C
初始时间	20 min
升温速率	25 °C/min
最终温度	250 °C
最终时间	15 min
色谱柱	30 m×0.53 mm×3 µm DB-624 30 m×0.45 mm×2.55 µm DB-624
G1888A顶空进样器	
定量管体积	1 mL
样品瓶压力	14.0 psig
顶空加热箱	85 °C
定量管温度	100 °C
传输管线温度	120 °C
平衡时间	30 min，低速震荡
GC循环时间	50 min
加压时间	0.15 min
放空(填充定量管)	0.15 min
注射	0.5 min

5973 inert系统	
6890N GC	
进样口	挥发性物质分析接口
温度	160 °C
分流比	2:1 to 5:1
载气	氦气
进样口压力	2.7 psi
色谱柱流速	1.7 mL/min
GC柱箱温度程序	
初始温度	35 °C
初始时间	20 min
升温速率	20 °C/min
最终温度	250 °C
最终时间	15 min
色谱柱	30 m×0.32 mm×1.8 µm DB-624
G1888A顶空进样器	
与FID系统的设置相同	
5973 inert	
扫描	30 to 200 amu，样品2
SIM	100 ms dwell
离子源温度	230 °C
四极杆温度	150 °C
调谐	BFB.u
标准品	
USP 467	Restek #36228 AccuStandard NF-467-R
ICH一类和二类溶剂	Restek #36228(Class 1) #36229(Class 2A) #36230(Class 2B)

讨论

GC系统

大部分制药行业的质量控制实验室采用气相色谱仪(GC)测定残留溶剂，在USP 467或者ICH指南更广泛的列表中都包括这种方法。基于624固定相(USP G43)的毛细管柱GC广泛用于溶剂分离。当要鉴定共流出物时，特殊的方法可采用不同的固定相，如DB-1701，DB-5，或DB-WAX(USP G16)。与直接液体进样相比，顶空进样具有许多优点，包括可避免大体积的水进入色谱柱而导致柱降解。

表3列出了用于得到图1所示色谱图的第一类和第二类溶剂的浓度和鉴定结果。

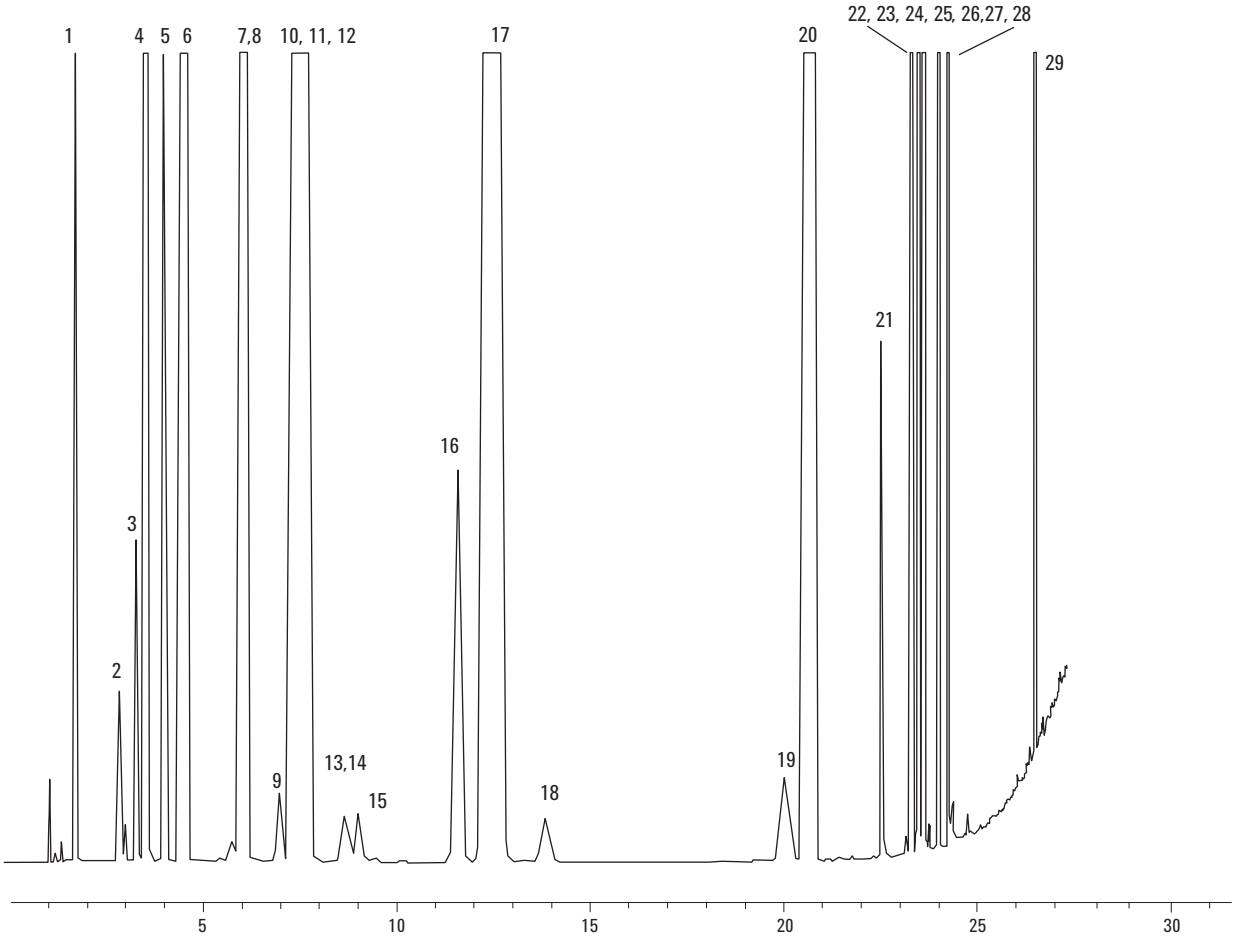


图1.　　第一类和第二类残留溶剂。G1888，6890N配备FID或挥发性物质分析接口

这些浓度等于指南限定的基于100 mg药物样品溶于5 mL的浓度限。图2所示的USP 467溶剂浓度低于所要求的浓度(10 μL Restek标样，#36228)，仍然获得了优异的信噪比。本文所用的浓度均为用来取样前存在于顶空样品瓶中的被分析物浓度。

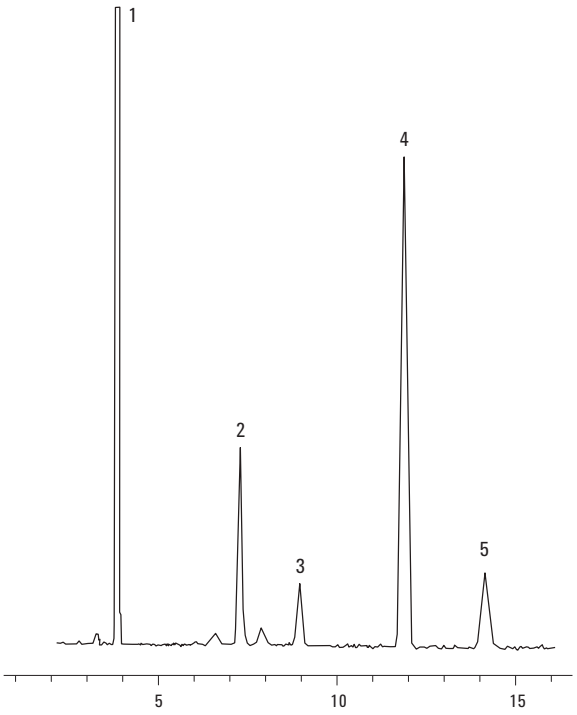


图2.　鉴定和浓度：1. 二氯甲烷1.2 µg/mL，2. 氯仿0.12 µg/mL，3. 苯0.004 µg/mL，4. 三氯乙烯0.16 µg/mL，5. 1,4-二恶烷0.76 µg/mL

表4列出了在所用色谱条件下DB-624色谱柱上的共流出峰及所用浓度。采用30 m × 0.45 mm × 2.55 μm DB-624色谱柱，苯和1,2-二氯乙烷可在35 °C的柱箱温度条件下得到分离，如图3所示。

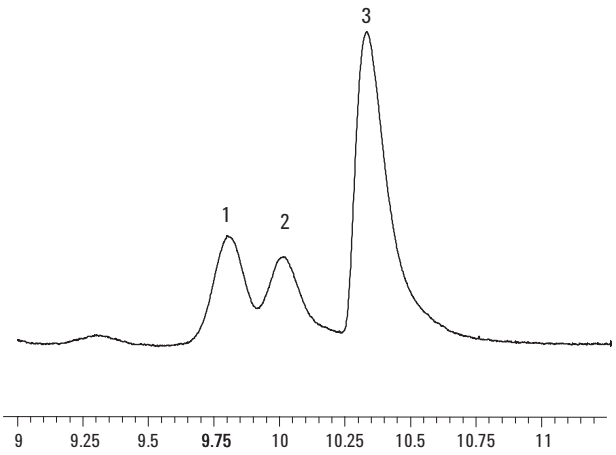


图3.　苯和1,2-二氯乙烷的分离度。峰鉴定：1. 苯，2. 1,2-二氯乙烷，3. 1,2-二甲氧基乙烷

所选择的USP 467包含的溶剂的校正曲线见图4。可见，浓度范围延伸到恰好低于允许最大浓度仍有良好的线性关系。浓度范围完全处于厚液膜0.53 mm和0.45 mm内径色谱柱的动态线性范围。

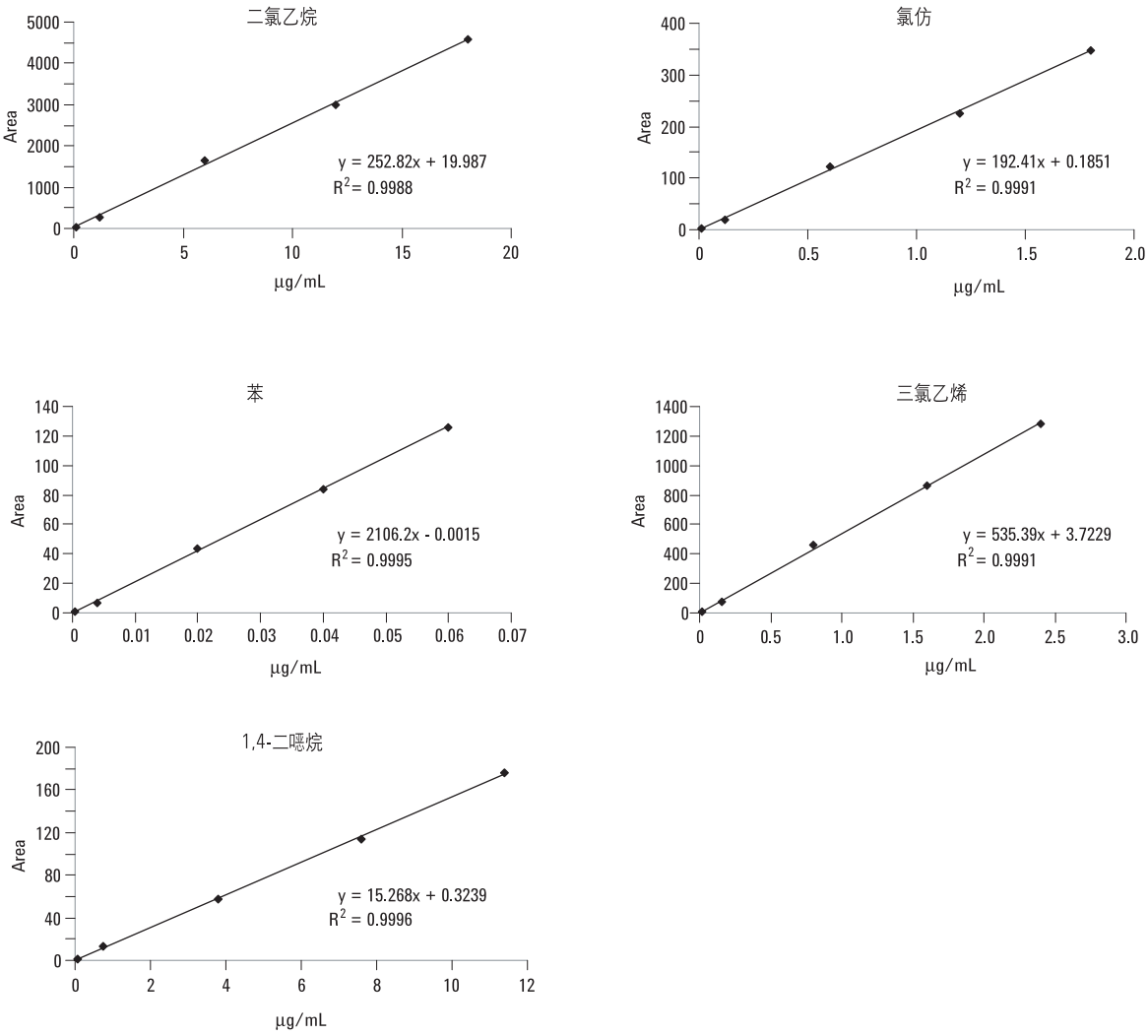


图4.　　所选溶剂的校准曲线

顶空平衡时间一般设置为60 min；然而，在大多数情况下30 min就足够了。图5显示了所选色谱图部分(第一类和第二类容积)30-和60-min的顶空平衡重叠。峰面积的差别很小；尽管某些化合物30 min平衡产生了稍大一些的峰面积。

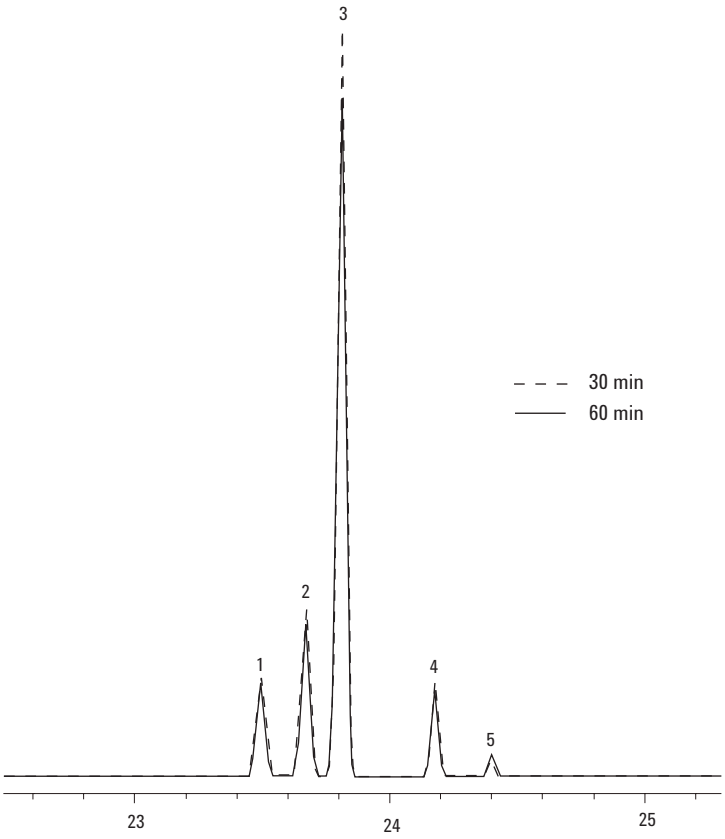


图5.　在30-min和60-min平衡时间后所选化合物的重叠。
1. 氯苯，2. 乙苯和二甲基甲酰胺，3. 间-二甲苯，对-二甲苯，
4. 邻-二甲苯，5. N,N-二甲基乙酰胺

表3.　第一类和第二类溶剂的浓度*。表中ID栏对应于色谱图上的峰编号

溶剂	ID	浓度(µg/mL)	溶剂	ID	浓度(µg/mL)
甲醇	1	60	三氯乙烯	16	1.6
1,1-二氯乙烷	2	0.16	甲基环己烷	17	236
乙腈	3	8.2	1,4-二噁烷	18	7.6
二氯甲烷	4	12	吡啶	19	4
己烷	6	5.1	甲苯	20	17.8
顺-1,2-二氯乙烷	7	37.4	2-己酮	21	1
硝基苯	8	1	氯苯	22	7.6
氯仿	9	1.2	乙苯	23	7.38
四氯化碳	10	0.08	N,N-二甲基甲酰胺	24	17.6
环己烷	11	77.6	间二甲苯	25	26.04
1,1,1-三氯乙烷	12	30	对二甲苯	26	6.08
苯	13	0.04	邻二甲苯	27	3.9
1,2-二氯乙烷	14	0.1	N,N-二甲基乙酰胺	28	21.8
1,2-二甲氧基乙烷	15	2	1,2,3,4-四氢化萘	29	2

*浓度为顶空样品瓶中取样前的溶液浓度。5号峰(反-1,2-二氯乙烷)未列在第一类或第二类溶剂表中

表4. 0.53-mm内径DB-624色谱柱上的共流出

共流出组	溶剂
1(部分)	苯，1,2-二氯乙烷
2	硝基苯，*顺*-1,2二氯乙烯
3	四氯化碳，环己烷，1,1,1-三氯乙烷*+
4	乙苯，二甲基甲酰胺
5	间二甲苯，对二甲苯

*三氯乙烷在没有环己烷时可与CCl4分离
+图6显示在30 m x 0.45 mm x 2.55 µm DB-624色谱柱(安捷伦部件号124-1334)上的分离

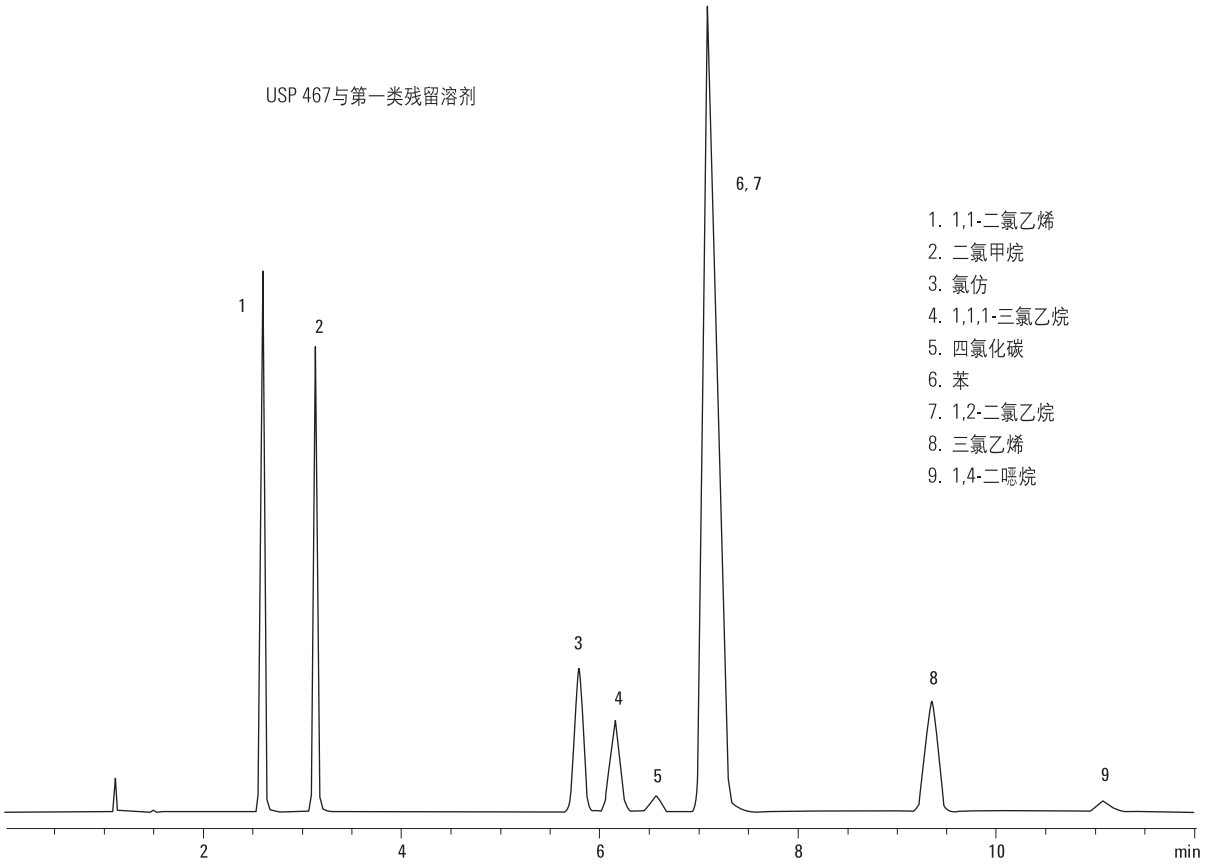


图6. 浓度为1 ppm的USP 467和第一类溶剂在30 m x 0.45 mm x 2.55 µm DB-624色谱柱上的分离。起始GC柱箱温度为40 °C

MSD系统

图7所示为采用G1888/6890N/5973 inert系统得到的第一类和第二类溶剂的TIC。

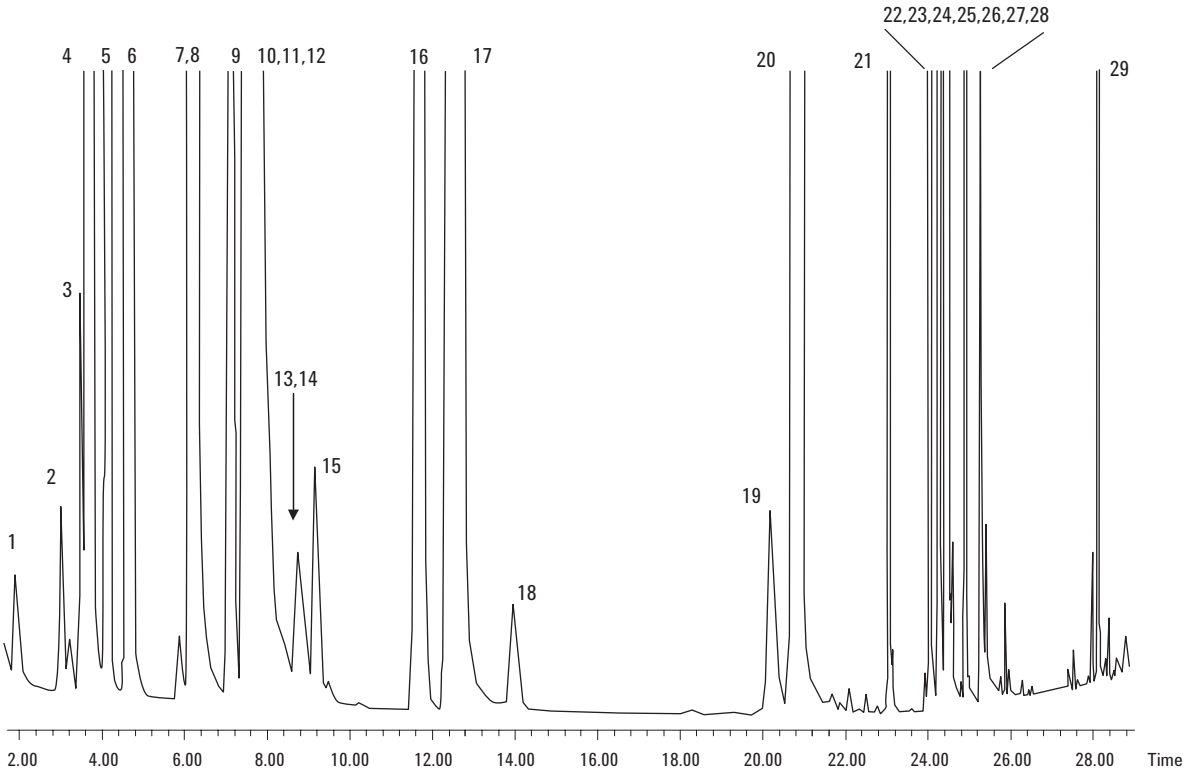


图7. 第一类和第二类溶剂的TIC。化合物鉴定见表3。

被分析物溶液浓度和峰鉴定如表3所列。气相色谱/质谱(GC/MS)提供了火焰离子化检测器(FID)的替代方法，可用于解决共流出问题和鉴定未知物。同时，在选择离子检测(SIM)模式可获得出色的灵敏度和选择性，这对于制药过程中对痕量杂质进行定性和定量分析时很有用。

交叉污染

实际上，非水溶剂常常用于这一测试，因为制药的许多常见溶剂的萃取是非水溶性的。某些常见溶剂包括DMA(N,N-二甲基乙酰胺)，DMSO，吡啶和DMI(1,3-二甲基-2-咪唑酮)。因为所用的许多溶剂是高沸点的，故可能有顶空交叉污染。在G1888中加热区温度均匀性的改善减少了高沸点溶剂在各种管线中和放空阀中的冷凝。

G1888的新功能允许使用者对放空吹扫时间进行编程。在高级功能菜单中标有“Sequence Vent Purge”。这代表了当作为进样后事件吹扫放空管时的时间间隔。默认时间为30秒钟，可以增加到接近循环时间的最大值。对于本文的交叉污染测试，用了20 min的放空吹扫时间，进一步减少了溶剂交叉污染的可能性。

100微升的纯溶剂置于10 mL样品瓶。较大量的溶剂将不导致进样量的增加。采用实验部分所述的色谱程序设置了一个10个样品瓶的序列，其中交替分析溶剂和水空白样品。测试了吡啶(Pyridine)，DMSO和DMA。对所有三种溶剂，交叉污染([空白瓶的溶剂峰面积/溶剂瓶的溶剂峰面积]×100)小于0.006%。此外，所有空白的溶剂峰面积的相对标准偏差(RSD)为±3%，说明无交叉污染趋势。作为交叉污染的附加测试，在100 °C的顶空箱温度条件下连续运行了10瓶DMA(100 µL/10-mL瓶)。然后进行两次水空白分析，第一个空白的交叉污染为0.004%，第二个为0.001%。

制药企业现在所用的最有效的溶剂系统之一是DMI，其沸点为225 °C。表5列出了用这一溶剂进行交叉污染测试的条件设置。在顶空序列中交替运行DMI瓶和水空白瓶。结果如图8所示。

高浓度的DMI使色谱柱超载，导致了峰面积有些不一致。然而，这不是本测试的目的所关心的内容。测得交叉污染小于0.003%。

表5. 用于DMI交叉污染测试的条件设置

顶空温度	220 °C
样品管	250 °C
传输管线	250 °C
样品瓶平衡时间	30 min
序列出口吹扫	20 min
样品	100-µL DMI in 10-mL vial
空白	5-µL水置于10 mL样品瓶
挥发性物质分析接口	250 °C
分流比	10:1
柱箱温度程序	35 °C(0 min)到 260 °C(15 min)，升温速率 25 °C/min

为了测定实际被分析物的交叉污染，选用了类似于纯溶剂所用的测试方法。100微升的USP 467标准品(Restek # 36007)置于5-mL水/1 g Na_2SO_4中。这个样品瓶在85 °C的平衡温度下用一个10 个样品瓶的序列与水空白交替运行。在每次运行中均没有测得被分析物的峰面积。

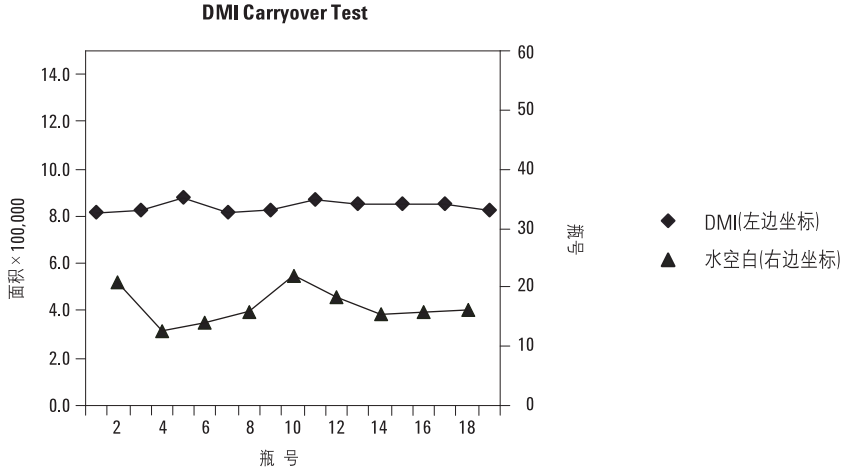


图8. DMI交叉污染结果

结论

药品制造必须保证残留溶剂、挥发性有机杂质(OVI)和相关污染物不存在于产品中。或者低于法规要求的安全下限。准确测定很低含量杂质的问题之一是被分析物与仪器样品管线内表面的相互作用或反应。为了解决这个问题。我们开发了新的惰性G1888顶空进样系统。该系统从进样点到检测器的样品流路管线无反应和吸附。这就大大减少了原来仪器常见的交叉污染问题。高温加热区扩展了可用溶剂体系的选择范围。当与采用全惰性离子源的5973 inert MSD联用时，在需要对未知物进行鉴定或确证时，得到了非常好的结果。采用本文所讨论的G1888顶空进样系统得到的用于医药产品的溶剂分析结果说明，交叉污染减少了，具有优异的检测灵敏度，以及从ppm到ppb范围的良好的线性响应。

本文所述的方法和实验过程证明了分析残留溶剂的潜在方法。实验室应当根据ICH和USP的指南执行系统实用性研究，并对方法进行认证。

参考文献

1. Anil M. Dwivedi, Residual Solvent Analysis in Pharmaceuticals, (Nov., 2002) *Pharmaceutical Technology*, 42-46.
2. Guidance for Industry, Q3C Impurities: Residual Solvents, U.S. Department of Heath and Human Services, FDA, Center for Drug Evaluation and Research (CDER), Center for Biologics Evaluation and Research (CBER) Dec. 1997, ICH.
3. Revised PDEs for NMP and THF, Federal Register, 68, (219), Nov. 2003, Notices, 64353.
4. Limits of Residual Solvents, Federal Register, 62, (247), Dec. 1997, Notices 67380-67381.

获取详细信息

有关我们的产品和服务的详细信息，请访问网站www.agilent.com/chem。

www.agilent.com/chem

安捷伦对本出版物所包含的错误，和与性能或使用本材料有关的事故或意外伤害概不负责。

本出版物的信息、说明和技术指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技版权所有，2004

中国印刷
2004年6月21日
5989-1263CHCN



Agilent Technologies