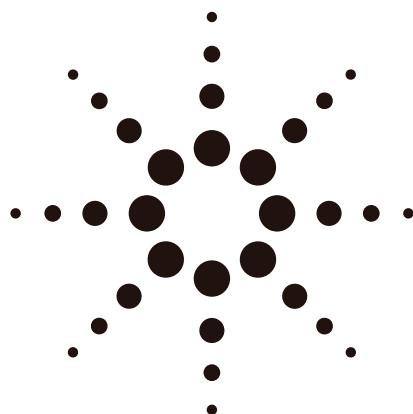




用 Agilent G1888 顶空进样器/6890N 气相色谱 /5975 inert MSD 检测系统测定药品中的残留 溶剂

应用报告

Roger L. Firor
Albert E. Gudat

摘要

用配置 Agilent G1888 顶空进样器 (HS) 和安捷伦 5975 inert 质谱检测器 (MSD) 的安捷伦 6890N 气相色谱系统 (GC) 检测药品中受法规限制的残留溶剂。标准样品混合物的水溶液配制接近或低于发表的允许溶剂残留水平的不同浓度以评价系统性能。本文的分析包括了国际协调委员会 (ICH) 指南 (包含美国药典方法 467 中列出的溶剂) 中一类和二类溶剂。MSD 进行同步选择离子检测/全扫描模式采集选择离子检测与全扫描的数据, 从而对各个被测成分分别进行鉴定与定量。测定了 27 种不同溶剂的方法检出限。



Agilent Technologies

前言

有机挥发性杂质 (OVI) 来自活性药物、赋形剂或者其它医药产品的生产。这些溶剂往往用于提高产率，改善结晶和促进溶解。另外如包装，运输和储存过程等其它因素也会影响药物中的残留溶剂水平¹。作为公认的使用简便的高通量分析工具，配置顶空进样器的气相色谱仪广泛用于药品中低浓度的残留溶剂分析，已被几乎所有制药行业的质量控制实验室使用。这种方法的样品前处理流程相对简单，已有专论说明方法易于认证。

ICH 制定的全面的指导原则指南中将溶剂划分为三个类别²。第一类溶剂由于其毒性或者对环境的影响在制药业中禁用，而第二类溶剂由于其潜在的毒性在应用中要加以限制；第三类溶剂则被认为对人体健康的风险较小。美国药典方法 467 中列出的溶剂也均包含在第一、二两个类别内。本文介绍了对上述一、二两类溶剂的检测与定量。上述禁用溶剂参见表 1A-C。

随着长期低剂量接触对人体造成潜在伤害的资料不断增多和分析仪器检测灵敏度的提高，近年来，残留溶剂和其它有害物质的安全水平有逐步调低趋势。以 N-甲基吡咯烷酮为例，根据最新的毒性资料，在 2003 年对残留溶剂标准的修订中，将每日接触剂量和残留溶剂标准调低到了 1997 年标准的 1/10³。对四氢呋喃也重新进行了分类，从原来的第三类划分至第二类，且每日人体接触剂量和残留浓度的标准比甲苯更为严格。表 1A-B 列举了对医药产品中有害溶剂每日接触剂量和残留溶剂的当前标准⁴。

溶剂	浓度上限 (ppm)	影响
苯	2	致癌
四氯化碳	4	毒性及环境危害
1,2-二氯乙烷	5	毒性
1,1-二氯乙烯	8	毒性
1,1,1-三氯乙烷	1,500 (修正至 10 ppm)	环境危害

表 1A

制药产品第一类溶剂（应避免使用的溶剂）²。

溶剂	PDE (毫克/日)	浓度上限 (ppm)
乙腈	4.1	410
氯苯	3.6	360
氯仿	0.6	60
环己烷	38.8	3,880
顺 1,2-二氯乙烯	18.7	1,870
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	1,090
N,N-二甲基甲酰胺	8.8	880
1,4-二氧六环	3.8	380
2-乙氧基乙醇	1.6	160
乙二醇	6.2	620
甲酰胺	2.2	220
正己烷	2.9	290
甲醇	30.0	3,000
2-甲氧基乙醇	0.5	50
2-己酮	0.5	50
甲基环己烷	11.8	1,180
N-甲基吡咯烷酮	48.4	4,840
硝基甲烷	0.5	50
吡啶	2.0	200
环丁酮	1.6	160
四氯化苯	1.0	100
甲苯	8.9	890
1,1,2-三氯乙烯	0.8	80
二甲苯 ¹	21.7	2,170

¹—一般以 60% 间二甲苯，14% 对二甲苯，9% 邻二甲苯，17% 乙苯计

表 1B

制药产品第二类溶剂² (PDE = 每日人身接触剂量)。

溶剂	浓度上限 (ppm)
二氯甲烷	600
氯仿	60
苯	2
三氯乙烯	80
二氧六环	380

表 1C

美国药典 467 方法 IV 中的制药产品溶剂。

实验

本文中 HS/GC/MSD 系统提供了对分离或共流出峰的化合物定性鉴别、确认和定量。在带有聚四氟乙烯密封盖的 10-mL 顶空瓶中加入 5 mL 水和 3 g 硫酸钠作为样品基体。顶空进样器配备 1 mL 样品环；为了防止色谱峰的过度展宽，需要维持一个较大流量，因此采用分流进样模式。在 5:1 的分流比下，样品环被很快推扫过去以获得良好峰形。

通过对每一种溶剂特征碎片离子的识别，以及对这些目标离子的定量，我们建立了对这些溶剂质谱定量数据库。用数据分析软件 (D.02.00 版) 的 AutoSIM 设定程序，以 16 种选择离子检测的碎片基团对样品中 27 种溶剂进行检测⁷。方法自动设定由全扫描切换至选择离子检测的参数；包含自动生成的选择离子检测时间表全扫描保存新的 SIM/Scan 方法。这些碎片离子如图 1 所示。

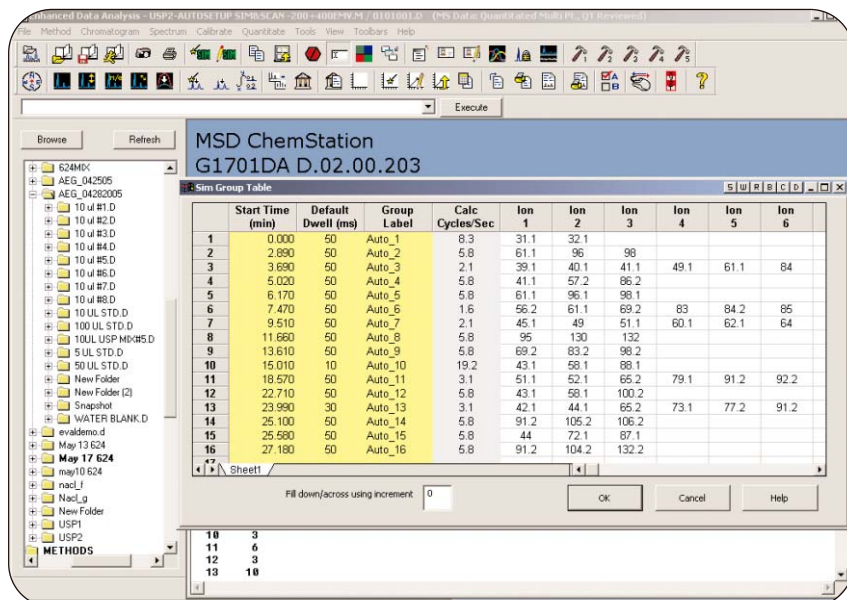


图 1
通过 AutoSIM 模式获得的选择离子检测时间序列与被测离子停留时间。

6890N GC

进样口	挥发性物质分析接口
进样口温度	160 °C
分流比	5 : 1
载气	氮气
载气流速	1.5 mL/min
程序升温设置	
初始温度	35 °C
初温保持时间	20 min.
升温速率	25 °C/min.
终温	250 °C
终温保持时间	10 min
色谱柱	30 m x 0.25 mm x 1.4 µm DB-624, 部件号 122-1334

G1888A 顶空进样器

进样环容积	1 mL
顶空瓶压力	12.0 psig
顶空温度	85 °C
进样环温度	100 °C
传输管温度	120 °C
平衡时间	30 min, 高速震荡
GC 循环时间	50 min.
加压时间	0.15 min.
放空时间 (注满进样环)	0.2 min.
进样时间	0.5 min.

5975 inert MSD

同步全扫描 SIM/scan (选择离子检测/全扫描) 模式开	
SIM	对 27 个被分析物选择 16 个特征离子
扫描范围	30-200 amu 2 号样品 ¹
阈值	75
离子源温度	230 °C
四极杆温度	150 °C
调谐	自动调谐
化学工作站版本	G1701DA D.02.00
标准	
美国药典 467	Restek #36007
ICH 第一、二类	Restek #36261 (修订后第一类) #36229 (第二类-A) #36230 (第二类-B)

实验结果与讨论

对美国药典方法 467，或者涵盖面更广的国际协调委员会 (ICH) 建议方针列出的残留溶剂，大多数制药行业的质量控制实验室使用气相色谱谱进行检测。用 DB-624 固定相 (参见美国药典 G43) 的毛细管气相色谱被广泛应用于分离；在能够鉴别共流出峰的前提下，不同型号固定相 (如 DB-1701 或者 DB-5) 也在一些特定方法中得到应用。但由于通常共流出峰具有不同的特征碎片离子，因此对于质谱检测色谱峰的共流出一般不会成为问题。

顶空进样方式较之液体样品直接进样具有诸多优点，尤其它避免了大体积水样进入色谱柱导致的柱降解和共流出。按美国药典方法 467 规定，一般将顶空平衡时间设定为 60 分钟，但在多数情况下，平衡温度 85 °C 时，30 分钟就已充分平衡了⁵。为了保证在 85 °C 下维持过饱和状态以促使进入顶空的样品浓度最高，在含有 5 mL 水的 10 mL 顶空瓶中，加入了 3 g 硫酸钠而不是美国药典方法 476 指定的 1 g 硫酸钠。

表 2 列出了第一类与第二类限制溶剂的样品的浓度和保留时间，得到选择离子检测/全扫描色谱图如图三所示。各个溶剂的浓度相当于依照 ICH 指南限定标准，100 mg 药品或赋形剂分散于 5 mL 水中的残留浓度。在此之后，本文中提及的所有浓度都是折合到加入顶空瓶的药物中的溶剂浓度 (以 ppm 计)。图 4 是溶剂浓度为美国药典方法 467 限制浓度标准十分之一时得到的色谱图。图 5 例举了在低浓度下，苯和

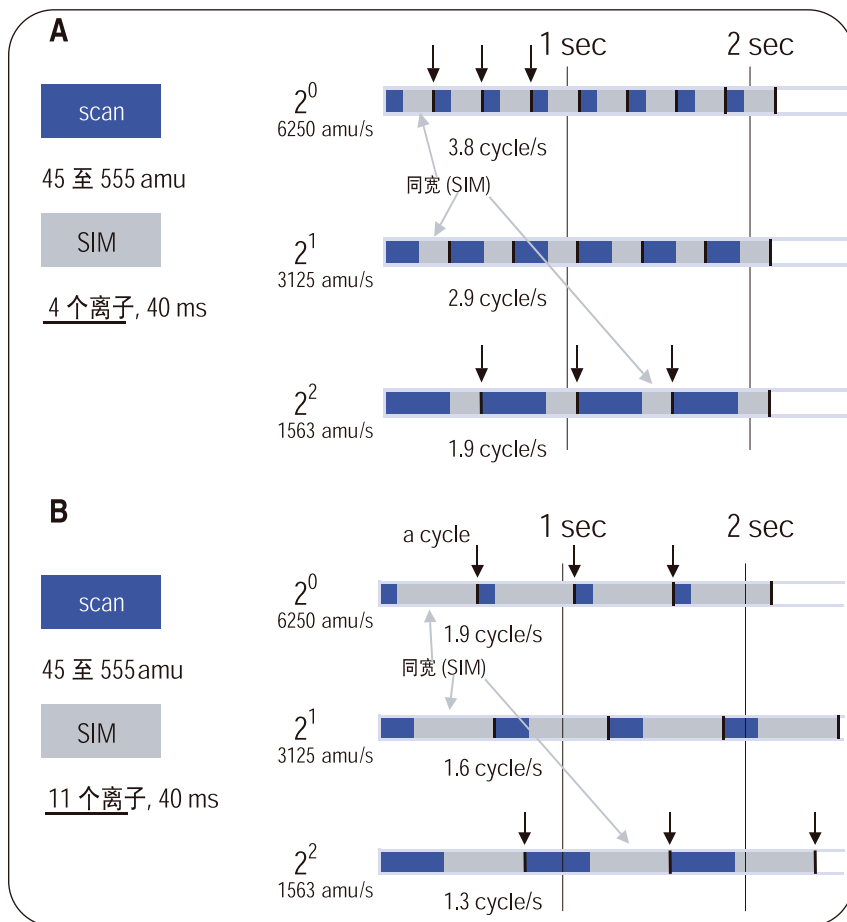


图 2
A) 对四个特征离子在选定进样速率下的选择离子检测/全扫描模式操作，停留时间 40 毫秒。
B) 对十一个特征离子在选定进样速率下的选择离子检测/全扫描模式操作，弛豫时间 40 毫秒。

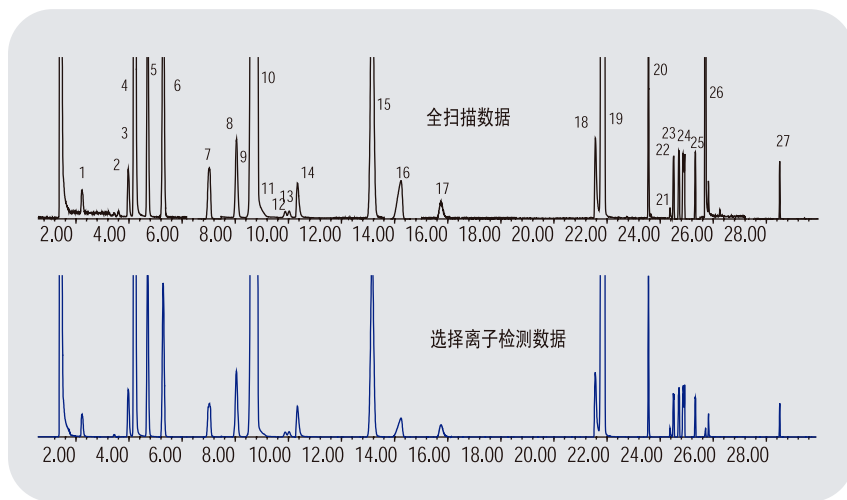


图 3
同步选择离子检测/全扫描模式下第一、二类残留溶剂色谱图 (各组分浓度由表 A-B 给出)。

1,2-二氯乙烷的分辨率和选择离子检测的灵敏度。基于选择离子检测数据得到的美国药典方法 467 中几个溶剂的工作曲线如图 6 所示；可以看到线性范围伸展到了远低于限制标准的水平。由二氯甲烷和对二甲苯的工作曲线可以看到，即使预设中调低了电子倍增器电压（参见图 7），过大的色谱峰流出时，检测器的饱和效应。图 4 中在 7 和 14 分钟信号响应掉到接近零就是调低电压产生的效果。

同步的选择离子检测/全扫描模式在一次进样中可同步采集选择离子检测 and 全扫描的数据。图 2-a 和 2-b 分别是对 4 个和 11 个离子同步采集选择离子检测和全扫描数据方法的图示⁸。注意这里选择离子检测过程与扫描速度无关；而全扫描过程消耗的时间则随扫描速度变化。图 3 是表 2 中第一类与第二类溶剂在赋形剂中的限制浓度由同步选择离子检测/全扫描模式得到的谱图，在选择离子检测下方法的检测限 (MDLs) 也在表 2 中给出；其计算方法依从美国药典方法 524.2⁶。顶空瓶中含有十分之一残留浓度标准的第一类与第二类限制溶剂的七份样品被制备与分析，并使用表 3 的公式计算出各个目标化合物的方法检测限。考虑到质谱检测器不很宽泛的动态范围，和被分析物中溶剂残留浓度限制的巨大差异（从低至 2 ppm 的苯到高至 4840 ppm 的 N-甲基吡咯烷酮），为保证很大的色谱峰不至于超载，同步对小的色谱峰获得有意义的结果，电子倍增电压 (EM) 按照时间序列进行调整是必要的。

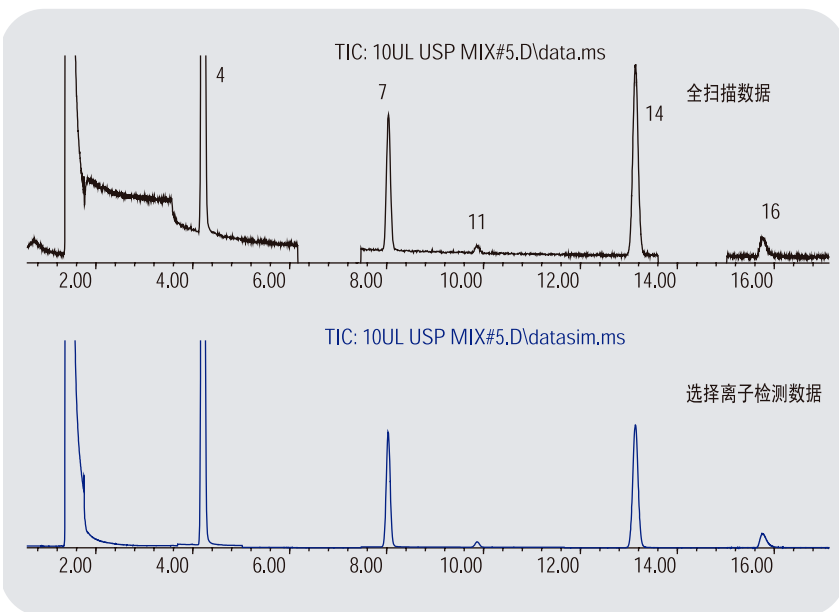


图 4
美国药典方法 467 残留溶剂色谱图（各组分浓度为标准上限的 1/10）：1. 二氯甲烷，60 ppm；2. 氯仿，6 ppm；3. 苯，0.2 ppm；4. 三氯乙烯，8 ppm；5. 1,4-二氧六环，38 ppm。

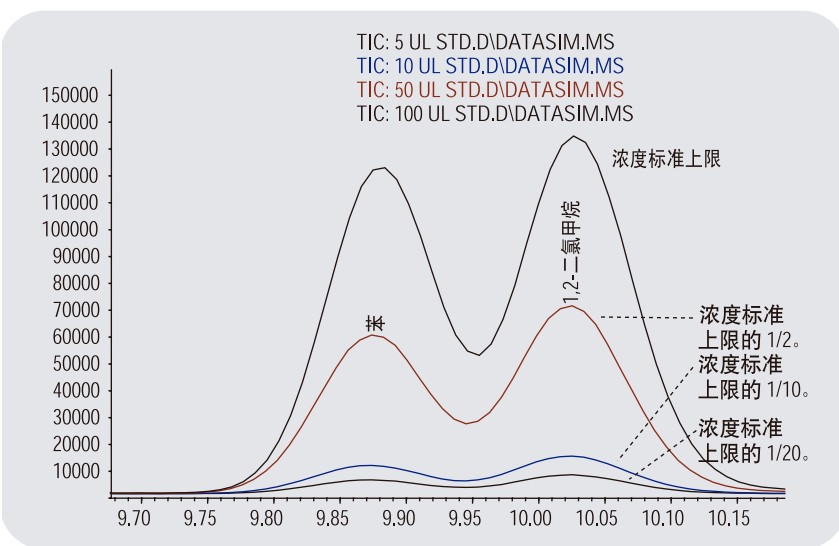


图 5
苯和 1,2-二氯乙烷的分度与灵敏度。

因为色谱图经常会有来自样品而不属于目标物质的额外色谱峰，从全扫描数据得到的质谱图可以通过谱库检索或手动分析用有效地分析未知物的。在本文用标准样品的分析也遇到了这样的现象：25.71 分钟流出的一个很大的色谱峰不在目标化合物列表中；对其谱图的谱库检索将这个峰确认为二甲亚砆。由于标准样品的配制使用的是二甲亚砆，这个结果并不出乎意外。然而，其他额外的色谱峰仅通过全质谱图就被轻易地确认出来。这正是同步选择离子检测/全扫描模式数据采集的一个巨大的优点，并且选择离子检测的数据可用于高度灵敏与重现的定量分析，同时全扫描的数据可以用于对未知物的鉴定。安捷伦的仪器支持在很短时间周期内同时获取选择离子检测与全扫描数据⁸。本文中用于鉴别和定量残留溶剂的选择离子质量在表 4 中列出。

溶剂	序号， 保留时间（分钟）	方法检测限 （ppm）	溶剂	序号， 保留时间（分钟）	方法检测限 （ppm）
甲醇	(1) 2.23	54	三氯乙烯	(14) 13.13	2
1,1-二氯乙烯	(2) 3.44	0.2	甲基环己烷	(15) 14.09	43
乙腈	(3) 3.98	9	1,4-二氧六环	(16) 15.77	8
二氯甲烷	(4) 4.21	24	吡啶	(17) 21.57	7
正己烷	(5) 5.28	7	甲苯	(18) 21.81	151
顺 1,2-二氯乙烯	(6) 7.00	117	2-己酮	(19) 23.56	1
氯仿	(7) 8.04	2	氯苯	(20) 24.49	38
四氯化碳	(8) 9.07	0.1	乙苯	(21) 24.69	43
环己烷	(9) 8.65	334	N,N-二甲基甲酰胺	(22) 24.43	36
1,1,1-三氯乙烷	(10) 8.50	0.2	*间二甲苯	(23) 24.86	195
苯	(11) 9.88	0.1	*对二甲苯	(24) 24.86	195
1,2-二氯乙烷	(12) 10.02	0.2	邻二甲苯	(25) 25.31	19
1,2-二甲氧基乙烷	(13) 10.38	2	N,N-二甲基乙酰胺	(26) 25.83	50
			四氢化萘	(27) 28.50	5

*在 DB 624 色谱柱上共流出峰，且不具有不同的特征离子。

表 2
对第一、第二类残留溶剂的方法检测限 (MDL) 与保留时间。

$$MDL = s \cdot t_{(n-1, 1-\alpha=99)} = s \cdot 3.143$$

此处：

$$t_{(n-1, 1-\alpha=99)} = n-1 \text{ 个自由度下具有 } 99 \% \text{ 置信度的数据}$$

$$n = \text{实验次数}$$

$$s = 7 \text{ 次实验的相对标准偏差}$$

表 3
美国药典方法 524.2 的方法检测限计算公式。

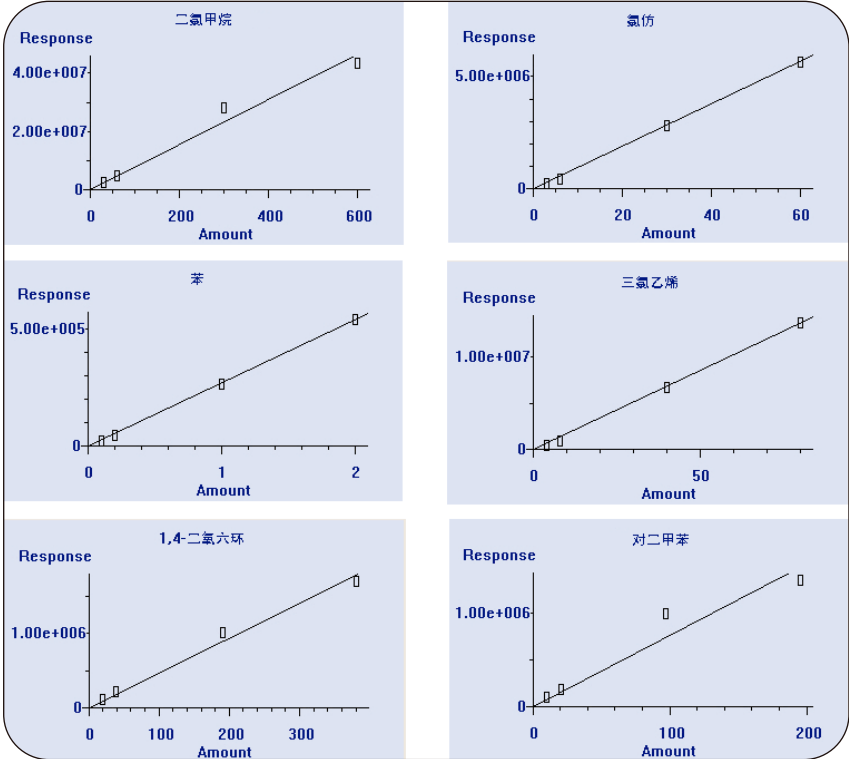


图 6
美国药典方法 467 溶剂以及对二甲苯的工作曲线。

结论

制药厂商必须保证其产品不含残留溶剂 (OVI) 以及相关杂质，或者杂质的浓度低于法规限定的安全标准。对低浓度残留的精确定量经常被以下两个因素妨碍：被分析物之间相互干扰的倾向，以及仪器样品流路内表面上的副反应。新的 G1888 inert 顶空进样器解决了这个难题，也解决了较老型号顶空进样系统遇到的交叉污染的问题⁵。整个系统从进样到检测全部样品流路均无反应与吸附作用。在需要对未知物质进行鉴别、确认和定量时，与具有惰性离子源的 5975 inert MSD 联用可以得到出色的结果。使用选择离子检测/全扫描数据采集方式，HS/GC/5975 MSD 联用能给出高灵敏度的分析结果。这一特点也使 5975 MSD 能够在对低浓度的目标离子进行检测和定量的同时，通过全扫描检索未知物质。为获得最佳灵敏度，可用于谱库检索的全谱扫描数据是与选择离子检测数据同时采集的，因此对峰的确认依然是必要的。这个特点也使安捷伦 5975 MSD 可以无需因使用高性能、快速电子线路而影响其性能⁸。本文概述的方法和步骤说明了在溶剂残留分析中可能的新方法。使用的化学工作站软件是 G1701DA MSD Productivity 化学工作站 (D.02.00 版本)。对法规实验室，MSD Security 化学工作站 (G1732AA) 提供了完全依照 21 CFR Part 11 要求运行的能力⁹。在将方法转为实验室常规分析方法之前，需要按照诸如国际协调委员会 (ICH)、美国药典 (USP)、欧洲药典 (EP) 等工业委员会或法规机构发布的相应指南对方法进行认证。在本

定量目标离子	Q1	Q2	溶剂
31.1	32.1		甲醇
61.1	96	98	1,1-二氯乙烯
41.1	40.1	39.1	乙腈
86	49.1		二氯甲烷
98	61.1		1,2-二氯乙烯
57.2	41.1	86.2	正己烷
96.1	61.1	98.1	顺 1,2-二氯乙烯
83	85	87	氯仿
97	99	61.1	1,1,1-三氯乙烷
84.2	56.2	69.2	环己烷
116.9	119	120.9	四氯化碳
78.1	77.1	51.1	苯
62.1	64	49	1,2-二氯乙烷
45.1	60.1	90.1	1,2-二甲氧基乙烷
130	132	95	三氯乙烯
83.2	98.2	69.2	甲基环己烷
88.1	58.1	43.1	1,4-二氧六环
79.1	52.1	51.1	吡啶
91.2	92.2	65.2	甲苯
58.1	43.1	100.2	2-己酮
73.1	44.1	42.1	N,N-二甲基甲酰胺
112.1	77.2	114.1	氯苯
91.2	106.2	65.2	乙苯
91.2	106.2	105.2	间二甲苯+对二甲苯
91.2	106.2	105.2	邻二甲苯
87.1	72.1	44	N,N-二甲基乙酰胺
104.2	132.2	91.2	四氢化萘

表 4
残留溶剂分析中用于定量的选择离子检测特征碎片（其中定量目标离子=用于鉴别和定量的离子 Q1, Q2 则是用作峰鉴别的确认离子。）

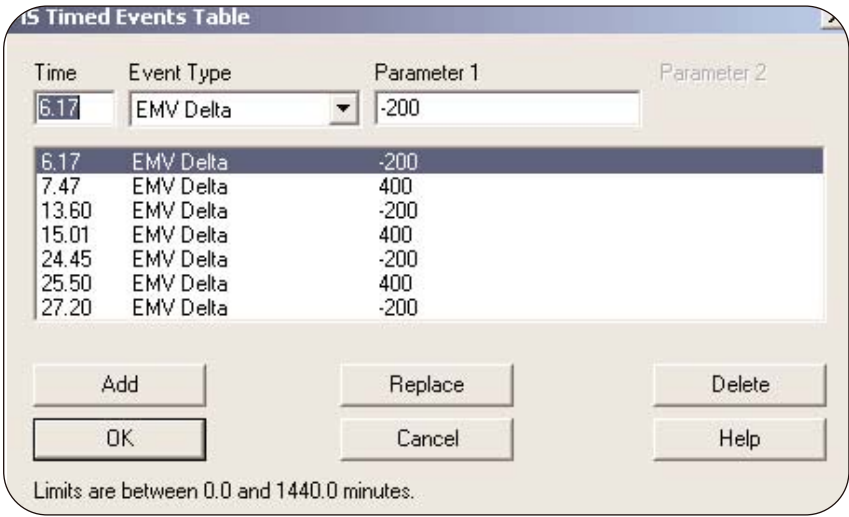


图 7
改变电子倍增器电压的工作时间列表。

文述及的系统上开发和认证的方法可用 MSD Security 化学工作站进行质量控制。

参考文献

1. Anil M. Dwivedi, "Residual Solvent Analysis in Pharmaceuticals", *Pharmaceutical Technology*, 42-46, Nov. **2002**.
2. "Guidance for Industry, Q3C Impurities: Residual Solvents", U.S. Department of Health and Human Services, FDA, Center for Drug Evaluation and Research (CDER), Center for Biologics Evaluation and Research (CBER), ICH, Dec. **1997**.
3. "Revised PDEs for NMP and THF", *Federal Register*, 68, (219), Notices, 64353, Nov. **2003**.
4. "Limits of Residual Solvents", *Federal Register*, 62, (247), Notices 67380-67381, Dec. **1997**.
5. Roger L. Firor, "The Determination of Residual Solvents in Pharmaceuticals Using the Agilent G1888 Network Headspace Sampler", *Agilent Technologies Application Note*, publication number 5989-1263EN, June **2004**.
6. "US EPA Method 524.2, Measurement of Purgeable Organic Compounds in Water by Capillary Column Gas Chromatography/Mass Spectrometry", *Revision 4*, Aug. **1992**.
7. Harry Prest and David W. Peterson, "New Approaches to the Development of GC/MS Selected Ion Monitoring Acquisition and Quantitation Methods", *Agilent Technologies Application Note*, publication number 5988-4188EN, Nov. **2001**.
8. Chin-Kai Meng, "Improving Productivity with Synchronous SIM/Scan", *Agilent Technologies Application Note*, publication number 5989-3108EN, May **2005**.
9. "Agilent MSD Security ChemStation for GC/MS Systems", *Specifications*, publication number 5989-2015EN, Jan. **2005**.

作者 Roger L. Firor 和 Albert E. Gudat
位于美国新泽西 Paramus 的安捷伦
科技公司的应用化学家

www.agilent.com/chem

© 版权所有

版权所有。未经书面允许，不得擅自复制，改编和翻译，符合版权法者除外。

2005 年 6 月 1 日出版
出版号 5989-3196CHCN



Agilent Technologies