使用安捷伦特殊设计和测试的针对 USP <467> 的 J&W DB-Select 色谱柱进行溶剂残留分析

应用报告

生物制药

作者

Ken Lynam
安捷伦科技有限公司

摘要

本应用重点阐述了使用安捷伦特殊设计和测试的针对 USP <467> 的 J&W DB-Select 624UI 色谱柱（30 m x 0.32 mm，1.8 µm）测定 USP 残留溶剂的优势。对难分离化合物对的分离、令人满意的信噪比和吡啶峰形均是成功进行 USP <467> 残留溶剂分析的关键色谱问题。研究分别对新的 DB-Select 624UI <467> 色谱柱分析 1 级、2A 级和 2B 级溶剂标液产生的色谱峰和来自其他厂商非专业设计和测试的普通色谱柱分析这些溶剂标液产生的色谱峰进行了对比。

前言

制药行业的中间产物、辅料和药品制剂中的溶剂残留测试为全球范围内药品的安全防护提供了重要的保障。美国药典（USP）通则关于残留溶剂条例 <467> 的修订与国际协调委员会（ICH）Q3C 指南密切结合 [1、2]。两大机构均采用基于毒性/剂量的方法来评估这些溶剂或挥发性有机杂质（OVI）对公众的风险危害水平。方法通常采用静态顶空-FID 色谱法，配以 G43 固定相厚膜色谱柱 [3]。

1 级残留溶剂是指那些特别危险、在制药行业中应该尽量避免的溶剂。该级别的溶剂包括已知或疑似的人类致癌物和环境危险品。除了环境有害物 1,1,1-三氯乙烷外，其他溶剂残留量的目标限均规定在几个 mg/L 范围内。在对这类溶剂的合理规定限值进行论证时，需要特别注意几个关键的色谱问题。此类溶剂的信噪比规定最小为 3 : 1，这在 FID 检测四氯化碳时会是一个挑战。另一个要注意的问题是难分离化合物对苯和 1,2 - 二氯乙烷的分离度问题。

2 级残留溶剂是指那些毒性相对较低但使用仍受到限制的溶剂。残留量目标限均规定在 50 到 3880 mg/L 的范围内。在 2A 级的溶剂中，乙腈和二氯甲烷的分离度不能低于 1.0。1,4-二氧六环对检测器的响应和甲基环己烷和吡啶峰的分离度是 2B 级溶剂在色谱分析方面的难点所在。

3 级残留溶剂的溶剂毒性和对人体的危害比 1 级和 2 级都低。在论证这些原料时，每天 50 mg 或 5000 mg/L 的接触上限被认为是可以接受的。其中的某些溶剂在 G43 固定相色谱柱上会与其他溶剂共流出，需要在步骤 B 中使用 G16 固定相的色谱柱进行后续分析。在我们的网站中可以查询这类溶剂的色谱图和保留时间。

本研究使用安捷伦针对 USP <467> 的 J&W DB-Select 624 UI 色谱柱。这种新型色谱柱的特殊化设计和严格的惰性测试帮助分析者获得高度一致的结果，满足或超越 USP <467> 残留溶剂的分析要求。针对 USP <467> 的 DB-Select 624UI 色谱柱的固定相与 G43 相同，专用于 USP。

材料和方法

研究使用安捷伦 7890/5975C GC/MS 系统，配以多模式进样口（MMI）和 FID 检测器以及安捷伦 7697A 顶空进样器，同时使用 MSD Chem Station E.02.02 软件。

GC/顶空分析的色谱条件

色谱柱：	安捷伦 J&W DB-Select 624UI USP <467> 专用色谱柱，30 m ×0.32 mm，1.8 µm（部件号 123-0334UI）
载气：	氦气，2.2 mL/min，恒流，40 °C
柱箱温度：	40 °C（保持 20 min），以 10 °C/min 升至 240 °C（保持 5 min）
进样口：	MMI 模式，140 °C，进样体积 1 µL，分流比 5 : 1
样品体积：	1.0 mL 定量环
衬管：	1 mm 直型单锥惰性衬管（部件号 5190-4047）
FID 检测器：	250 °C，氢气 30 mL/min，空气 400 mL/min，氮气 色谱柱流量 + 补偿流量 = 30 mL/min

流路备件与耗材

样品瓶：	20 mL 平底钳口顶空瓶（100/包，部件号 5182-0837）
样品瓶盖：	顶空瓶盖/高性能隔垫（100/包，部件号 5190-3987）
封盖器：	20 mm 电动封盖器（部件号 5190-3189）
传输线：	0.53 mm 去活熔融石英管（5 m，部件号 160-2535-5）
螺母：	1/6 到 1/32 英寸变径螺母（部件号 0100-2594）
隔垫：	流失性和温度优化的不粘连隔垫（50/包，部件号 5183-4757）
进样口衬管：	1 mm 直型单锥惰性衬管（部件号 5190-4047）
镀金密封垫：	带垫圈的镀金密封垫（10/包，部件号 5190-2209）
密封垫圈：	0.5 mm 内径，85/15 Vespel/石墨 短垫圈（10/包，部件号 5062-3514）
放大镜：	20 倍放大镜（部件号 430-1020）

标准溶液

1 级残留溶剂：	USP 467 Class 1（部件号 5190-0490）
2A 级残留溶剂：	USP 467 Class 2A（部件号 5190-0492）
2B 级残留溶剂：	USP 467 Class 2B（部件号 5190-0513）

标准溶液制备

按图 1 中所示，根据 USP 通则 <467> 的方法制备1 级、2A 级和 2B 级标准溶液。二甲基亚砜（99.5%）购自美国密苏里州圣路易斯市的 Sigma Aldrich 公司。实验用去离子水来自实验室内的纯水制备系统。

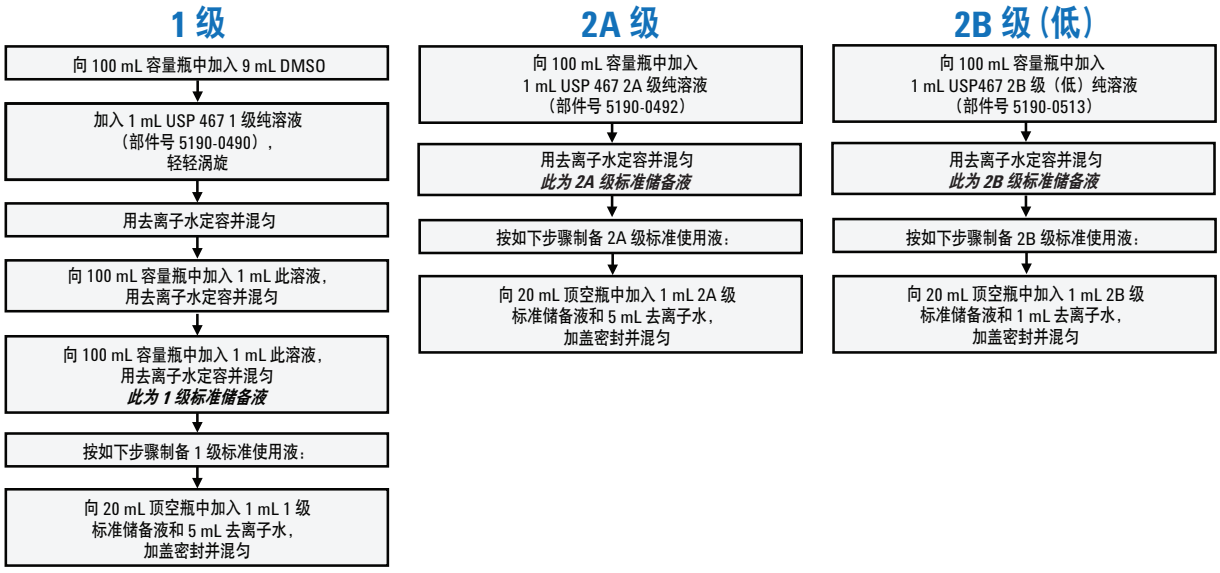

图 1. USP 467 水溶性标准溶液制备步骤 A

结果和讨论

色谱柱分析 1 级残留溶剂的性能

FID 特定限值水平检测四氯化碳时，要求信噪比不低于 3 : 1，这是色谱分析过程中需要面临的一个挑战，另一个需要密切关注的难点是苯和 1,2-二氯乙烷的分离问题。图 2 所示为 1 级标准溶液在 DB-Select 624 UI <467> 毛细柱上顶空进样的色谱图，这里四氯化碳的信噪比为 6.85，苯和 1,2-二氯乙烷的分离度（Rs）为 1.82。

图 3 中显示了 1 级标准进样溶液色谱关键部分的放大谱图，尽管每根色谱柱使用的仪器相同，条件一致，色谱柱规格统一，但来自不同厂家的 G43 色谱柱表现不尽相同。其中一个厂家的色谱柱在分析四氯化碳时，其信噪比未满足要求。

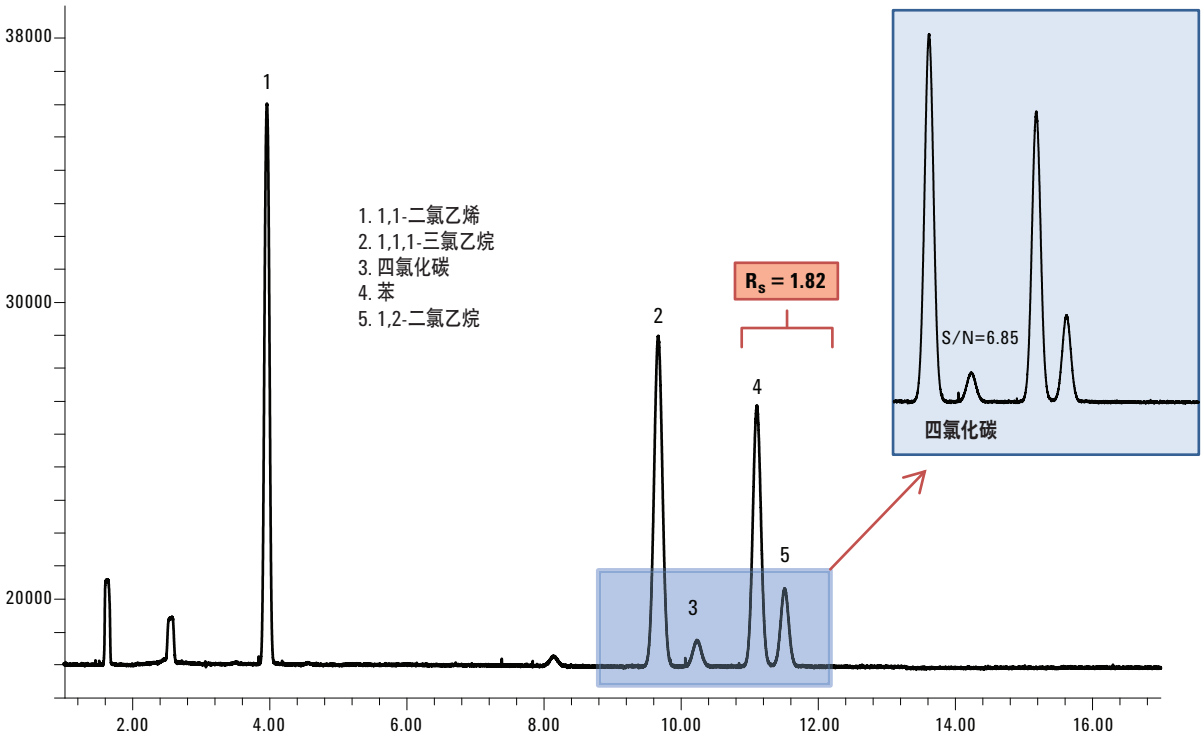

图 2. 在 USP < 467> 特定限值下，1 级溶剂经安捷伦针对 USP <467> 的 J&W DB-Select 624UI 色谱柱（30 m x 0.32 mm，1.8 µm，部件号 123-0334UI）分析得到的 FID 谱图

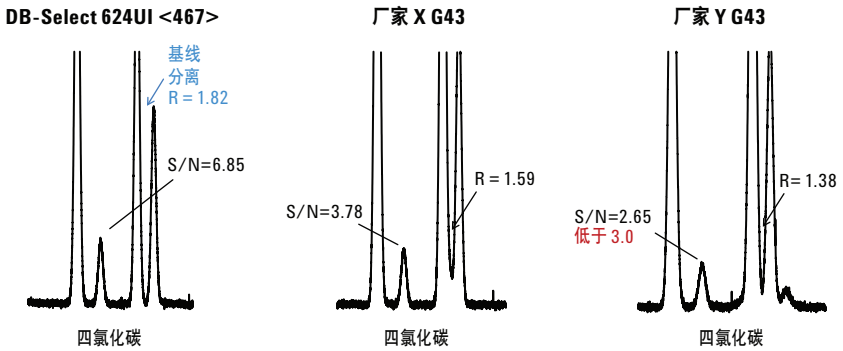

图 3. 对比安捷伦针对 USP <467> 的 J&W DB-Select 624UI 色谱柱和来自其他厂家的 G43 色谱柱对苯/1,2-二氯乙烷难分离化合物对的分离效果和四氯化碳的信噪比。来自厂家 Y 的色谱柱分析四氯化碳时的信噪比未能满足要求

色谱柱分析 2A 残留溶液的性能

乙腈和二氯甲烷难分离化合物对的分离度不能低于 1.0。图 4 显示使用 DB-Select 624UI <467> 色谱柱分析该化合物对得到的分离度为 2.13，分析 2A 级残留溶液时需要注意的另一个关键色谱技术是 380 mg/L 的 1,4-二氧六环对检测器的响应和与限值高达 3880 mg/L 的甲基环己烷的分离效果。

图 5 比较了乙腈/二氯甲烷在 DB-Select 624UI <467> 色谱柱和其他两个厂家的 G43 色谱柱上的分离度。每根色谱柱使用的仪器、运行条件以及色谱柱规格都相同。

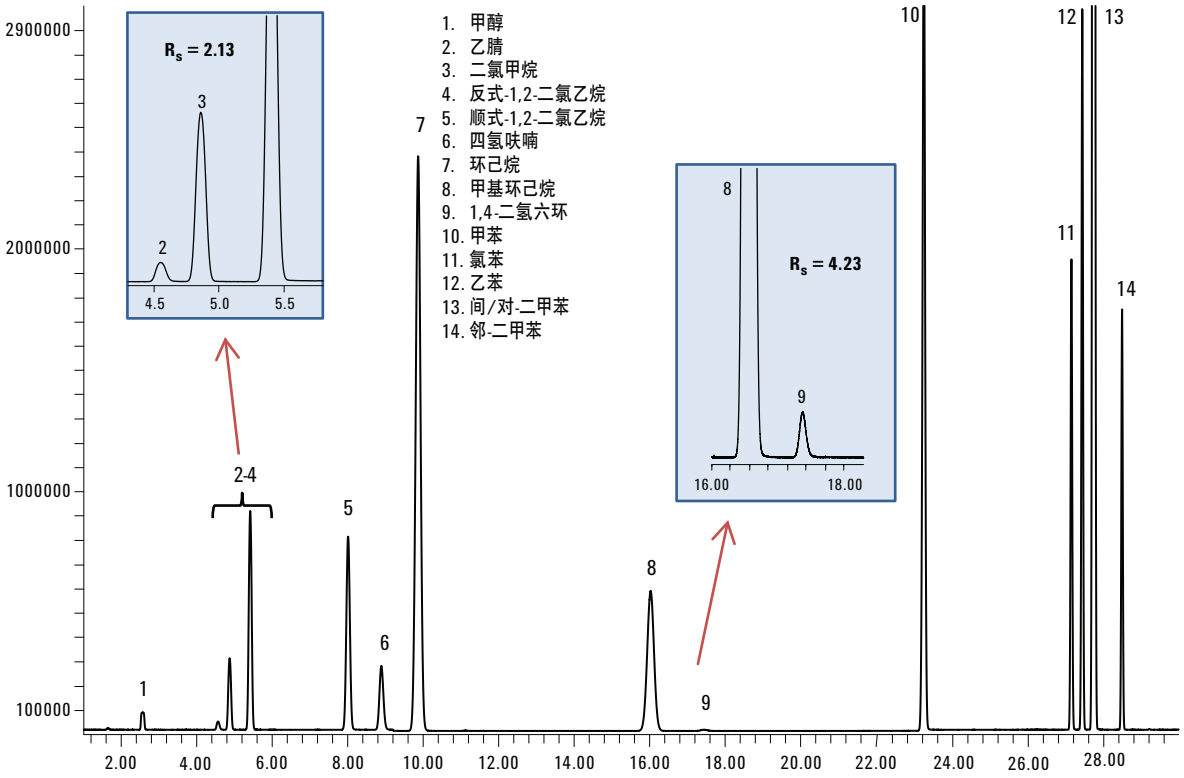

图 4. 在 USP <467> 特定限值下，2A 级溶剂经安捷伦针对 USP <467> 的 J&W DB-Select 624UI 色谱柱（30 m x 0.32 mm，1.8 µm，部件号 123-0334UI）分析得到的 FID 谱图

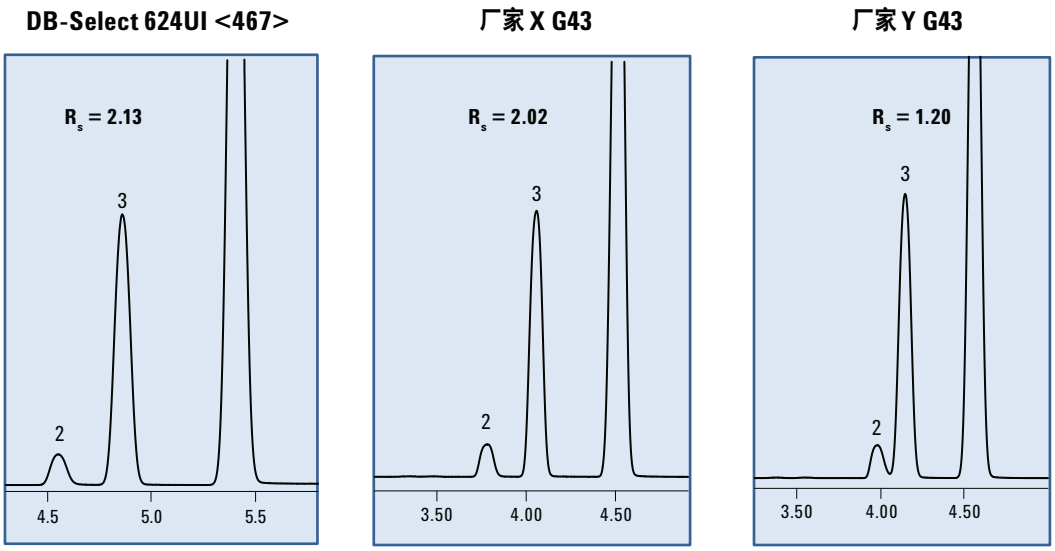

图 5. 乙腈/二氯甲烷难分离化合物对在安捷伦针对 USP <467> 的 J&W DB-Select 624UI 色谱柱和其他厂家 G43 色谱柱上的分离效果的比较

色谱柱分析 2B 级残留溶剂的性能

吡啶的峰形或拖尾程度是 2B 级溶剂的色谱分析中涉及到的最重要的性能指标，图 6 中吡啶在 DB-Select 624UI <467> 色谱柱上的拖尾因子为 1.3。

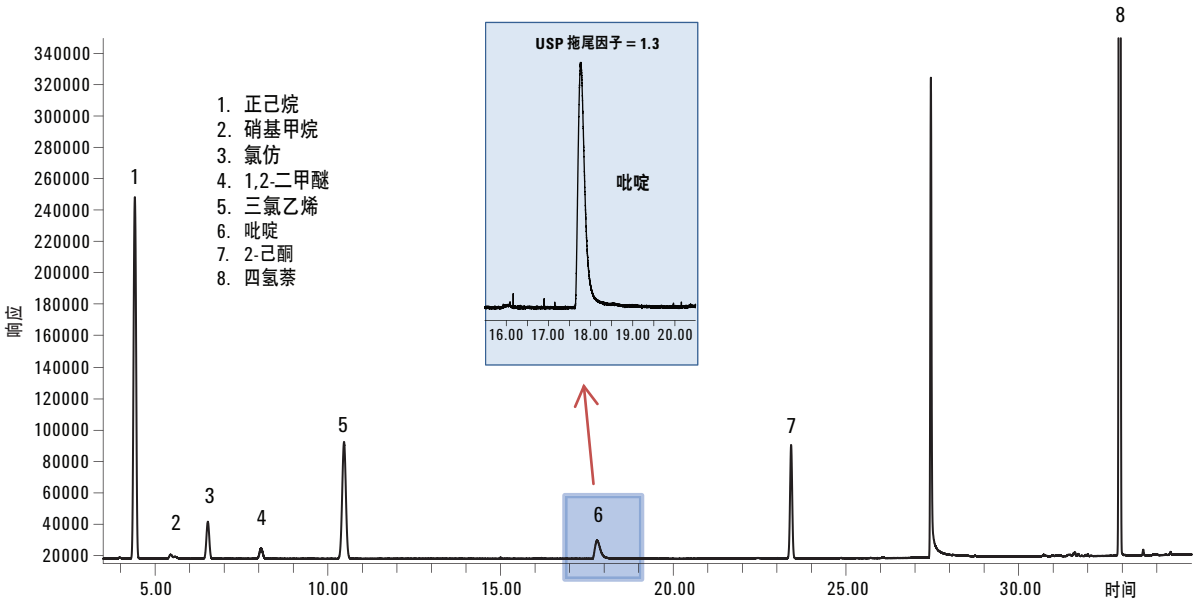

图 6. 在 USP < 467> 特定限值下，2B 级溶剂经安捷伦针对 USP <467> 的 J&W DB-Select 624UI 色谱柱（30 m x 0.32 mm，1.8 µm，部件号 123-0334UI）分析得到的 FID 谱图

图 7 对吡啶在安捷伦色谱柱和其他厂家 G43 色谱柱上的 USP 拖尾结果进行了比较。每根色谱柱使用的仪器、运行条件以及色谱柱规格都相同。注意，在厂家 Y 的色谱柱上，200 mg/L 水平下未检测出吡啶的色谱峰。

结论

安捷伦针对 USP <467> 的 J&W DB-Select 624UI 色谱柱在 USP <467> 特定限值下对 1 级、2A 级和 2B 级溶剂的分析过程中表现出了卓越的性能。关键组分的难分离化合物对得到了很好的分离，并且能够观察到在特定限值下四氯化碳的信噪比大于 6。吡啶的 USP 拖尾因子为 1.3，明显优于同一仪器条件下其他厂家 G43 色谱柱上获得的结果。

结果表明，与其他非特殊设计和测试的 G43 色谱柱相比，安捷伦 J&W DB-Select 624UI <467> 色谱柱表现出了更优越的性能。惰性测试造就了这一差别，安捷伦的技术创新再一次帮助用户满足了他们对卓越分离效果的不懈追求。

参考文献

1. United States Pharmacopeia. USP 34-NF29, General Chapter USP <467> Residual Solvents. USP, Pharmacopeia Convention Inc., Rockville MD, USA (12/2011).
2. International Conference on Harmonization. Impurities: Guideline for Residual Solvents, Q3C(R5). ICH of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, Current Step 4 Version (2/2011).
3. Roger L. Firor. 使用安捷伦 7697A 顶空进样器进行 USP <467> 溶剂残留的高精度分析，安捷伦科技有限公司，出版号 5990-7625CHCN（2011）。

更多信息

本文中的数据仅代表测定的典型结果。有关产品和服务的更多信息，请访问 www.agilent.com/chem/624UI。

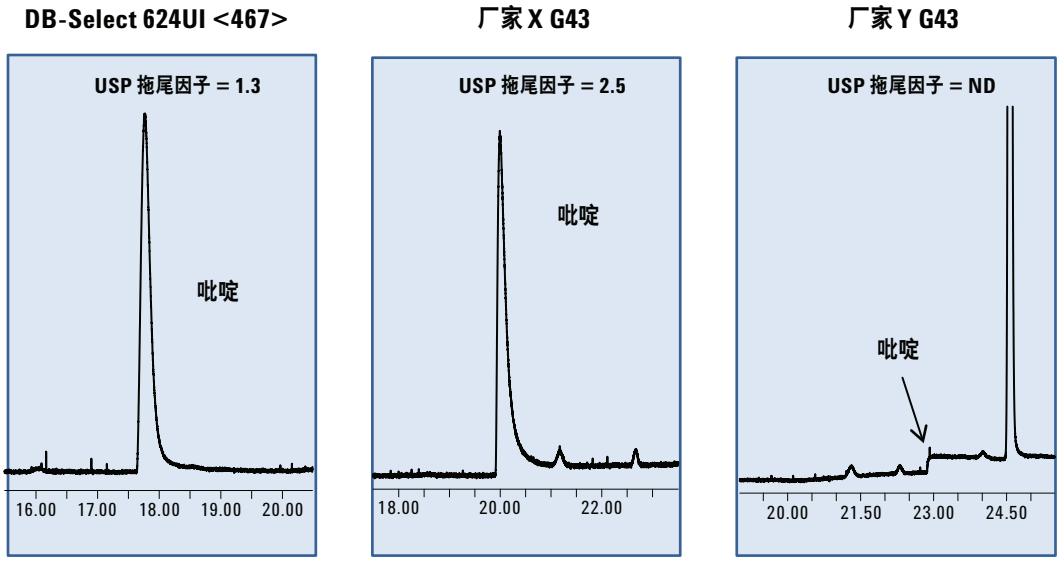

图 7. 200 mg/L 的吡啶在安捷伦针对 USP <467>的 J&W DB-Select 624UI 色谱柱和其他厂家 G43 色谱柱上的峰形比较

www.agilent.com/chem/cn

安捷伦对本资料可能存在的错误或由于提供、展示或使用本资料所造成的间接损失不承担任何责任。

本资料中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2012
2012 年 6 月 7 日，中国印刷
5991-0616CHCN



Agilent Technologies