

使用配备 7697A 顶空进样器的 Agilent 5977A MSD 和 7890B GC 进行 USP <467> 残留溶剂分析

应用简报

药学

作者

Roger L. Firor 和 Mike Szelewski
安捷伦科技公司
2850 Centerville Rd
Wilmington, DE 19808-1610
USA

摘要

本应用报告将 Agilent 7697A 顶空进样器与 Agilent 5977 系列 GC/MSD 系统联用，根据 USP <467> 方法步骤 A，对水溶液中极限浓度的残留溶剂进行了分析。1 类、2A 类和 2B 类溶剂的扫描数据重现性优于 2.5% RSD。使用配置有 1 mm 内径惰性衬管的多模式进样口 (MMI)，自熔融石英顶空传输管线导入样品。研究了包括 Atune 和 Etune 在内的几种调谐方式对数据采集的影响，离子源和四极杆温度分别为 250 °C 和 200 °C。使用 MassHunter Quant 软件进行数据分析。



Agilent Technologies

引言

药物中残留溶剂的分析对患者的安全保护极为重要。质量保障实验室 (QA) 通常采用美国药典 (USP) 方法 <467> 实现这一目标。[1] 这是全球范围内用于质量控制的基本方法。与行业 ICH Q3C 杂质检测指导原则一致。

药物中的残留溶剂可能来源于活性药物成分 (API) 或最终产品的生产过程。因为残留溶剂不具备治疗作用，所以应尽可能将其去除。对残留溶剂水平的监控还基于许多原因，包括安全性，以及对晶型、溶解度、生物利用度和稳定性的影响。必须对所有药物成分、赋形剂和产品进行监测。

通常遵循 USP <467> 中的指导原则 [1]。对顶空参数进行修改和优化，以利用 7697A 顶空进样器的先进性能。可以使用 USP 相关论文中介绍的分析方法，但可能需要验证并与原 USP 方法进行对比。为防止混淆，应对各类溶剂分别进行分析。

USP <467> 规定对于 1 类和 2 类残留溶剂应遵循以下三种操作方法：

1. 步骤 A: 鉴定和限度检测
2. 步骤 B: 确证检测
3. 步骤 C: 定量检测

步骤 A 使用 G43 固定相 (Agilent 624 色谱柱, VF-624ms 或 DB-624)，步骤 B 使用 G16 固定相 (HP-INNOWax)。一般来说，如果分析物在一种固定相中共洗脱，在另一种上则不会共洗脱。由于本应用报告的主要目的是评价灵敏度和重现性，所以我们仅使用 VF-624ms 柱。另一种配置可以采用双 FID (624 和 INNOWax 柱) 或 FID/MSD，已在前文进行讨论 [2, 3, 4, 5]。

当溶剂浓度小于等于 USP 467 极限浓度时，顶空方法的重现性通常较差。而使用先进的气动系统、卓越的热区域控制和精确的定时传输，提高了残留溶剂分析的重现性和精密度。包括新型惰性提取器离子源在内的 5977A 系列 GC/MSD 系统功能，也有助于改善重现性。

USP 467 在世界各地使用配置 FID 的 GC-顶空系统的制药 QA 实验室中广为人知，并被广泛使用。GC-顶空-MSD 系统可以为残留溶剂分析（特别是在遇到未知成分时）提供更多功能。使用 SIM 模式，可以解决共洗脱问题，并得到更高的灵敏度。

实验

本应用报告使用 USP 467 方法步骤 A 研究配置 7890B-7697A 的 5977 系列 GC/MSD 系统性能。7890B GC 配置多模式进样口 (MMI)，使用 1 mm 内径去活直式衬管 (部件号 5190-4047)。

使用纯水配制极限浓度的 1 类、2A 类和 2B 类残留溶剂。不含有机物的洁净水对良好的标准品配制极为重要。各类溶液按其最终浓度配制 250 mL 溶液，再用自动移液器取 6 mL 转入 20 mL 样品瓶中。只使用 PTFE 涂层的隔垫。溶液中不得加入盐。残留溶剂标准品的安捷伦部件号如下：

- 1 类：部件号 5190-0490
- 2A 类：部件号 5190-0492
- 2B 类：部件号 5190-0513

使用 0.53 mm 内径去活石英管线将 7697A 顶空进样器与进样口连接。到 MMI 的接口通过隔垫。综合考虑分离度、分析速度、容量和使用简便性，本研究使用 30 m、0.25 mm 内径 VF-624ms 柱。

通过 7697A 顶空进样器中的气动控制模块 (PCM) 对样品瓶压力进行控制, 载气从进样口 EPC 到顶空进样器, 再回到 7890B 进样口。通过 EPC 控制进样步骤, 使用户在交叉污染最小的连续而重复的方法中, 控制顶空样品瓶进样的各个方面。EPC 模块中还有大气压补偿。通过 7697A 顶空进样器键盘或集成化顶空控制软件可以设置参数。图 1 显示 MSD 化学工作站上的顶空样品瓶进样面板。

使用 7697A 顶空进样器上控制排放口, 可以使用户在样品管充满后灵活地控制最终样品瓶压力, 从而提高重现性, 同时还可以根据分析物 k (分配系数) 值提高灵敏度 [6]。7697A 顶空进样器有三种样品瓶加压模式: 1) 限流加压, 2) 将流速控制在 200 mL/min, 加压, 3) 固定体积。加压模式适用于所有实验。图 1 显示设定样品瓶进样参数的 MSD 化学工作站面板。请注意, 顶空进样 HS 瓶压力从 15 psi 逐渐降低到 10 psi。

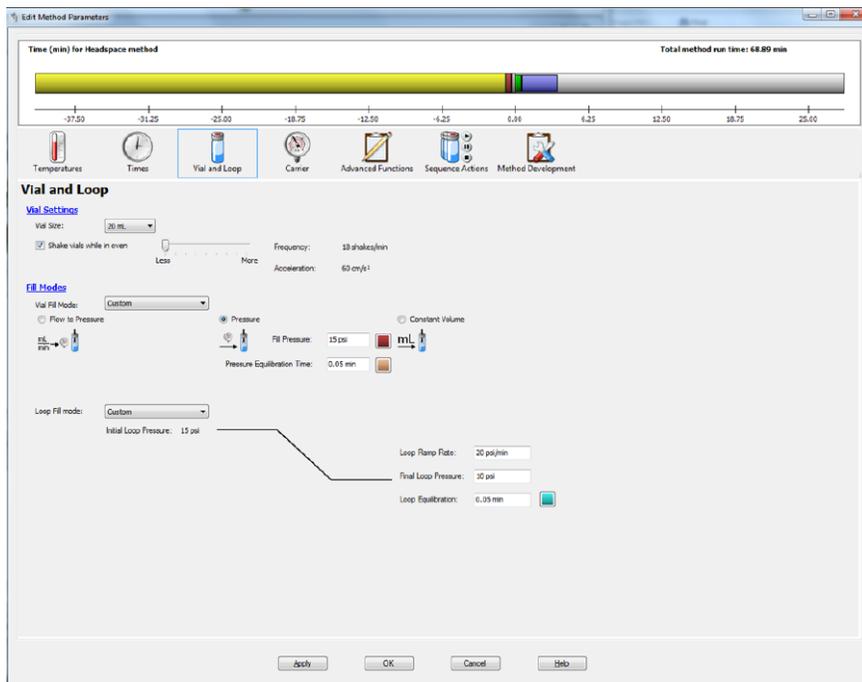


图 1. 20 mL 样品瓶参数, HS 样品瓶加压至 15 psi, 然后以 20 psi/min 排放至 10 psi

在排放管线中设计了一个可减少冷凝的水分捕集阱，在两次运行之间排放。顶空进样定量管为 1.0 mL。使用氦气对载气和样品瓶进行加压。表 1 列出了本应用的特定参数。

Mass Hunter 软件

5977 系列 GC/MSD 系统引入包含使用 MassHunter (MH) 软件的能力，与 7000B GC/MS/MS 系统相似。数据采集得到了改善，尤其是便于设置 SIM 表。在一个屏幕上可以快速浏览 SIM、扫描和温度参数。在 MH 中可以输入和直接使用 Current MSD 化学工作站的采集方法。

数据分析可以用 MH 定性分析 (Qual) 或 MH 定量分析 (Quant) 软件完成。本应用报告用 Qual 显示色谱图。用 Quant 在 Excel 中进行化合物积分，用 Current MSD 化学工作站定量数据库（校正表）所做的 RSD 计算可以方便地用转换器转到 MH Quant 中使用。

不需要使用 MH Qual 和 Quant。5977 系列 GC/MSD 系统采集软件可以自动将数据保存为 MH 格式和经典的 MSD 化学工作站格式。实验室可以选择一种进行数据分析。

本研究中使用的软件版本如下：MSD ChemStation B.07.00 采集软件、MassHunter B.05.01 Quant 和顶空控制软件 B.01.04。

表 1. 残留溶剂分析的系统参数

气相色谱仪	Agilent 7890B GC
进样口	多模式进样口
衬管	1 mm 内径超高惰性衬管（部件号 5190-4047）
进样口温度	140 °C
进样口流量	恒流, 1.3 mL/min
分流比	20:1, 100:1
升温程序	40 °C (5 min), 以 18 °C/min 速度升温至 240 °C (2 min)
色谱柱	VF-624ms, 30 m × 0.25 mm, 1.4 μm
MSD	Agilent 5977A 系列 GC/MSD 系统
传输管线	190 °C
MS 离子源	250 °C
MS Quad	200 °C
调谐	使用 etune、atune 和 bfb 调谐
扫描	29 到 150 amu, 10.3 scans/s
增益因子	1.00
顶空	Agilent 7697A 顶空进样器
样品瓶加压气体	氦气
定量管	1.0 mL
顶空瓶旁流	20 mL/min
传输管线	0.53 mm 去活熔融硅胶
HS 柱温箱温度	85 °C
HS 定量管温度	85 °C
HS 传输管线温度	100 °C
样品瓶	20 mL, PTFE/硅酮隔垫
顶空瓶振荡	水平 1
顶空瓶填充模式	加压
顶空瓶加压	15 psi
定量管填充模式	自定义
定量管加压速度	20 psi/min
定量管最终压力	10 psi
定量管平衡时间	0.05 min
载气控制模式	GC 载气控制
提取后放空	开启
进样后放空	100 mL/min, 持续 3 min

结果和讨论

表 2 显示了用纯水配制的极限浓度 1 类残留溶剂的 TIC。请注意，1 类溶剂苯和 1,2-二氯乙烷在 VF-624ms 柱上得到了基线分离。

如表 2 所示，报道了各类溶剂的扫描 RSD 和 2A 类溶剂的 SIM RSD。大多数 RSD 均低于 2.5%。RSD 值偏高一些的溶剂一般 k 值都偏低。样品前处理的可变性对低 k 值溶剂的影响更大。其他溶剂系统，如二甲亚砜 (DMSO)、二甲基乙酰胺 (DMAC)、1,3-二甲基-2-咪唑啉酮 (DMI)，或混合溶剂 (如 DMSO/水)，对响应值影响显著，但若未能优于本研究所使用水性稀释剂，则 RSD 应该相同。

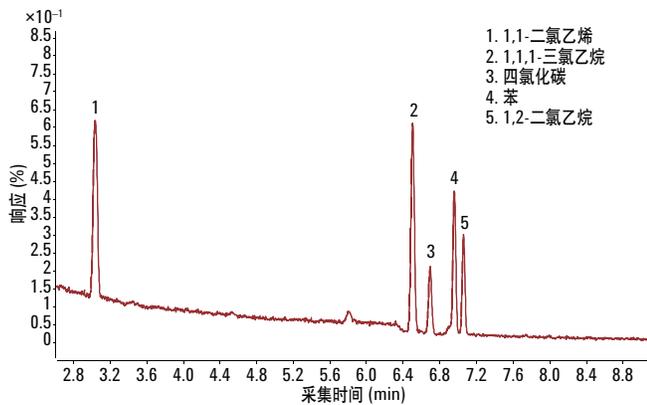


图 2. 使用纯水配制的极限浓度 1 类残留溶剂的 TIC

表 2. 1 类、2A 和 2B 类残留溶剂的重现性。所有类别的扫描数据和 2A 类 SIM 数据。用水性稀释剂配制极限浓度

	化合物	USP 限值 (ppm)	扫描 RSD (%)	SIM RSD (%)
1 类	n = 8			
	1,1-二氯乙烯	8	0.9	
	1,1,1-三氯乙烷	1500	1.9	
	四氯化碳	4	1.5	
	苯	2	0.7	
	1,2-二氯乙烷	5	0.9	
2A 类	n = 10			
	甲醇	3000	2.8	2.4
	乙腈	410	3.3	2.3
	二氯甲烷	600	2.5	2.2
	反式-1,2-二氯乙烯	1870	2.4	2.2
	顺式-1,2-二氯乙烯	1870	2.1	2.1
	四氢呋喃	720	3.0	2.2
	环己烷	3880	2.7	1.3
	甲基环己烷	1,180	4.3	1.6
	1,4-二氧杂环己烷	380	2.6	2.3
	甲苯	890	0.7	2.0
	氯苯	360	1.9	2.1
	乙苯	2170	1.9	2.1
	间二甲苯, 对二甲苯	2170	2.1	1.8
邻二甲苯	2170	2.1	1.8	
2B 类	n = 9			
	己烷	290	3.2	
	硝基甲烷	50	3.8	
	氯仿	60	2.5	
	1,2-二甲氧基乙烷	100	2.7	
	三氯乙烯	80	2.5	
	吡啶	200	3.9	
	2-己酮	50	2.4	
	四氢化萘	100	2.5	

2A 类溶剂典型 TIC 如图 3 中所示。对该色谱图的局部进行放大，各小峰见图 4。

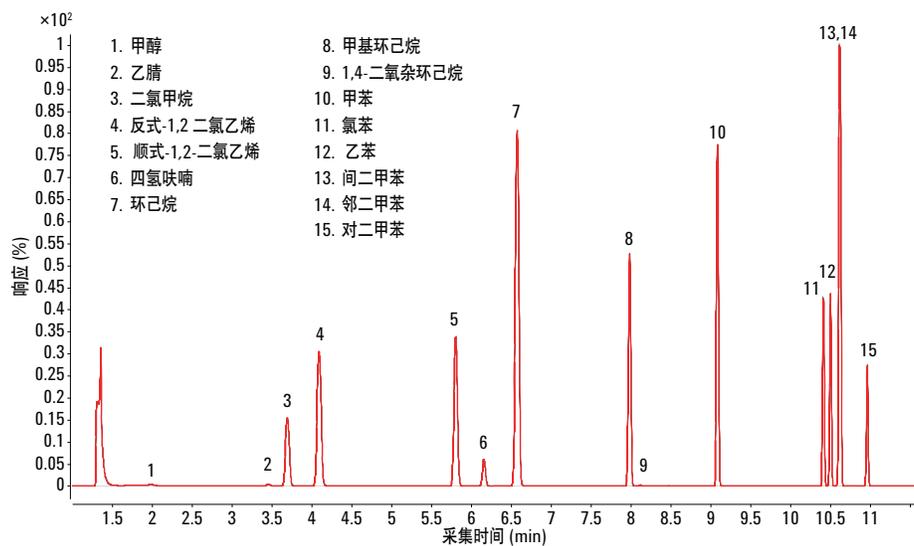


图 3. 2A 类溶剂的典型 TIC

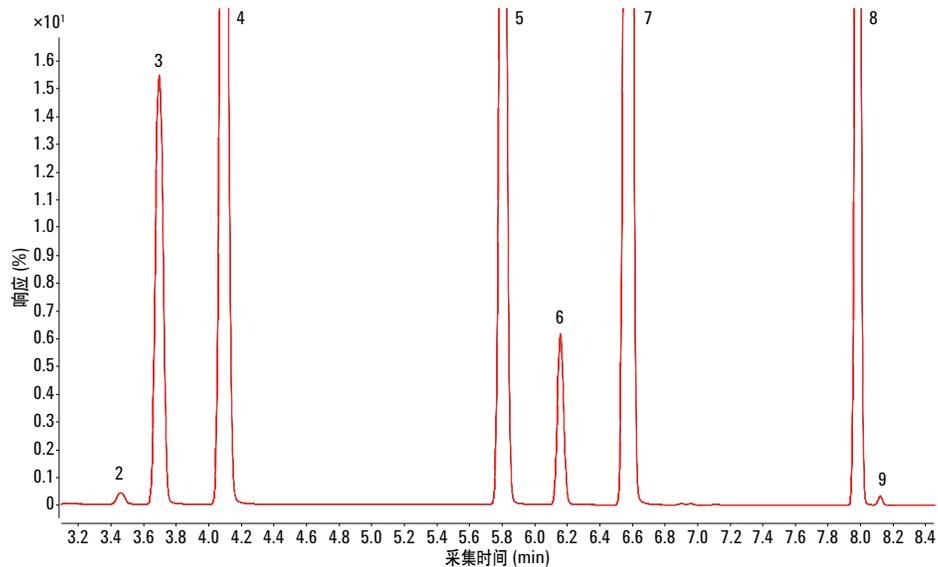


图 4. 局部色谱图显示低响应化合物，乙腈和 1,4-二氧杂环己烷。峰编号参见图 3

图 5 和表 3 分别显示了 SIM 色谱图和所用的 SIM 离子。分析使用的分流比为 100:1。对衬管的快速吹扫大大提高了甲醇的峰对称性。即使在高分流比条件下，信噪比 (S/N) 仍非常理想。图 6 显示了 MSD 化学工作站采集软件的 SCAN/SIM 设置面板 (2A 类)。

图 7 为 2B 类溶剂的典型 SIM。分流比为 20:1。可见硝基甲烷具有良好 S/N。因其极性的关系，吡啶一直是一种难分离溶剂，在 VF-624 ms 柱上有轻微的峰拖尾。表 4 列出了所用的 SIM 参数，图 8 显示 MSD 化学工作站的设置面板。

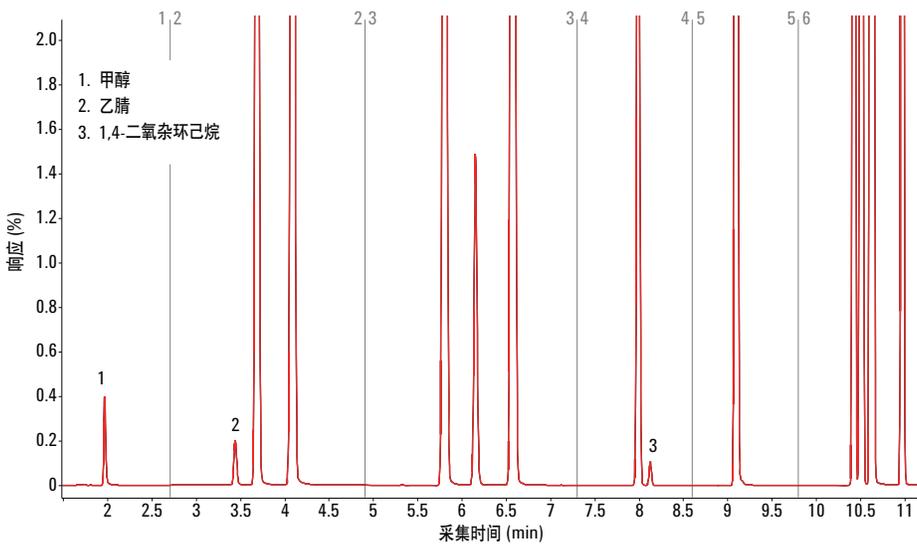


图 5. 2A 类 SIM 色谱图和 SIM 组时间

表 3. 2A 类溶剂的 SIM 分组

组别	化合物	SIM 离子
1	甲醇	31,29
2	乙腈 二氯甲烷 反式-1,2-二氯乙烯 顺式-1,2-二氯乙烯	39,41,84,86,96,98
3	四氢呋喃 环己烷 甲基环己烷	56,71,72,84,96,98
4	1,4-二氧杂环己烷	58,83,88,98
5	甲苯	91,92
6	氯苯 乙苯 间二甲苯、邻二甲苯、对二甲苯	91,106,112,114

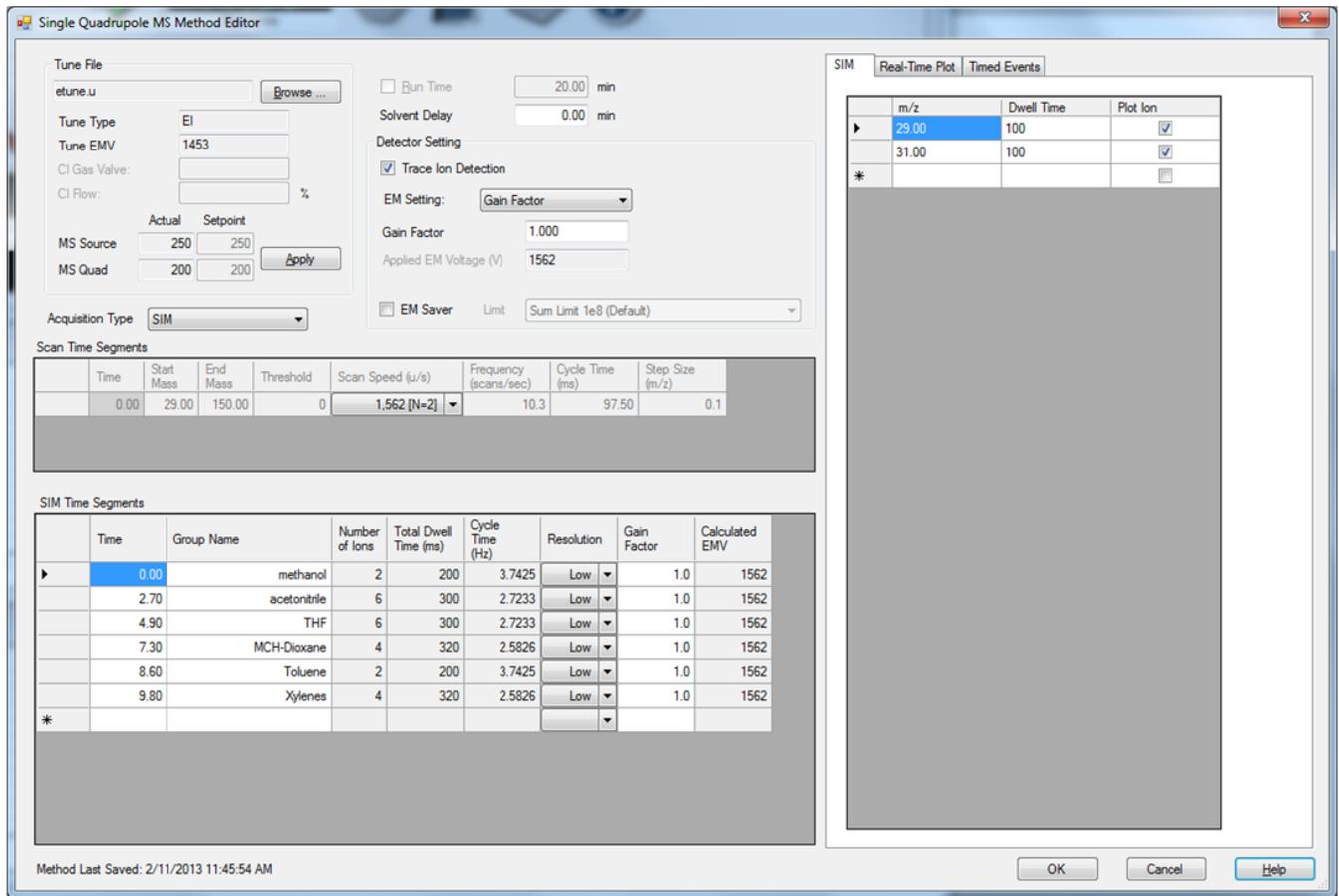


图 6. MSD 化学工作站采集 SCAN/SIM 设置面板 (2A 类)

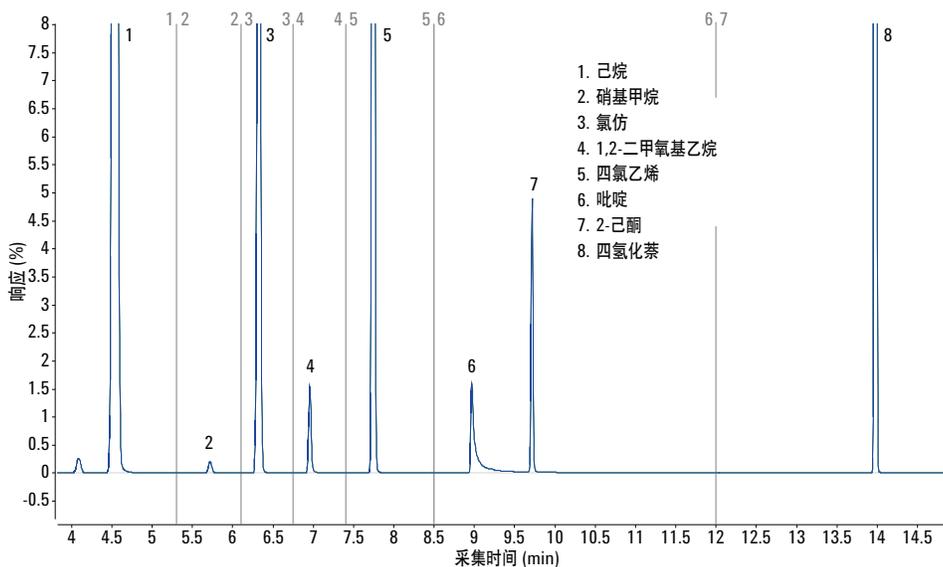


图 7. 2B 类溶剂的典型 SIM 分析

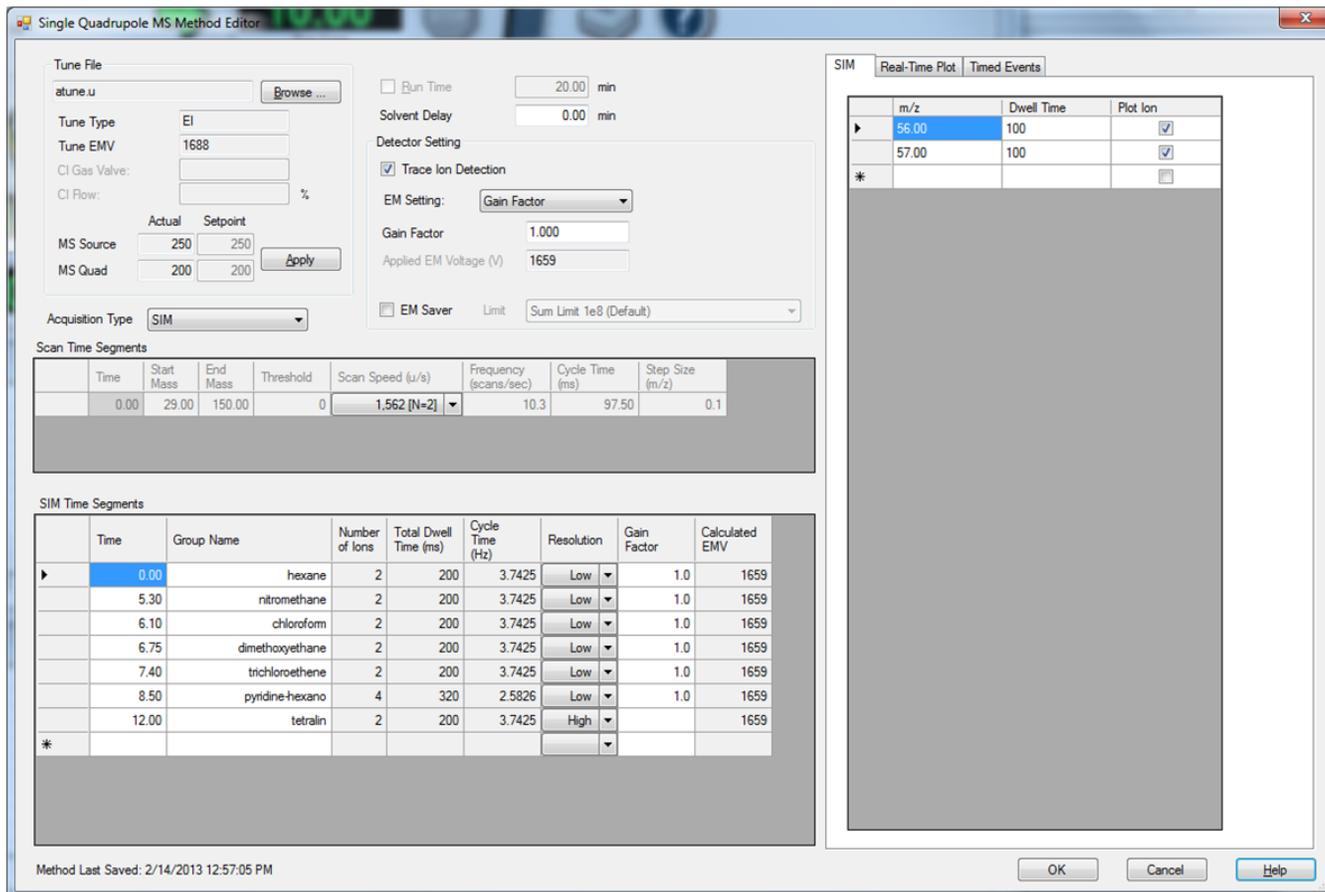


图 8. MSD 化学工作站对 2B 类溶剂的 SCAN/SIM 设置面板

当在 624 固定相上对所有三类溶剂进行分析时，可能会出现共洗脱现象。通常的解决方案是，在 FID 系统中采用双柱配置，用 INNOWax 柱作为第二根色谱柱，得到与 624 固定相不同的洗脱顺序。使用 MSD SIM 只用 624 固定相即可解决这一问题。

在新药开发和新制剂放大实验过程中，5977 系列 GC/MSD 系统是强大的工具。该系统也特别适用于无需遵循 USP <467> 指导原则的一般性方法开发。当存在未知峰或溶剂时，该系统可以作为最好的解决方案。在寻找已知或未知的低水平杂质时，SIM 的灵敏度也是一个主要优势。

表 4. 2B 类溶剂的 SIM 分组

组别	化合物	SIM 离子
1	己烷	56,57
2	硝基甲烷	46,61
3	氯仿	83,85
4	二甲氧基乙烷	45,60
5	三氯乙烯	130,132
6	吡啶, 2-己酮	52,58,79,85
7	四氢化萘	104,132

结论

Agilent 5977 系列 GC/MSD 系统/Agilent 7890B GC/Agilent 7697A 顶空进样器在残留溶剂的分析中具有卓越的重现性。MSD 是研究包括 API 和赋形剂在内的制药原料的强大分析工具。在需要鉴定未知物的药物开发和工艺放大实验中尤为有用。

在 7697A 顶空进样器中，惰性样品通道、温度稳定性在设定点 ± 0.1 °C 之内的热区域，以及灵活的 EPC 控制样品瓶进样，都有助于提高该系统性能。在该系统中基本上不存在交叉污染。采用用户可设定（流量和时间）的针头/定量管放空和排放管线放空，在两次运行之间有效地净化了系统。

本研究中列出的方法介绍了使用 5977 系列 GC/MSD 分析残留溶剂的几种可能的策略。实验室应遵循 USP 或 ICH 指导原则对其使用的方法进行系统适用性研究和验证。当需要进行未知物鉴定或 QA 实验室需要进行明确确证的时候，MSD 配置尤为有用。

参考文献

1. USP 32-NF 27, General Chapter USP <467> Organic volatile impurities, United States Pharmacopeia. Pharmacopoeia Convention Inc., Rockville, MD, 8/2009
2. Albert E Gudat 和 Roger L. Firor, “改善残留溶剂分析的保留时间、峰面积重现性和灵敏度”，安捷伦应用报告，出版物编号 5989-6079CHCN
3. Roger L. Firor, “使用 Agilent 7697A 顶空进样器进行 USP <467> 溶剂残留的高重现性分析”，安捷伦应用报告，出版物编号 5990-7625CHCN

4. Bart Tienpont, Frank David, Pat Sandra 和 Roger L. Firor, “Analysis of USP<467> Residual Solvents using the Agilent 7697A Headspace Sampler with the Agilent 7890B Gas Chromatograph”（使用配置 Agilent 7697A 顶空进样器的 Agilent 7890B 气相色谱仪对 USP<467> 残留溶剂进行分析），安捷伦应用报告，出版物编号 5991-1834EN
5. Roger L. Firor, “使用 Agilent 7890A 气相色谱和低热质 (LTM) 系统快速分析 USP 467 残留溶剂”，安捷伦应用报告，出版物编号 5990-5094CHCN
6. Roger L. Firor, “Optimizing Vial Pressurization Parameters for the Analysis of USP<467> Residual Solvents Using the 7697A Headspace Sampler”（对使用 7697A 顶空进样器分析 USP<467> 残留溶剂时的样品瓶压力参数），安捷伦应用报告，出版物编号 5990-9106EN

如需更多信息

这些数据仅代表典型结果。有关我们的产品和服务的详细信息，请访问我们的网站：www.agilent.com/chem/cn

www.agilent.com/chem/cn

安捷伦对本资料中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，2013
中国印制
2013 年 3 月 21 日
5991-2079CHCN



Agilent Technologies