

АВТОРИ

Рахул Раут, PerkinElmer. Inc.,  
Болтон, Канада

Майлз Сноу, PerkinElmer. Inc.,  
Болтон, Канада

## HS-GC-FID: Аналіз залишкових розчинників згідно з USP 467

### Вступ

Органічні розчинники зазвичай використовуються у виробництві активних фармацевтичних

інгредієнтів (API) і фармацевтичних препаратів. Розчинники використовуються для різних цілей, зокрема як середовища для реакції синтезу, для розділення та очищення API під час синтезу, для підвищення виходу, надання бажаних характеристик, як-от кристалічна форма та розчинність, а також для інших цілей. У процесі виробництва розчинник не завжди повністю витрачається або розкладається, тому нерідко певна кількість розчинника залишається в кінцевому продукті. Вміст залишкового розчинника не повинен перевищувати рівні, встановлені задля забезпечення безпеки пацієнтів. Розділ 467 Фармакопеї США (USP) визначає залишкові розчинники, які потребують контролю у фармацевтичних препаратах, встановлює допустимі межі концентрації та надає детальні методи скринінгу, підтвердження та кількісного визначення залишкових розчинників, включно з підготовкою зразків та аналітичними умовами.<sup>1</sup>

У цій брошурі наведені результати аналізу залишкових розчинників відповідно до вимог USP 467, виконаного за допомогою системи PerkinElmer GC 2400™ із полум'яно-іонізаційним детектором (FID) та парофазним пробовідбірником PerkinElmer HS 2400™, які демонструють покращену продуктивність та оптимізацію лабораторного часу. Програма обробки хроматографічних даних PerkinElmer SimplicityChrom™ контролює весь аналітичний робочий процес, від інтегрованого керування приладом до звітності та перегляду/затвердження даних. Програмне забезпечення підтримує відповідність вимогам розділу 21 Кодексу федеральних правил (CFR) у частині 11, які є необхідними для виконання аналізу залишкового розчинника згідно з USP 467.

USP 467 визначає три класи залишкових розчинників у фармацевтичних препаратах, які відрізняються відомими або потенційними ризиками для здоров'я пацієнтів:

- Клас 1 — слід уникати через канцерогенність
- Клас 2 — вміст має бути обмежений через токсичність
- Клас 3 — малотоксичні

Зрозуміло, що залишкові кількості розчинників класу 1 і класу 2 регламентуються більш суворо, ніж розчинників класу 3.

Нижче наведений перелік залишкових розчинників класу 1 та їх граничний вміст у фармацевтичних препаратах відповідно до вимог USP:

Розчинник класу 1	Гранично допустима концентрація (ppm)
Бензол	2
Чотирхлористий вуглець	4
1,2-Дихлоретан	5
1,1-Дихлоретен	8
1,1,1-Трихлоретан	1,500

Залишкові розчинники класу 2 та їх гранично допустимі концентрації у фармацевтичних препаратах, які відповідають USP:

Розчинник класу 2	Гранично допустима концентрація (ppm)
Ацетонітрил	410
Хлорбензол	360
Хлороформ	60
Кумол	70
Циклогексан	3,880
1,2-Дихлоретен	1,870
1,2-Диметоксиетан	100
N,N-Диметилацетамід	1,090
N,N-Диметилформаїд	880
1,4-Діоксан	380
2-Етоксіетанол	160
Етиленгліколь	620
Формаїд	220
Гексан	290
Метанол	3,000
2-Метоксиетанол	50
Метилбутилкетон	50
Метилциклогексан	1,180
Метиленхлорид	600
Метилізобутилкетон	4,500
N-Метилпіролідон	530
Нітродетан	50
Піридин	200

Розчинник класу 2	Гранично допустима концентрація (ppm)
Сульфолан	160
Тетрагідрофуран	720
Тетралін	100
Толуол	890
Трихлоретилен	80
Ксилол*	2,170

\* Зазвичай 60 % мета-ксилолу, 14 % пара-ксилолу та 9 % орто-ксилолу з 17 % етилбензолу.

Кожен із залишкових розчинників класу 3 має обмеження концентрації 5000 ppm згідно з вимогами USP:

Розчинники класу 3	
Оцтова кислота	Гептан
Ацетон	Ізобутилацетат
Анізол	Ізопропілацетат
1-Бутанол	Метилацетат
2-Бутанол	3-Метил-1-бутанол
Бутилацетат	Метилетилкетон
трет-Бутилметиловий ефір	2-Метил-1-пропанол
Диметилсульфоксид	Пентан
Етанол	1-Пентанол
Етилацетат	1-Пропанол
Етиловий ефір	2-Пропанол
Етилформиат	Пропілацетат
Мурашина кислота	Триетиламін

USP 467 визначає газову хроматографію з полум'яно-іонізаційним детектуванням (GC-FID) як кращий аналітичний метод для аналізу залишкових розчинників у фармацевтичних препаратах. Для фармацевтичної промисловості вкрай важливо мати можливість ефективно й точно ідентифікувати та кількісно визначати залишкові розчинники у препаратах, щоб досягти відповідності нормативам USP 467.



Система PerkinElmer GC 2400 з парофазним пробовідбірником PerkinElmer HS 2400.

## Прилади

Система PerkinElmer GC 2400 з парофазним пробовідбірником PerkinElmer HS 2400 є оптимальним рішенням для оцінки залишкових розчинників згідно з методом USP 467.

## Експериментальна частина

Розділ 7 USP 467 описує три перевірені процедури (А, В, С) для визначення залишкових розчинників класів 1 і 2. У цьому робочому процесі використовувалася процедура А для перевірки залишкових розчинників класу 1 і класу 2. Ці процедури, однак, не були підтверджені для розчинників класу 3. Таким чином, для розчинників класу 3, згідно з рекомендаціями USP 467, був розроблений модифікований альтернативний метод, заснований на процедурі А.

## Матеріали

Стандартні розчини готували, як описано в розділі 8 USP 467 для водорозчинних речовин. Стандартні суміші залишкового розчинника, еквівалентні USP, були отримані від Restek (Меріленд, США). Суміші класу 1, класу 2А та класу 2В розбавляли для приготування стандартних розчинів, як описано в USP 467. Суміш розчинників класу 3 використовували як є при 5000 ppm. Використані витратні матеріали наведено в таблиці 1.

Таблиця 1: Витратні матеріали, використані для аналізу.

Витратні матеріали	Артикул PerkinElmer
Капілярна колонка Elite 624, 30 м x 0,32 мм ID x 1,8 мкм	N9316203
Лайнер прямиий 1 мм ID	N6502037
Набір віал 20 мл Crimp Top Headspace Convenience Kit	N9303992
20 мм ручний кримпер	N9302785
Септи для інжектора зелені Green Injection Port Septa	N9306218
Різак для керамічної колонки	N9301376
Ферули для капілярної колонки з композиту графіт/веспел 0,5 мм ID	09920105
Ущільнювальне кільце для скляного лайнера	09200714
Потрійний фільтр (водень і азот)	N9306110
Уловлювач вологи/вуглеводнів (повітря)	N9306117
Потрійний фільтр (гелій)	N9306106

## Апаратне та програмне забезпечення

Для аналізу залишкових розчинників за методологією USP 467 використовувалася система PerkinElmer GC 2400 із пробовідбірником HS 2400 і полум'яно-іонізаційним детектором (FID). Колонку PerkinElmer Elite 624 кондиціонували відповідно до рекомендованого протоколу в Короткому посібнику з догляду за капілярною колонкою PerkinElmer.

Пробовідбірник був налаштований у режимі об'єму інжекції. Це дозволяє газу-носію надходити в аналітичну колонку з заданою швидкістю потоку протягом заданого періоду часу. Керування приладом та аналіз даних було виконано за допомогою програмного забезпечення SimplicityChrom CDS.

## Метод

Параметри пробовідбірника HS 2400 та умови аналізу описані в таблиці 2 (для залишкових розчинників класу 1 і класу 2А/2В) і таблиці 3 (для залишкових розчинників класу 3). Умови були взяті та адаптовані з процедури А USP 467 відповідно до потреб аналізу.

Таблиця 2: Умови хроматографічного аналізу для залишкових розчинників класу 1 і класу 2А/2В.

Параметри ГХ			
Прилад	Система PerkinElmer GC 2400		
Колонка	PerkinElmer Elite 624, 30 м x 0,32 мм ID x 1,8 мкм		
Параметри термостата ГХ	На початку	Лінійна зміна	Наприкінці
	40° C (20 хв)	10° C/хв	240° C (20 хв)
Параметри пробовідбірника			
Температура термостата	80 °C		
Температура голки	85 °C		
Температура трансферної лінії	85 °C		
Інжекція під високим тиском	Вимкнено		
Програма тиску в колонці	13 psi утримується протягом 20 хв, поступово збільшується зі швидкістю 0,3 psi/хв до 18 psi, утримується протягом 24 хв		
Час циклу ГХ	70 хвилини		
Час герметизації	1 хвилина		
Час термостатування	64 хвилини		
Час виведення	0,2 хвилини		
Час вентиляції	5 секунд		
Об'єм інжекції	1,0 мл (0,04 хвилини)		
Параметри інжекції			
Носій/режим	Гелій/Постійна швидкість 35 см/сек Відношення розподілу 1:5		
Температура	3 поділ/без поділу потоку при 200 °C		
Потік обдува септи	3 мл/хв		
Параметри детектора			
Тип	FID		
Температура	250 °C		
Водень	30 мл/хв		
Повітря	400 мл/хв		
Підживлювальний газ	Азот 25 мл/хв		
Швидкість передачі даних	10 точок/сек, 2 точки/сек Клас 1		

Таблиця 3: Умови хроматографічного аналізу для залишкових розчинників класу 3.

Параметри ГХ			
Прилад	Система PerkinElmer GC 2400		
Колонка	PerkinElmer Elite 624, 30 м x 0,32 мм ID x 1,8 мкм		
Параметри термостата ГХ	На початку	Лінійна зміна	Наприкінці
	40 °C (5 хв)	22 °C/хв	60 °C
	60 °C	5 °C/хв	80 °C
	80 °C	25 °C/хв	240 °C (2 хв)
Параметри пробовідбірника			
Температура термостата	80 °C		
Температура голки	180 °C		
Температура трансферної лінії	180 °C		
Інжекція під високим тиском	Вимкнено		
Програма тиску в колонці	13 psi постійно		
Час циклу ГХ	25 хвилин		
Час герметизації	5 хвилин		
Час термостатування	20 хвилин		
Час виведення	0.2 хвилин		
Час вентиляції	5 секунд		
Об'єм інжекції	0.75 мл (0.03 хвилин)		
Параметри інжекції			
Носій/режим	Гелій/Постійна швидкість 25 см/сек Відношення розподілу 1:5		
Температура	3 поділ/без поділу потоку при 200 °C		
Потік через септу	3 мл/хв		
Параметри детектора			
Тип	FID		
Температура	300 °C		
Водень	30 мл/хв		
Повітря	400 мл/хв		
Підживлювальний газ	Азот 25 мл/хв		
Швидкість передачі даних	10 точок/сек		

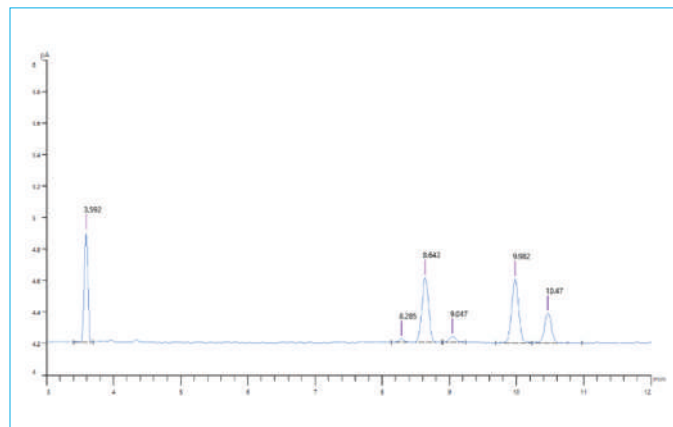
## Результати й обговорення

Результати методу для залишкових розчинників класу 1, 2 і 3 представлені в наступних розділах.

### Залишкові розчинники класу 1

Аналіти класу 1 готували за процедурою А, як описано у USP 467. На вимогу USP щодо придатності для визначення залишкових розчинників класу 1 система повинна мати співвідношення сигнал/шум (S/N) не менше (NLT) 5 для 1,1,1-трихлоретану та NLT 3 для інших розчинників класу 1. Програмне забезпечення SimplicityChrom CDS автоматично розраховує співвідношення сигнал/шум на основі вимог USP у вибраній області шуму, близькій до досліджуваного аналіту.

На малюнку 1 показано хроматограму для залишкових розчинників класу 1 із повним розділенням менше ніж за 12 хвилин. У таблиці 4 представлені дані для кожного аналіту разом із результатами співвідношення S/N. Результати демонструють, що система PerkinElmer GC 2400 із пробовідбірником HS 2400 здатна задовольняти – а частіше перевершувати – вимоги до системи щодо співвідношення сигнал/шум, встановлені USP для визначення розчинників класу 1 згідно з процедурою А.



Малюнок 1: Хроматограма критичної області суміші залишкових розчинників класу 1.

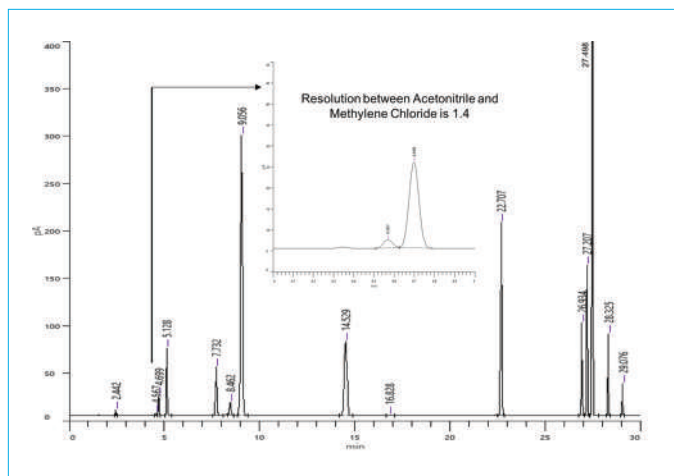
Таблиця 4: Дані аналізу для залишкових розчинників класу 1.

Назва піку	Конц. станд. (мкг/мл)	Час утримання (хв)	Співвідношення S/N	Вимоги USP
1,1-Дихлоретан	0.07	3.592	391	NLT 3
1,1,1-Трихлоретан	0.08	8.643	190	NLT 5
Чотирихлористий вуглець	0.03	9.047	16	NLT 3
Бензол	0.02	9.982	212	NLT 3
1,2-Дихлоретан	0.04	10.47	101	NLT 3

### Залишкові розчинники класу 2

Залишкові розчинники класу 2А були приготовлені за процедурою А відповідно до USP 467. Вимоги USP щодо придатності системи для залишкових розчинників класу 2А вимагають роздільної здатності більше ніж 1,0 між ацетонітрилом і метиленхлоридом.

На малюнку 2 показана хроматограма для залишкових розчинників класу 2А з повним розділенням за 29 хвилин. Досягнута роздільна здатність між ацетонітрилом і метиленхлоридом становить 1,4, демонструючи, що система PerkinElmer GC 2400 із пробовідбірником HS 2400 перевищує вимоги до роздільної здатності для цих аналітів, як встановлено USP.



Малюнок 2: Хроматограма суміші залишкових розчинників класу 2А.

У таблиці 5 наведено стандартну концентрацію залишкових розчинників класу 2А після пробопідготовки та їх час утримування й реакцію площі піку для трьох інжекцій.

Таблиця 5: Дані аналізу для залишкових розчинників класу 2А.

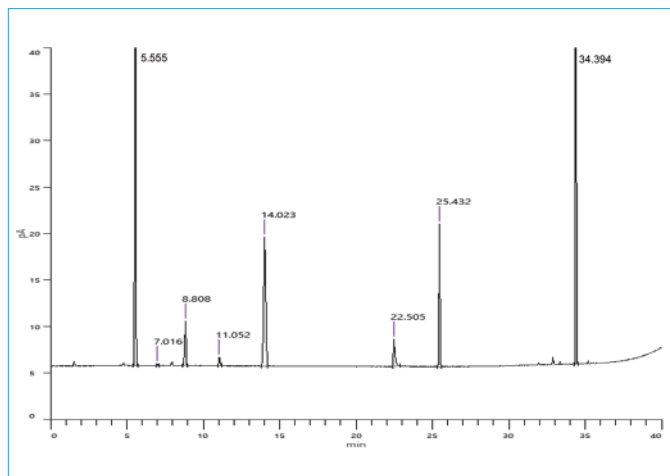
Назва піку	Час утримання (хв)	Концентрація (мкг/мл)
Метанол	2.442	25.00
Ацетонітрил	4.567	3.42
Метиленхлорид	4.699	5.00
Транс-1,2-дихлороетен	5.128	7.79
Цис-1,2-дихлороетен	7.732	7.79
Тетрагідрофуран	8.462	6.00
Циклогексан	9.056	32.33
Метилциклогексан	14.529	9.83
1,4-Діоксан	16.828	3.17
Толуол	22.707	7.42
Хлорбензол	26.934	3.00
Етилбензол	27.207	3.07
м-Ксилол*	27.498	10.85
п-Ксилол*	27.498	2.53
о-Ксилол	28.325	1.63
Кумол	29.0	0.58

\* м-Ксилол і п-ксилол спільно елюються.

### Залишкові розчинники класу 2В

Залишкові розчинники класу 2В були приготовлені за допомогою процедури А відповідно до USP 467, але в USP 467 немає критеріїв придатності системи, чітко викладених для розчинників класу 2. На малюнку 3 показано хроматограму для залишкових розчинників класу 2В з чітко вираженими піками при приготуванні стандартної концентрації та повному розділенні менш ніж за 35 хвилин.

У таблиці 6 представлені дані для кожного залишкового розчинника класу 2В у готовому вигляді.



Малюнок 3: Хроматограма суміші залишкових розчинників класу 2В.

Таблиця 6: Дані аналізу для залишкових розчинників класу 2В.

Назва піку	Час утримання (хв)	Концентрація (мкг/мл)
Гексан	5.545	2.17
Нітрометан	7.016	0.42
Хлороформ	8.808	0.48
1,2-Диметоксиетан	11.052	0.82
Трихлоретилен	14.023	0.67
Піридин	22.505	1.68
Метилбутилкетон	25.432	0.42
Тетралін	34.832	0.86

Газова хроматографія з полум'яно-іонізаційним детектуванням (HS-GC-FID), що використовується в аналізі залишкових розчинників, є простим і високоєфективним методом. Оскільки в цьому методі застосовано детектор FID, який має універсальний відгук на вуглеводні, то стабільний час утримування для ідентифікації піку відіграє вирішальну роль в аналізі, інакше відгуки піків можуть бути невиразними.

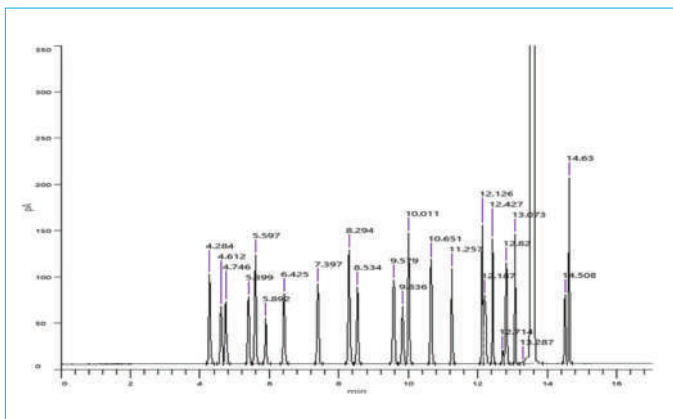
### Залишкові розчинники класу 3

Залишкові розчинники класу 3 є найменш токсичними і тому мають вищу межу кількісного визначення, ніж розчинники класу 1 і класу 2. Гранично допустима концентрація для кожного розчинника класу 3 становить 5000 частин на мільйон (ppm). Немає спеціального методу для аналізу розчинників класу 3А, але зазвичай можна адаптувати процедуру А або процедуру В з додатковою перевіркою, як описано в USP 467.

На малюнку 4 наведено хроматограму для залишкових розчинників класу 3 із повним розділенням, завершеним менш ніж за 16 хвилин за допомогою модифікованого методу. Якщо етилформіат і 2-пропанол є цільовими аналітами, їх можна розділити, змінивши початкову ізотерму при 50 °С протягом 5 хвилин та використовуючи інші відповідні коригування в разі потреби.

У таблиці 7 представлені дані для кожного залишкового розчинника класу 3.





Малюнок 4: Хроматограма суміші залишкових розчинників класу 3.

Таблиця 7: Дані аналізу для залишкових розчинників класу 3.

Назва піку	Час утримання (хв)	Концентрація (мкг/мл)
Пентан	4.284	5000
Етанол	4.612	5000
Ефір	4.746	5000
Ацетон	5.399	5000
Етилформіат/2-пропанол*	5.597	5000
Метилацетат	5.892	5000
Трет-бутилметиловий ефір	6.425	5000
1-Пропанол	7.397	5000
Метилетилкетон/етилацетат*	8.294	5000
2-Бутанол	8.534	5000
Ізопропілацетат	9.579	5000
2-Метил-1-пропанол	9.836	5000
Гептан	10.011	5000
1-Бутанол	10.651	5000
Пропілацетат	11.257	5000
Метиліобутилкетон	12.126	5000
3-Метил-1-бутанол	12.187	5000
Ізобутилацетат	12.427	5000
1-Пентанол	12.82	5000
Бутилацетат	13.073	5000
Диметилсульфоксид	14.508	5000
Анізол	14.63	5000

\* Розчинники спільно елюють, тому дані сумуються.

PerkinElmer, Inc.  
940 Winter Street  
Waltham, MA 02451 USA  
P: (800) 762-4000 or  
(+1) 203-925-4602  
[www.perkinelmer.com](http://www.perkinelmer.com)



ОФІЦІЙНИЙ ДИСТРИБ'ЮТОР

м. Одеса, вул. Літературна, 12, офіс 206

тел/факс: +380 48 757 87 88

office@soctrade.ua [www.soctrade.ua](http://www.soctrade.ua)For a complete listing of our global offices, visit [www.perkinelmer.com/ContactUs](http://www.perkinelmer.com/ContactUs)

Copyright © 2021, PerkinElmer, Inc. All rights reserved. PerkinElmer® is a registered trademark of PerkinElmer, Inc. All other trademarks are the property of their respective owners.

## Висновок

Для аналізу залишкових розчинників класу 1, 2 і 3 відповідно до USP 467 система PerkinElmer GC 2400 з детектором FID (з використанням колонки PerkinElmer Elite 624 30 м x 0,32 мм ID x 1,8 мкм) і пробовідбірником HS 2400 надає результати відповідно до вимог методу з оптимізацією часу. Вимоги щодо придатності системи для визначення залишкових розчинників класу 1/класу 2 були виконані або перевищені.

Система GC 2400 із пробовідбірником HS 2400 забезпечує точний контроль температури для вимогливих розділень, а в поєднанні з технологією відбору проб із збалансованим тиском забезпечує надійні та відтворювані цикли, що гарантують впевненість у результатах, особливо для високопродуктивних лабораторій. Програмне забезпечення SimplicityChrom CDS підтримує відповідність вимогам розділу 21 CFR у частині 11 та забезпечує зручну роботу, широкі можливості користувацьких налаштувань, багатофункціональність та доступність.

## Список літератури

1. USP-NF. 2019. General Chapter USP <467> Residual Solvents, United States Pharmacopeia.