

Determination of organic solvent residues in artemether by liquid headspace gas chromatography

Ji Yuee

Hubei University of Technology, Wuhan

Abstract: A solution headspace gas chromatography for the determination of residual organic solvent in Artemether was established. A DB-1 wide bore capillary column was used with Referencel standard. The linear range for methanol, ethanol and dichloromethane were $30.2\sim 635.2\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($r=0.9991$), $6.4\sim 64.5\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($r=0.9991$) and $5.5\sim 68.7\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($r=0.9990$) respectively. The average recoveries of methanol, ethanol and dichloromethane were 99.9%, 103.8% and 99.3% respectively. The lowest test limits of methanol, ethanol and dichloromethane were $0.02\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, $0.04\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ and $0.01\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, respectively. The method was simple, accurate, sensitive and repeatable.

Key words: Solution headspace gas chromatography; Wide bore capillary column; Residual organic solvent; Artemether

Received: 2020-04-29; Accepted: 2020-05-14; Published: 2020-05-16

基于液体顶空气相色谱法的蒿甲醚中有机溶剂的残留测定

纪月娥

湖北工业大学, 武汉

邮箱: yue.ji20@gmail.com

摘要: 建立了液体顶空气相色谱法测定蒿甲醚中有机溶剂残留量。采用 DB-1 大口径毛细管柱, 以对照品作外标进行定量。甲醇、乙醇及二氯甲烷的线性范围分别为 $30.2 \sim 635.2 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($r=0.9991$), $6.4 \sim 64.5 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($r=0.9991$) 和 $5.5 \sim 68.7 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($r=0.9990$); 回收率分别为 99.9%, 103.8% 和 99.3%; 检测限分别为 $0.02 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, $0.04 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 和 $0.01 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 。本方法简单、准确、灵敏度及重现性好。

关键词: 液体顶空气相色谱法; 大口径毛细管柱; 有机溶剂残留; 蒿甲醚

收稿日期: 2020-04-29; 录用日期: 2020-05-14; 发表日期: 2020-05-16

Copyright © 2019 by author(s) and SciScan Publishing Limited

This article is licensed under a [Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>



蒿甲醚 (Artemether) 作为一种抗疟原料药, 与其他抗疟药联合用药, 治疗危重症疾者疗效好, 近年来备受人们的关注。该原料药的制备工艺使用了甲醇、乙醇及二氯甲烷等有机溶剂, 依据第四届人用药品注册技术要求国际协调会 (ICH) 1997年7月17日提出的残留溶剂指导原则, 甲醇、乙醇和二氯甲烷溶剂被列为药品必须限制的第二、三类低毒性有机溶剂, 因此对该原料药进行有机溶剂残留检测就显得尤为重要。笔者及同事曾用液体顶空和液固顶空气相色谱法对药物中有机溶剂残留量进行测定, 均获得较为理想的效果。本文建立的蒿甲醚有机溶剂残留测定法, 方法简单、准确、灵敏度及重现性好。

1 仪器与试剂

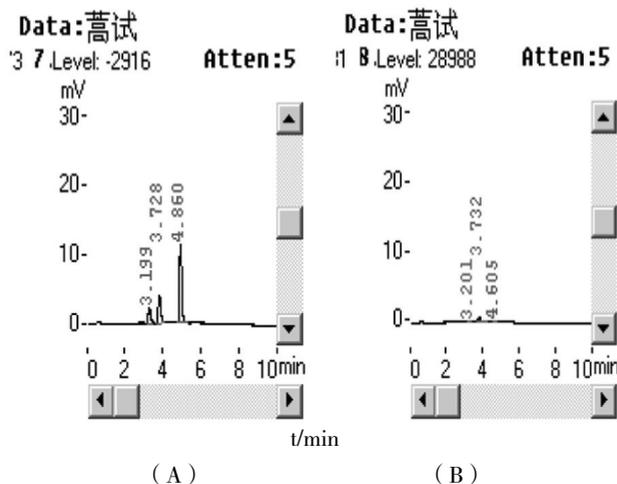
日本岛津 GC-17A 气相色谱仪, HSS-4A 顶空进样装置, CLASS-GC10 色谱工作站;

蒿甲醚原料药 (某公司提供); 甲醇、乙醇、二氯甲烷溶液均为色谱纯, 纯化水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: DB-1 大口径毛细管柱 $30\text{ m} \times 0.53\text{ mm} \times 1.5\text{ }\mu\text{m}$; 柱温: $35\text{ }^\circ\text{C}$ 气化室: $150\text{ }^\circ\text{C}$; 检测器: FID, $250\text{ }^\circ\text{C}$; 载气: 氮气, 流速 $3\text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; 顶空设置: VIAL $75\text{ }^\circ\text{C}$; SYRINGE $75\text{ }^\circ\text{C}$; COND TIME 20 min; ANAL TIME 10 min; 顶空进样量 $100\text{ }\mu\text{L}$ 。理论板数不低于 8000; 甲醇、乙醇、二氯甲烷的分离度均大于 2。对照品溶剂及原料药气相色谱图见图 1。



1. 甲醇 (3.199 min), 2. 乙醇 (3.728 min), 3. 二氯甲烷 (4.860 min)

图1 对照品溶剂 (A) 及原料药 (B) 气相色谱图

2.2 溶液及试样制备

2.2.1 对照品试样制备

分别精密称取甲醇 0.0605 g, 乙醇 0.0043 g, 二氯甲烷 0.0046 g, 分别置 100 mL 容量瓶中, 用纯化水稀释并定容, 作为对照品贮备液; 分别精密移取甲醇、乙醇及二氯甲烷对照品贮备液 0.05 mL, 1.0 mL, 0.5 mL 置同一顶空瓶中, 加入纯化水 1 mL, 加盖密封, 作为对照品试样。

2.2.2 供试品试样制备

称取蒿甲醚原料药 0.1 g 置顶空瓶中, 加入纯化水 1 mL, 加盖密封, 作为供试品试样。

2.3 线性试验及检测限

精密移取对照品贮备液甲醇 0.05 mL, 乙醇 0.15 mL, 二氯甲烷 0.12 mL; 甲醇 0.5 mL, 乙醇 0.3 mL, 二氯甲烷 0.3 mL; 甲醇 0.85 mL, 乙醇 0.6 mL, 二氯甲烷 0.6 mL; 甲醇 0.95 mL, 乙醇 1.0 mL, 二氯甲烷 1.0 mL; 甲醇 1.05 mL, 乙醇 1.5 mL, 二氯甲烷 1.5 mL 等 5 个试样, 按甲醇、乙醇及二氯甲烷量由小到大顺序分别置顶空瓶中, 并各加入纯化水 1 mL, 加盖密封, 作为标准溶液试样, 装

入 HSS-4A 试样转盘, 依次在自动恒温箱中于 75℃ 下保温 20 min, 每个样品各顶空进针 3 次, 分别以各对照品的峰面积 Y 为纵座标, 以浓度 X 为横座标, 进行线性回归, 结果表明: 甲醇、乙醇及二氯甲烷分别在 30.2 ~ 635.2, 6.4 ~ 64.5, 5.5 ~ 68.7 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的浓度范围内线性关系良好, 回归方程分别为:

$$Y=105.84X+15780 \quad r=0.9991$$

$$Y=227.31X+5148.1 \quad r=0.9991$$

$$Y=3144.5X+11627 \quad r=0.9990$$

当信噪比 $SN=3$, 甲醇、乙醇及二氯甲烷的检测限分别为 0.02, 0.04, 0.01 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

2.4 回收率试验

用已测得溶剂残留量的蒿甲醚原料药, 批号为 API 1 的试样, 分别精密添加入适当甲醇、乙醇及二氯甲烷溶剂量的对照品贮备液, 即相当于加入蒿甲醚原料药中甲醇量为 726.0 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, 乙醇量为 276.0 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, 二氯甲烷量为 460.0 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, 加盖装盘, 依照本顶空气相色谱法测定, 计算加样回收率。结果见表 1。

表 1 回收率测定结果 ($n=3$)

溶剂	溶剂残留 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$	加入量 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$	检出量 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$	回收率 %	RSD%
甲醇	24.4	726.0	743.0	99.9	1.4
乙醇	44.3	276.0	346.0	103.8	6.9
二氯甲烷	--	460.0	457.0	99.3	3.6

2.5 精密度试验

2.5.1 系统精密度试验

分别移取甲醇、乙醇及二氯甲烷对照品贮备液 0.05 mL, 1.0 mL, 0.5 mL 置同一顶空瓶中, 加入纯化水 1 mL, 加盖密封, 作为系统精密度试验的试样, 依法测定, 连续顶空进样 6 次, 测试甲醇、乙醇及二氯甲烷的溶剂峰面积, 计算结果: 甲醇、乙醇及二氯甲烷的 RSD 分别为 5.3%, 4.2%, 2.0%。

2.5.2 方法精密度试验

分别移取甲醇、乙醇及二氯甲烷对照品贮备液 0.05 mL, 1.0 mL, 0.5 mL 置同一顶空瓶中, 加入纯化水 1 mL, 加盖密封, 作为对照品试样; 再分别称取蒿

甲醚原料药 API 3 平行 6 份, 分别加入纯化水 1 mL, 作为方法精密度试验的试样, 依法测定, 连续顶空进样 6 次, 测试结果: 计算甲醇、乙醇的 RSD 分别为 9.25%, 5.50%, 均小于 10%, 符合顶空气相色谱法中残留溶剂测定法之外标法的规定; 而且测得甲醇和乙醇的残留量与先前测定值基本一致, 试样均未检出二氯甲烷。

2.6 稳定性试验

取供试品试样, 以 1 天、2 天、3 天进样测定, 测试结果表明: 蒿甲醚原料药样品均未检出二氯甲烷, 原料药中甲醇, 乙醇溶剂残留量基本不变, 计算 RSD 值, 甲醇、乙醇分别为 6.20%, 0.48%。

2.7 样品测定

称取 3 个批号的蒿甲醚原料药, 每份约 0.1 g, 各置顶空瓶中, 分别加入纯化水 1 mL, 加盖密封, 装入试样转盘, 按本顶空气相色谱法进行测定。检测结果表明: 蒿甲醚原料药试样均未检出二氯甲烷, 原料药气相色谱图见图 1。

所测试的 3 批蒿甲醚原料药, 甲醇、乙醇的残留量均符合规定, 结果见表 2。

表 2 样品测定结果 (n=3)

批号	甲醇 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$	乙醇 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$	二氯甲烷
API 1	24.4	44.3	--
API 2	21.2	38.8	--
API 3	24.4	27.2	--

3 讨论

本文建立的蒿甲醚原料药中有机溶剂残留的顶空气相色谱法, 选择纯化水作为蒿甲醚原料药的溶剂, 不单是考虑到用纯化水作溶剂不像有机溶剂会干扰各待测物出峰, 更值得一提的是, 用纯化水作为蒿甲醚的溶剂既可避免有机溶剂带入的酸、碱性介质对甲氧基的影响, 并有利于试样中甲醇、乙醇及二氯甲烷溶剂的出峰, 考虑到蒿甲醚分子结构因素, 原料药溶液的顶空试样瓶不宜在过高的温度下恒温时间太长。

本液体顶空气相色谱法, 测定组分出峰保留时间与相应物质对照品溶液进样

一致。不过,还应该说明一点,在原料药样品色谱图中,所能看到的 4.605 min 基线处出现的小峰,并不是二氯甲烷溶剂峰,尽管该小峰在后面进行系统性试验中还有出现,然而依据有针对性地进行的相应色谱条件试验,已排除了二氯甲烷溶剂的可能性。

本色谱法添加组分回收完全。

本方法采用液体顶空进样,作为原料药溶剂残留测定的 2010 年版《中国药典》的法定方法,不失为一种理想的方法。

参考文献

- [1] 周海钧主译. 药品注册的国际技术要求 [M]. 北京; 人民卫生出版社, 2000: 88-89.
- [2] 唐庆华, 翁小清, 唐咸梅. 顶空气相色谱法测定盐酸依匹斯汀中溶剂残留 [J]. 中国药事, 2004, 18 (9): 563-564.
- [3] 唐庆华, 陆漓滨. 细辛脑中有机溶剂残留的毛细管顶空 GC 测定 [J]. 中国医药工业杂志, 2005, 36 (2): 95-96.
- [4] 唐庆华, 胡建英. 液固顶空 GC 测定阿拉普利中溶剂残留 [J]. 生命科学仪器, 2005, 3 (6): 44-46.
- [5] 唐庆华, 马志伟. 液体顶空 GC 测定盐酸马尼地平有机溶剂残留 [J]. 生命科学仪器, 2006, 4 (4): 37-39.
- [6] 中国药典 2010 版 [S]. (二部), 附录 VIII P 残留溶剂测定法: 附录 61.