

气相色谱法测定达比加群酯中 10 种溶剂的残留

张微¹, 马长沙², 黄晓光², 段成军², 马静洁^{1*} (1. 延边大学, 延吉 133000; 2. 吉林省博大伟业制药有限公司, 长春 130000)

摘要 **目的:** 建立气相色谱法检测达比加群酯中 10 种残留溶剂。**方法:** 以 Rtx-1 (60 m × 0.32 mm × 1.0 μm) 极性毛细管柱程序升温, 以氮气为载气, FID 为检测器, 进样口温度为 200 °C, 检测器温度为 250 °C, 对达比加群酯中 10 种残留溶剂 (甲醇、乙醇、乙酸乙酯、丙酮、二氯甲烷、正己烷、四氢呋喃、异辛烷、吡啶和甲苯) 进行测定。**结果:** 各残留溶剂组分均能被良好分离, 各溶剂线性关系良好, 精密度 RSD 均不超过 3.50%, 平均回收率为 96.0%~105.0%。**结论:** 本文建立的方法可用于达比加群酯中残留溶剂的测定。

关键词: 气相色谱法; 达比加群酯; 残留溶剂; 甲醇; 乙醇; 乙酸乙酯; 丙酮; 二氯甲烷; 正己烷; 四氢呋喃; 异辛烷; 吡啶; 甲苯

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 1002-7777(2017)03-0263-06

doi:10.16153/j.1002-7777.2017.03.006

Determination of Ten Solvent Residues in Dabigatran Etxilate by Gas Chromatography

Zhang Wei¹, Ma Changsha², Huang Xiaoguang², Duan Chengjun², Ma Jingjie^{1*} (1. Yanbian University, Yanji 133000, China; 2. Jilin Province Broad Well Pharmaceutical Co., Ltd., Changchun 130000, China)

Abstract Objective: To establish a gas chromatographic method for the determination of ten residual solvents in dabigatran etexilate. **Methods:** The Rtx-1 (60 m × 0.32 mm × 1.0 μm) polar capillary column was used to heat up the sample. Nitrogen was used as the carrier gas, FID was used as the detector, the inlet temperature was 200 °C and the detector temperature was 250 °C. Ten residual solvents (methanol, ethanol, ethyl acetate, acetone, dichloromethane, hexane, tetrahydrofuran, isooctane, pyridine and toluene) in picarbitol ester were quantified under the above conditions. **Results:** The residual solvents were well separated, the linear relationships were good, the RSDs were less than 3.50%, and the average recoveries were 96.0%-105.0%. **Conclusion:** The method demonstrated in this paper can be used for the determination of residual solvents in dabigatran etexilate.

Keywords: gas chromatography; dabigatran etexilate; solvent residues; methanol; ethanol; ethyl acetate; acetone; dichloromethane; hexane; tetrahydrofuran; isooctane; pyridine; toluene

达比加群酯 (dabigatran etexilate) 是由德国勃林格殷格翰公司研发的一种直接凝血酶抑制剂, 于 2008 年在德国和英国率先上市, 2010 年首先获得 FDA 批准用于非瓣膜房颤患者的卒中和全身栓

塞预防, 是达比加群的前药, 属于非肽类凝血酶抑制剂, 口服后在体内转化成有活性的达比加群, 与凝血酶的纤维蛋白特异位点结合, 阻止纤维蛋白原裂解为纤维蛋白, 从而阻断凝血瀑布网

络的最后步骤及血栓形成, 达比加群酯还可用于成人膝关节和髋关节置换手术后静脉栓塞的预防等^[1-2]。在达比加群酯合成中^[3-4], 涉及甲醇、乙醇、乙酸乙酯、丙酮、二氯甲烷、正己烷、四氢呋喃、异辛烷、吡啶和甲苯10种溶剂, 根据药品杂质分析指导原则, 残留溶剂作为杂质限量检查是质量控制指标之一^[5-9]。本文建立了气相色谱方法对达比加群酯的残留溶剂进行检测, 能同时检测10种残留溶剂, 方法简便、快速, 并且灵敏度高, 检测结果准确可靠, 可以作为达比加群酯中残留溶剂的控制检测方法。

1 仪器与试剂

GC-2010Plus (GC solution液相色谱数据工作站, 岛津公司); 顶空进样器 (DK-300A, 北京中兴汇利); 毛细管色谱柱Rtx-1 (60 m × 0.32 mm × 1.0 μm, Restek公司); 电子天平 (BT-125D, Sartorius)。

达比加群酯原料药 (吉林省博大伟业制药有限公司, 批号: 20150601、20150602、201510603); 甲醇 (分析级, 北京化工厂, 批号: 20160215); 乙醇 (分析级, 北京化工厂, 批号: 20150514); 乙酸乙酯 (分析级, 北京化工厂, 批号: 20150908); 丙酮 (分析级, 北京化工厂, 批号: 20141218); 二氯甲烷 (分析级, 北京化工厂, 批号: 20150518); 正己烷 (分析级, 北京化工厂, 批号: 20150816); 四氢呋喃 (分析级, 北京化工厂, 批号: 20150516); 异辛烷 (分析级, 北京化工厂, 批号: 20150712); 吡啶 (分析级, 北京化工厂, 批号: 20151005); 甲苯 (分析级, 北京化工厂, 批号: 20150826); 丁酮 (分析级, 北京化工厂, 批号: 20150712); DMF (分析级, 北京化工厂, 批号: 20151102)。

2 方法和结果

2.1 色谱条件

采用Rtx-1 (60 m × 0.32 mm × 1.0 μm) 毛细管色谱柱, 程序升温: 67 °C保持10 min, 以每分钟2 °C的升温速率升至90 °C, 保持5 min, 再以每分钟6 °C的升温速率升至150 °C, 保持5 min; 分流

进样, 进样口温度200 °C, 分流比: 1:7.5; 柱流量: 1.5 mL · min⁻¹; 顶空进样量: 1.0 mL; 顶空瓶平衡温度90 °C, 平衡时间为30 min。

2.2 溶液的配制

2.2.1 内标溶液的配制

取丁酮适量, 精密称定, 用DMF定量稀释, 制成含丁酮0.5%的DMF溶液, 作为内标液。

2.2.2 供试品溶液的配制

取本品约0.5 g, 精密称定, 置顶空瓶中, 精密加入内标液5 mL, 使溶解, 密封, 作为供试品溶液。

2.2.3 对照品溶液的配制

精密称取甲醇300 mg、乙醇500 mg、丙酮500 mg、二氯甲烷60 mg、乙酸乙酯500 mg、正己烷29 mg、四氢呋喃72 mg、异辛烷500 mg、吡啶20 mg和甲苯89 mg, 置50 mL量瓶中, 以内标溶液稀释至刻度, 摇匀, 作为标准储备液; 精密量取5.0 mL标准储备液, 置100 mL量瓶中, 加内标溶液稀释至刻度, 摇匀, 即得每1 mL中含甲醇0.3 mg、乙醇0.5 mg、丙酮0.5 mg、二氯甲烷0.06 mg、乙酸乙酯0.5 mg、正己烷0.029 mg、四氢呋喃0.072 mg、异辛烷0.5 mg、吡啶0.02 mg、甲苯0.089 mg的溶液; 精密量取5 mL置顶空瓶中, 密封, 作为对照品溶液。

2.3 专属性

精密量取DMF 5 mL, 置顶空瓶中, 密封, 作为空白溶剂定位溶液; 分别精密称取甲醇、乙醇、丙酮、二氯甲烷、乙酸乙酯、正己烷、四氢呋喃、异辛烷、吡啶、甲苯和丁酮适量, 加DMF稀释成适当浓度的溶液, 置顶空瓶中, 密封, 作为定位溶液; 另取上述11种有机溶剂各适量, 混溶, 加DMF至5 mL, 作为混合溶液。按“2.1”节色谱条件进行测定, 结果见图1。结果显示, 溶剂峰的出峰顺序依次为甲醇、乙醇、丙酮、二氯甲烷、丁酮、乙酸乙酯、正己烷、四氢呋喃、异辛烷、吡啶、DMF、甲苯, 样品溶液的出峰顺序为丁酮、乙酸乙酯和DMF, 空白溶剂不干扰样品测定, 各溶剂峰之间分离度均大于1.5, 专属性好。

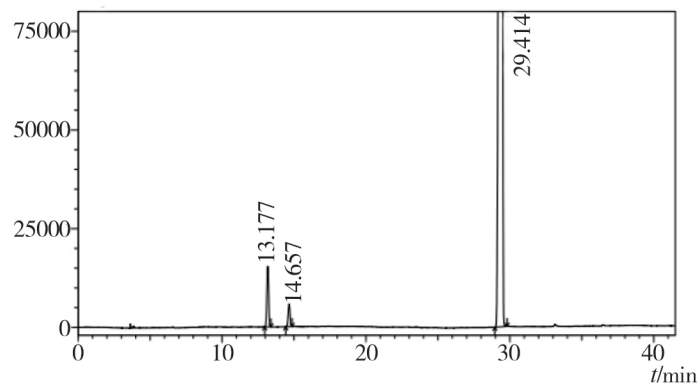
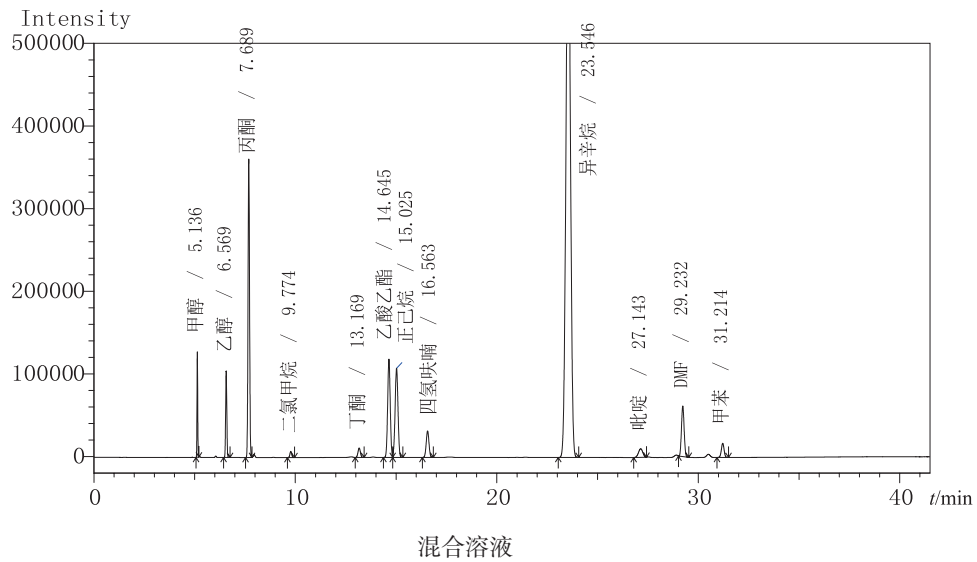


图1 气相色谱图

2.4 检测限和定量限

分别取甲醇、乙醇、丙酮、二氯甲烷、乙酸乙酯、正己烷、四氢呋喃、异辛烷、吡啶和甲苯适量，用DMF稀释至不同浓度。按上述色谱条件进样，主成分信噪比为10:1及3:1时的进样浓度分别为定量限及检测限。10种溶剂的定量限依次为6.000、10.020、5.000、40.640、15.135、1.017、1.118、4.620、2.350、15.405 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ，检测限依次为2.000、3.006、1.500、12.192、4.541、0.305、0.335、1.940、0.805、4.622 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

2.5 线性关系考察

精密称取丁酮125 mg于250 mL量瓶中，

加DMF定容至刻度，作为内标液。精密量取“2.2.3”节标准储备液10.0 mL，置100 mL量瓶中，加内标溶液稀释至刻度，摇匀，作为线性储备液；精密量取线性储备液1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0 mL，分别置10 mL量瓶中，以内标溶液稀释至刻度。

按“2.1”节色谱条件进行测定，记录色谱图，以浓度为横坐标，以甲醇、乙醇、丙酮、二氯甲烷、乙酸乙酯、正己烷、四氢呋喃、异辛烷、吡啶、甲苯与丁酮峰面积的比值为纵坐标，进行线性回归。结果表明10种有机溶剂在所测定的浓度范围内线性关系良好，见表1。

表1 线性试验结果

溶剂	线性范围 / ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	线性方程	相关系数 r
甲醇	60.8~600.8	$y = 0.001x - 0.0085$	0.9997
乙醇	100~1000	$y = 0.0008x - 0.0019$	0.9998
丙酮	100.02~1000.20	$y = 0.0034x - 0.0323$	0.9999
二氯甲烷	12.22~122.20	$y = 0.0007x - 0.001$	0.9996
乙酸乙酯	100.02~1000.20	$y = 0.002x - 0.0094$	0.9999
正己烷	5.86~58.60	$y = 0.0266x + 0.057$	0.9951
四氢呋喃	14.46~122.60	$y = 0.0046x - 0.0213$	0.9950
异辛烷	100.02~1000.20	$y = 0.0181x + 0.048$	0.9991
吡啶	4.04~40.40	$y = 0.0073x + 0.0028$	0.9995
甲苯	17.86~178.60	$y = 0.0017x - 0.0007$	0.9996

2.6 精密度试验

分别精密量取上述线性储备液5份,各5 mL,于10 mL量瓶中,加内标溶液稀释至刻度,摇匀。按“2.1”节色谱条件进行测定,记录色谱图。分别计算甲醇、乙醇、丙酮、二氯甲烷、乙酸乙酯、正己烷、四氢呋喃、异辛烷、吡啶、甲苯与丁酮峰面积比值,计算RSD,结果依次为0.88%、1.87%、0.94%、2.19%、2.27%、3.28%、1.38%、1.79%、1.76%、2.34%,表明仪器精密度良好。

2.7 重复性试验

分别精密称取供试品(批号:20150601)6份,按“2.2.2”节方法配制供试品溶液;另精密称取甲醇、乙醇、丙酮、二氯甲烷、乙酸乙酯、正己烷、四氢呋喃、异辛烷、吡啶和甲苯适量,按“2.2.3”节方法配制对照品溶液。按“2.1”节色谱条件,分别取供试品溶液与对照品溶液顶空进样,记录色谱图,按内标法计算各溶剂残留量,结果见表2,表明本法重复性良好。

表2 重复性试验结果 ($n=6$)

测定成分	每次测定值						平均值	RSD
	1	2	3	4	5	6		
甲醇	0	0	0	0	0	0	0	-
乙醇	0	0	0	0	0	0	0	-
丙酮	0	0	0	0	0	0	0	-
二氯甲烷	0	0	0	0	0	0	0	-
乙酸乙酯	0.0022	0.0023	0.0022	0.0022	0.0022	0.0022	0.0022	1.89
正己烷	0	0	0	0	0	0	0	-
四氢呋喃	0	0	0	0	0	0	0	-
异辛烷	0	0	0	0	0	0	0	-
吡啶	0	0	0	0	0	0	0	-
甲苯	0	0	0	0	0	0	0	-

2.8 回收率试验

称取供试品1.0 g, 置10 mL量瓶中, 加入“2.5”节的线性储备液4.0、5.0、6.0 mL, 各3份, 加内标液稀释至刻度, 摇匀, 作为低、中、高3种浓度的溶液(分别为限量浓度的80%、100%、120%), 另按“2.2.3”节方法配制2份对照品溶液; 按“2.1”节色谱条件, 分别取供试品

溶液与对照品溶液顶空进样, 记录色谱图, 按内标法计算回收率, 测定结果如表3, 表明回收率良好。

2.9 样品测定

取3批中试样品, 按“2.2.2”节方法配制供试品溶液, 按“2.1”节色谱条件进行测定, 记录峰面积, 按内标法以峰面积计算含量, 结果见表4。

表3 加样回收率试验结果

%

溶剂	平均回收率	RSD
甲醇	100.07	0.029
乙醇	104.14	0.137
丙酮	99.87	0.315
二氯甲烷	100.32	0.224
乙酸乙酯	101.28	0.628
正己烷	98.49	0.045
四氢呋喃	102.64	0.438
异辛烷	97.81	0.126
吡啶	103.25	0.417
甲苯	100.12	0.321

表4 样品测定结果 (n=3)

%

溶剂	批号		
	20150601	20150602	20150603
甲醇	未检出	未检出	未检出
乙醇	未检出	未检出	未检出
丙酮	未检出	未检出	未检出
二氯甲烷	未检出	未检出	未检出
乙酸乙酯	0.0021	0.0020	0.0020
正己烷	未检出	未检出	未检出
四氢呋喃	未检出	未检出	未检出
异辛烷	未检出	未检出	未检出
吡啶	未检出	未检出	未检出
甲苯	未检出	未检出	未检出

3 讨论

3.1 溶剂的选择

本方法中使用DMF为溶剂,该溶剂未在达比加群酯的合成中使用,并且10种溶剂在DMF中均有较好的溶解度,所以选用DMF为溶剂,而不是沸点高的DMSO。

3.2 色谱柱的选择

根据待测溶剂的极性差异,分别对R_{tx}-1(60 m×0.32 mm×1.0 μm)色谱柱、ZB-624(30 m×0.32 mm×1.8 μm)色谱柱和ZB-5(30 m×0.25 mm×0.25 μm)色谱柱进行了考察,结果表明采用R_{tx}-1(60 m×0.32 mm×1.0 μm)色谱柱进行检测时,各组分能完全分离。

3.3 结果

参照《化学药物残留溶剂研究的技术指导原则》^[10]及《中国药典》2015年版四部^[11],二氯甲烷为应限制使用的第一类溶剂,限度为0.06%;甲醇、正己烷、四氢呋喃、吡啶、甲苯为应限制使用的第二类溶剂,限度分别为0.3%、0.029%、0.027%、2%和0.089%;丙酮、乙醇和乙酸乙酯为应限制使用的第三类溶剂,限度分别为0.5%、0.5%和0.5%;异辛烷为尚无足够毒性资料的溶剂,暂按第三类溶剂进行限量,限度为0.5%。达比加群酯的10种残留溶剂在限度范围内线性关系、精密度良好,样品检测中除乙酸乙酯有少量残留外,其他溶剂均无残留。

参考文献:

[1] 吕超军,谭初兵,周植星,等.新型口服抗凝药达比加

群酯[J].中国新药与临床杂志,2012,31(3):113-116.

- [2] 田国祥,魏万林,张灵.后华法林时代口服抗凝新秀:达比加群酯、利伐沙班、阿哌沙班[J].中国循证心血管医学杂志,2011,3(5):403-406.
- [3] 高航,宗新杰,刘长鹰,等.达比加群酯的合成工艺研究[J].现代药物与临床,2014,29(12):1331-1333.
- [4] 朱津津,樊士勇,仲伯华.达比加群酯的合成工艺改进[J].中国药物化学杂志,2012,22(3):204-207.
- [5] Hans-Joachim Kromidas,陈小明.液相与气相色谱定量分析使用指南[M].北京:人民卫生出版社,2010:241-250.
- [6] 胡昌勤,刘颖.药物残留溶剂的监控及其分析方法[J].药学学报,2007,42(12):20-25.
- [7] HUGHES B. First Oral Warfarin Alternative Approved in the US [J]. Nat Rev Drug Discov, 2010, 9(12): 903-906.
- [8] Balaji N, Sivaraman VR, Neeraja P. GC Quantification of Residual Hexylmethanesulfonate in Dabigatran Etxilate Me-sylate[J]. IOSR Journal of Applied Chemistry, 2012, 2(6): 48-51.
- [9] 冯光玲,丁文娟,冯爱国,等.毛细管气相色谱法测定阿莫曲坦原料药中8种有机溶剂残留量[J].中国药房,2014,25(5)453-456.
- [10] 中国药品生物制品检定所.中国药品检验标准操作规范[M].北京:中国医药科技出版社,2010:229-237.
- [11] 中国药典:四部[S].2015:105-109.

(收稿日期 2016年10月25日 编辑 王雅雯)