

# 气相色谱法测定甲磺酸达比加群酯原料药中正己醇的残留量

向志祥<sup>1\*</sup>, 李方群<sup>2#</sup>, 钱春霞<sup>2</sup>, 刘敏<sup>2</sup>(1.四川大学生物治疗国家重点实验室, 成都 610041; 2.四川海思科制药有限公司, 成都 611130)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)12-1711-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.12.45

**摘要** 目的:建立测定甲磺酸达比加群酯原料药中正己醇残留量的方法。方法:采用气相色谱法。以6%氰丙基苯基-94%二甲聚硅氧烷(DB-624)为固定液的毛细管柱为色谱柱,氮气为载气,采用程序升温,进样口温度为180℃,检测器(氢焰离子化检测器)温度为250℃,氮气流速为8 ml/min,分流比为10:1,进样量为1 μl。结果:正己醇与溶剂峰及杂质峰能有效分离;其质量浓度在1~1 000 μg/ml范围内与峰面积呈良好的线性关系( $r=0.999\ 9$ );方法检测灵敏度较高;精密性、重复性试验的RSD≤1.31%;平均加样回收率为102.40%,RSD=0.42%( $n=9$ )。结论:该方法专属性强,操作简便快速,结果准确,能有效地排除主成分降解产生的正己醇干扰,可用于甲磺酸达比加群酯原料药中正己醇的残留量测定。

**关键词** 正己醇;甲磺酸达比加群酯;气相色谱法

## Determination of Residuals of Hexanol in the Raw Material of Dabigatran Etxilate Mesylate by GC

XIANG Zhi-xiang<sup>1</sup>, LI Fang-qun<sup>2</sup>, QIAN Chun-xia<sup>2</sup>, LIU Min<sup>2</sup>(1.State Key Laboratory of Biotherapy, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2.Sichuan Haisco Pharmaceutical Co., Ltd., Chengdu 611130, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a method for the determination of hexanol residuals in the raw material of dabigatranet exilate mesylate. METHODS: GC was performed on the column of 6% cyanopropylphenyl-94% dimethyl polysiloxane (DB-624) as the stationary phase capillary column, the carrier gas was nitrogen, using the temperature program. The temperature of inlet was 180 °C, detector was hydrogen flame ionization detector with the temperature of 250 °C at the flow rate of 8 ml/min, split ratio was 10:1 and the volume was 1 μl. RESULTS: Hexanol can be effectively separated with solvent peak and impurity peak; there was a good linear relationship between the quality concentration and the peak area in the range of 1-1 000 μg/ml( $r=0.999\ 9$ ). The method had high sensitivity. RSD of precision and repeatability test was no more than 1.31% and the average recovery was 102.40% (RSD=0.42%,  $n=9$ ). CONCLUSIONS: The method is specific, simple, rapid, accurate, and can effectively exclude hexanol interference generated by degradation. It can be used for the determination of residuals of hexanol in raw materid of dabigatran etexilatem esylate.

**KEYWORDS** Hexanol; Dabigatran etexilate mesylate; Gas chromatography

达比加群酯(甲磺酸盐)最早由德国勃林格殷格翰公司研发,并于2008年首次在英国上市,商品名为“PRADAXA<sup>®</sup>”(胶囊剂),随后在全球多个国家上市,规格有75、110、150 mg,主要用于成年患者接受选择性全髌关节置换术或全膝关节置换术的静脉血栓栓塞事件发生的一级预防以及预防非瓣膜心房颤动患者中风和全身性血管栓塞。在甲磺酸达比加群酯制备过程中<sup>[1]</sup>,可能会残留一定量的溶剂正己醇,而本品遇高温后易降解产生正己醇<sup>[2]</sup>,故不经处理采用气相色谱法测定的正己醇结果会受到主成分降解生成的正己醇影响,而无法准确测定本品中正己醇的残留量。为此,笔者经试验摸索,通过萃取方式将甲磺酸达比加群酯与残留的正己醇进行分离,以避免在测定过程中甲磺酸达比加群酯进入气相色谱仪遇高温而降解产生正己醇干扰测定,从而建立了采用气相色谱法测定甲磺酸达比加群酯原料药中正己醇残留量的方法。

## 1 材料

\* 硕士研究生。研究方向:药物制剂、药物分析。E-mail: xiangzx@haisco.com

# 通信作者:工程师,硕士。研究方向:药物分析。E-mail: lifq1@haisco.com

Agilent 7890型气相色谱仪(美国安捷伦公司);CPA225D十万分之一电子天平(德国赛多利斯公司)。

甲磺酸达比加群酯原料药(四川海思科制药有限公司,批号:121101、130401、130402、130403);正己醇、乙酸乙酯均为色谱纯,盐酸为分析纯,水为纯化水。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱:以6%氰丙基苯基-94%二甲聚硅氧烷(DB-624)为固定液的毛细管柱(30 m×0.32 mm×1.8 μm);程序升温:初始温度为80℃,以每分钟5℃升温至150℃,再以每分钟50℃升温至230℃,保持5 min;进样口温度:180℃;检测器(氢火焰离子化检测器,FID)温度:250℃;氮气流速:8 ml/min;分流比:10:1,进样量:1 μl。

### 2.2 溶液的制备

2.2.1 供试品溶液 取本品约0.5 g,精密称定,加0.1 mol/L的盐酸溶液5 ml使其溶解,加5 ml乙酸乙酯萃取20 min,取萃取液作为供试品溶液。

2.2.2 对照品溶液 取正己醇适量,精密称定,用乙酸乙酯溶解并稀释制成每1 ml中含约0.5 mg的溶液,作为对照品溶液。

2.2.3 空白溶剂 取乙酸乙酯作为空白溶剂。

### 2.3 专属性试验

取按“2.2”项下方法制备的供试品溶液(批号:121101)、对照品溶液和空白溶剂各1 μl,分别注入气相色谱仪,记录色谱,详见图1。结果表明,在此色谱条件下,主成分(甲磺酸达比加群酯)不出峰,空白溶剂(乙酸乙酯)及样品中的其他杂质峰对待测成分(正己醇)峰无干扰,说明该色谱条件专属性较强。

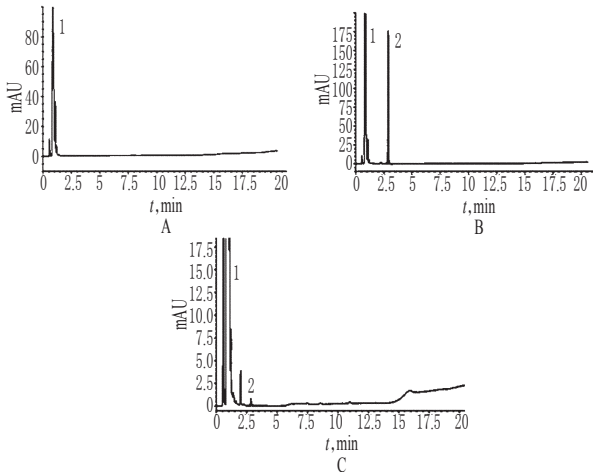


图1 气相色谱图

A.空白溶剂;B.对照品溶液;C.供试品溶液;1.乙酸乙酯;2.正己醇

Fig 1 GC chromatograms

A.blank solvent; B.reference solution; C.test sample solution; 1.ethyl acetate; 2.1-hexanol

### 2.4 线性关系考察

取正己醇适量,精密称定,用乙酸乙酯溶解并稀释制成每1 ml中含正己醇5 mg的溶液作为对照品贮备溶液。精密量取上述对照品贮备溶液适量,用乙酸乙酯稀释制成质量浓度为1、5、10、50、100、500、800、1 000 μg/ml的系列对照品溶液,按“2.1”项下色谱条件,各精密量取1 μl,分别注入气相色谱仪,记录色谱。以正己醇质量浓度(x, mg/ml)为横坐标、峰面积为纵坐标(y)进行线性回归,得回归方程为 $y=1.358 2x-1.346 4$  ( $r=0.999 9$ )。结果表明,正己醇质量浓度在1~1 000 μg/ml范围内与其峰面积呈良好的线性关系。

### 2.5 检测限及定量限考察

取正己醇适量,精密称定,用乙酸乙酯溶解并逐级稀释制成一定浓度的溶液,按照“2.1”项下色谱条件进样,按照信噪比约3:1计算得正己醇的检测限为0.000 4 mg/ml(相当于供试品溶液的0.000 4%),按照信噪比约10:1计算得正己醇的定量限为0.001 mg/ml(相当于供试品溶液的0.001%)。结果表明该色谱条件下正己醇的检测灵敏度较高。

### 2.6 精密度试验

精密量取“2.4”项下质量浓度为500 μg/ml的对照品溶液1 μl注入气相色谱仪,连续进样6次,记录色谱,计算峰面积的平均值及RSD。结果,正己醇峰面积平均值为679.3, RSD为0.39% ( $n=6$ ),说明仪器精密度良好。

### 2.7 重复性试验

取甲磺酸达比加群酯(批号:121101)约0.5 g,共6份,精密称定,分别按“2.2.1”项下方法制备供试品溶液;另取正己醇适量,按“2.2.2”项下方法制备对照品溶液。精密量取上述供试品溶液和对照品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样测定,并计算含量的平均值及RSD。结果,正己醇含量的平均值为

0.003 2%, RSD为1.31% ( $n=6$ ),说明该方法的重复性良好。

### 2.8 加样回收率试验

取本品(批号:121001)约0.5 g,共9份,精密称定,分别加入一定量的“2.4”项下正己醇对照品贮备溶液,按“2.2.1”项下方法制备含正己醇低、中、高质量浓度的供试品溶液各3份。按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱,再按外标法以峰面积计算正己醇的回收率,详见表1。结果表明,该方法测定正己醇含量的准确度较高。

表1 加样回收率试验结果( $n=9$ )

Tab 1 Results of recovery test( $n=9$ )

样品含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	加样回收率,%	平均加样回收率,%	RSD,%
0.015 9	1.262 8	1.310 3	102.50		
0.015 9	1.262 8	1.308 8	102.38		
0.015 9	1.262 8	1.313 1	102.72		
0.015 9	2.525 6	2.605 0	102.51		
0.015 9	2.525 6	2.568 2	101.06	102.40	0.42
0.015 9	2.525 6	2.596 7	102.19		
0.015 9	3.030 8	3.124 4	102.57		
0.015 9	3.030 8	3.116 1	102.29		
0.015 9	3.030 8	3.148 1	103.35		

### 2.9 样品中正己醇的残留量测定

取3批样品各适量,精密称定,按“2.2.1”项下方法制备供试品溶液;另取正己醇适量,按“2.2.2”项下方法制备对照品溶液。精密量取上述供试品溶液和对照品溶液各适量,按“2.1”项下色谱条件进样测定,再按外标法以峰面积计算样品中正己醇的含量。结果,3批样品中均检出了正己醇,其含量分别为0.002 8%、0.002 2%、0.002 3%, RSD分别为1.31%、2.02%、0.96% ( $n=5$ )。

## 3 讨论

### 3.1 甲磺酸达比加群酯中正己醇的产生途径

甲磺酸达比加群酯合成工艺过程中,采用N-[[[2-[[[4-(氨基亚氨基甲基)苯基]氨基]甲基]-1-甲基-1H-苯并咪唑-5-基]羰基]-N-2-吡啶基-β-丙氨酸乙酯草酸盐(代码:ABA)与氯甲酸正己酯(代码:CAH)反应生成达比加群酯(DBE),DBE与甲磺酸成盐生成甲磺酸达比加群酯,其CAH在反应过程中会水解成正己醇而残留于甲磺酸达比加群酯中,故需要控制正己醇的量。然而,甲磺酸达比加群酯在高温条件下降解产生的正己醇,会干扰其正己醇残留量的检测。

### 3.2 溶剂的选择

采用气相色谱法直接测定甲磺酸达比加群酯中正己醇的残留量,其正己醇的残留量约为10%。经分析并结合液相色谱法试验证明,甲磺酸达比加群酯进入气相色谱仪后在高温条件下会降解产生大量的正己醇,因此实际测定结果并不仅仅是样品中正己醇的残留量。由于正己醇无紫外吸收,液相色谱法无法准确测定其含量,故笔者曾尝试了将正己醇衍生化生成对甲苯磺酸己酯,但衍生化反应时间长,且反应不完全,故衍生化方法不适合测定本品中的正己醇。后经研究发现,甲磺酸达比加群酯易溶于pH 1.0的盐酸溶液,但难溶于乙酸乙酯,而正己醇难溶于pH 1.0的盐酸溶液而易溶于乙酸乙酯<sup>[3-9]</sup>。因此,笔者先将甲磺酸达比加群酯溶于适量pH 1.0的盐酸溶液中,再用乙酸乙酯将残留的正己醇萃取后进行测定。结果表明,采用萃取方法可以将甲磺酸达比加群酯与残留的正己醇分离,从而排除了干扰。

# 正天丸的HPLC特征图谱研究

黄 澜\*, 黄惠琼, 李玲玲(厦门市药品检验所, 福建 厦门 361012)

中图分类号 R284.1;R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)12-1713-03  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.12.46

**摘要** 目的:建立正天丸的高效液相色谱(HPLC)特征图谱。方法:采用HPLC法。色谱柱为Intersil ODS-C<sub>18</sub>,流动相为乙腈-0.05%磷酸溶液(梯度洗脱),检测波长为230 nm,流速为1.0 ml/min,柱温为30 ℃,进样量为10 μl。对10批样品的色谱图进行色谱峰匹配,建立正天丸HPLC特征图谱,并用中药指纹图谱相似度计算软件对共有峰进行归属分析。结果:建立的特征图谱具有较好的精密性、重复性和稳定性;确立了18个共有特征峰,对其中10个色谱峰进行了药材归属,6个色谱峰进行了化学指认,10批样品相似度均>0.95。结论:所建立的正天丸特征图谱能较完整地表达该制剂的整体特性,提高了该品种的质量控制水平。

**关键词** 正天丸;特征图谱;高效液相色谱法

## Study on the HPLC Specific Chromatogram of Zhengtian Pills

HUANG Lan, HUANG Hui-qiong, LI Ling-ling(Xiamen Institute for Drug Control, Fujian Xiamen 361012, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish the HPLC specific chromatogram of Zhengtian pills. METHODS: HPLC was performed on Intersil ODS-C<sub>18</sub> column with mobile phase of acetonitrile-0.05% phosphoric acid (gradient elution) at the flow rate of 1.0 ml/min and the detection wavelength was 230 nm. The sample volume was 10 μl with the column temperature of 30 ℃. 10 batches of samples were selected to establish the specific chromatogram of Zhengtian pills through peaks-matching. The common peaks were analyzed by TCM fingerprint similarity calculation software. RESULTS: The established specific chromatogram had good precision, reproducibility and stability and determined the 18 common characteristic peaks. The source of 10 peaks was revealed and 6 of them were identified. The similarity of 10 batches of samples was all more than 0.95. CONCLUSIONS: The established specific chromatogram can completely reflect the general characters of Zhengtian pills and improve the level of quality control.

**KEYWORDS** Zhengtian pills; Specific chromatogram; HPLC

### 3.3 萃取方法的考察

采用萃取方法处理样品溶液,在萃取过程中溶剂(乙酸乙酯)用量、萃取次数以及萃取时间均可能影响萃取效果。在前期研究过程中,笔者在样品中加入定量的正己醇,用pH1.0的盐酸溶液溶解样品后配制含正己醇高、中、低质量浓度的溶液,再用等体积的乙酸乙酯分3次萃取。结果发现,采用5 ml萃取1次,其回收率为96.9%,说明采用5 ml乙酸乙酯萃取1次即可满足要求。同时,笔者还对萃取时间(10、20、30 min)进行了考察,结果萃取20 min和30 min正己醇的测得含量相当,说明萃取20 min即可满足要求。故最终确定萃取方法为:取本品0.5 g,精密称定,加pH 1.0盐酸溶液5 ml溶解后,再加5 ml乙酸乙酯萃取20 min,取乙酸乙酯层进样测定。

### 3.4 方法的耐用性

在前期研究过程中,笔者对色谱条件中的进样口温度(178、180、182 ℃)、检测器温度(248、250、252 ℃)以及流速(7、8、9 ml/min)进行了微调,同时还更换了不同品牌的气相色谱仪(PE-Clarus 680气相色谱仪)及不同批号的色谱柱进行试验。结果,正己醇含量的RSD为1.81%,且空白溶剂对正己醇测定均无干扰,说明拟定的方法耐用性良好。

### 3.5 正己醇残留限度的拟定

2010年版《中国药典》二部和人用药品注册技术要求国际

协调会(ICH)相关指导原则并未规定药物中正己醇的残留限度,但2010年版《中国药典》二部和ICH相关指导原则将正丁醇、异丙醇、乙醇等醇类均归类为第三类溶剂,而第三类溶剂的限度为0.5%,故笔者建议将甲磺酸达比加群酯原料药中正己醇的残留量限度定为不得过0.5%。

综上所述,该方法专属性强,操作简便快速,结果准确,能有效地排除主成分降解产生的正己醇干扰,可用于甲磺酸达比加群酯原料药中正己醇的残留量测定。

### 参考文献

- [1] 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.
- [2] Balaji N, Sivaraman VR, Neeraja P. GC quantification of residual hexylmethanesulfonate in dabigatran etexilate mesylate[J]. *IOSR Journal of Applied Chemistry*, 2012, 2(6):48.
- [3] 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.
- [4] 王希冉,刘鹏,王松会,等.pH对达比加群酯的溶解和油水分分配系数的影响[J].中国新药杂志,2013,22(24):2933.

(收稿日期:2014-10-28 修回日期:2015-03-06)

(编辑:周 箫)

\* 主管中药师,硕士。研究方向:中药质量控制与成分分析。电话:0592-5619842。E-mail: huanglan7902@163.com