

# 顶空毛细管气相色谱法测定奥格列汀中有机溶剂残留量

郑飞, 华国栋, 项颖, 张彦丽, 张谦, 张超

(北京中医药大学东方医院药学部, 北京 100078)

**摘要:**目的 观察顶空毛细管气相色谱法(GC)测定奥格列汀原料药中乙醇、乙酸乙酯、甲苯3种残留溶剂的效果。方法 采用GC法进行残留溶剂测定。色谱柱采用DB-5弹性石英毛细管气相色谱柱,规格为50 m×0.32 mm×0.6 μm;进样口温度为150 ℃,分流比1:10;柱温程序为首先在40 ℃下保持6 min,再以每分钟15 ℃的速率升温至180 ℃;仪器配有氢火焰离子化检测器(FID),检测器温度为240 ℃;载气为高纯氮气,流速为恒流1 mL·min<sup>-1</sup>;取0.2 mL顶部平衡气体进样。顶空条件为:N,N-二甲基甲酰胺(DMF)为溶剂,溶液浓度200 g·L<sup>-1</sup>,加热时间30 min,加热器温度100 ℃,传输线温度105 ℃。结果 在相应色谱条件下,各残留溶剂均可基线分离。测得乙醇、乙酸乙酯、甲苯分别在10.06~2 012 mg·L<sup>-1</sup>、10.10~2 020 mg·L<sup>-1</sup>、1.78~356 mg·L<sup>-1</sup>范围内线性关系良好。乙醇、乙酸乙酯和甲苯的平均回收率分别为97.91% (n=9)、96.48% (n=9)、95.58% (n=9)。乙醇、乙酸乙酯、甲苯三种溶剂日内精密性RSD分别为2.13% (n=6)、4.84% (n=6)、5.41% (n=6),日间精密性RSD分别为1.98% (n=12)、4.51% (n=12)、5.09% (n=12)。结论 GC法操作简便、重现性好、结果准确可靠,可以用于奥格列汀原料药中残留溶剂的测定。

**关键词:**奥格列汀原料药;有机溶剂残留;顶空气相色谱法

doi:10.3969/j.issn.1009-6469.2016.10.012

## Determination of residual organic solvents in omarigliptin by headspace gas chromatography

ZHENG Fei, HUA Guodong, GONG Ying, et al

(Department of Pharmacy, Dongfang Hospital of Beijing University of TCM, Beijing 100078, China)

**Abstract: Objective** To establish a method to determine residual solvents in omarigliptin bulk drug. **Methods** The headspace GC was performed with DB-5 capillary column with standard of 50 m×0.32 mm×0.6 μm. The condition of GC was as follows; the inlet

通信作者:华国栋,男,主任药师,研究方向:中药学,临床药学,药事管理,E-mail:zhaojhuang@126.com

待于进一步研究,为控制农药残留提供安全用药提供理论依据。有机氯农药的稳定性好,半衰期长,虽然在我国已经禁用20多年,但在中药中仍有一定残留,因此监测黄芪饮片中有有机氯农药残留对于保证其质量十分必要。而本次实验的检测结果均符合要求,各医院黄芪饮片中有有机氯农药的残留均稳定在国家标准范围内。

本研究仅对安徽省部分三级甲等医院黄芪饮片中有有机氯残留现状进行了调查,而二级及以下医院的黄芪中药饮片有机氯农药残留现状还待进一步的调查。

### 参考文献

- [1] 王娜. 超声提取-气相色谱法测定土壤中的多种有机氯农药残留[J]. 环境化学, 2011, 30(2): 569-570.
- [2] 陈骁鹏, 叶慧, 仇雅静, 等. 泰州地区7种中药材中的有机氯农药残留量的测定[J]. 药物分析杂志, 2012, 32(7): 1196-1204.

- [3] 何睿, 刘雪峰, 刘海静. 中药材中20种农药残留的检测方法研究[J]. 药物分析杂志, 2011, 31(11): 2164-2167.
- [4] 黄晓会, 薛健, 吴晓波, 等. 甘草中50种有机氯及拟除虫菊酯农药残留量的分析方法研究[J]. 中国药理学杂志, 2011, 46(15): 1204-1208.
- [5] 张建平. 超声波溶剂提取-气相色谱法测定烟草及烟草制品中19种有机氯农药残留[J]. 分析科学学报, 2012, 28(3): 377-380.
- [6] 张蕾, 高文远, 满淑丽. 黄芪中有效成分药理活性的研究进展[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(21): 3203-3207.
- [7] 国家药典委员会. 中国药典(一部)[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 283, 附录 IXQ.
- [8] 中华人民共和国商务部. 药用植物及制剂外经贸绿色行业标准[S]. WM/T2-2004. 北京: 中国标准出版社, 2005.
- [9] 香港特别行政区卫生署中医药事务部. 香港中药材标准第一册[S]. 中华人民共和国香港特别行政区卫生署, 2005.
- [10] 李辉, 吴虹, 沈晨, 等. 不同产地黄芪中有机氯农药残留的分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(10): 131-134.

(收稿日期:2016-02-26, 修回日期:2016-05-22)

temperature was 150 °C; the injection volume was 0.2 mL with separation ratio of 1:10; the column temperature was programmed with an initial temperature below 40 °C, maintained for 6 min, then raised to 180 °C with a rate of 15 °C · min<sup>-1</sup>, and maintained for another 5 min. The detector was equipped with FID with a temperature of 240 °C. The carrying gas was N<sub>2</sub> with the flow rate of 1 mL · min<sup>-1</sup>. DMF was used as solvent for omarigliptin with the concentration of 200 g · L<sup>-1</sup>. The solution was heated at 100 °C for 30 mins. The temperature of transferring line was 105 °C. **Results** All solvents can be separated completely with good linear relationship in the range of 10.06 ~ 2 012 mg · L<sup>-1</sup> (ethanol), 10.10 ~ 2 020 mg · L<sup>-1</sup> (ethyl acetate) and 1.78 ~ 356 mg · L<sup>-1</sup> (toluene). The average recoveries of ethanol, ethyl acetate and toluene were 97.91% (*n* = 9), 96.48% (*n* = 9), and 95.58% (*n* = 9) respectively. **Conclusions** All the results demonstrate that this method is simple, reproducible and accurate enough for the determination of residual solvents in omarigliptin bulk drug.

**Key words:** Omarigliptin; Residual organic solvent; Headspace GC

奥格列汀 (Omarigliptin) 是美国默沙东公司开发的糖尿病治疗药物。奥格列汀每周只需口服一次, 可产生持续的二肽基肽酶-4 (DPP-4) 抑制作用, 增加了患者的适应性。奥格列汀具有全新的降血糖机制, 其作用机制是通过抑制体内 DPP-4 酶对胰高血糖素样肽-1 (GLP-1) 的降解作用, 延长 GLP-1 的作用时间, 从而提高血液中内源性 GLP-1 和葡萄糖依赖性促胰岛素释放肽 (GIP) 的浓度, 并最终改善血糖控制。同时其具有不增加体质量、不会引起低血糖反应、不会引起水肿等优越性<sup>[1-5]</sup>。

在制备奥格列汀过程中使用了多种有机溶剂, 包括乙醇、乙酸乙酯、甲苯。过量摄入有机溶剂对人体有害, 因此中国药典规定了原料中有机溶剂的限量。本研究参考有关文献[6-7]建立了顶空毛细管气相色谱法 (GC) 对 3 批奥格列汀存在的乙醇、乙酸乙酯、甲苯残留溶剂进行测定, 现报告如下。

## 1 仪器与试剂

**1.1 仪器** 本研究采用 GC-2014 型气相色谱仪 (日本岛津公司), 色谱仪配有 FID 检测器和顶空进样器。色谱过程所用载气为高纯氮气, 检测器所用的氢气和空气均为发生器自制。色谱过程中使用色谱柱为 DB-5 型弹性石英毛细管气相色谱柱 (美国安捷伦公司), 规格为 50 m × 0.32 mm × 0.6 μm。称重所用天平为 XS5 型分析天平 (瑞士梅特勒托利多公司)。

**1.2 试剂** 奥格列汀为企业自制 (原料药, 纯度大于 99.5%, 批号 20150921, 20151015, 20151225, 由南京丰特药业有限公司提供); 乙醇、乙酸乙酯、甲苯、N,N-二甲基甲酰胺 (DMF) 均为色谱纯, 购自 Merck 公司。

## 2 方法结果

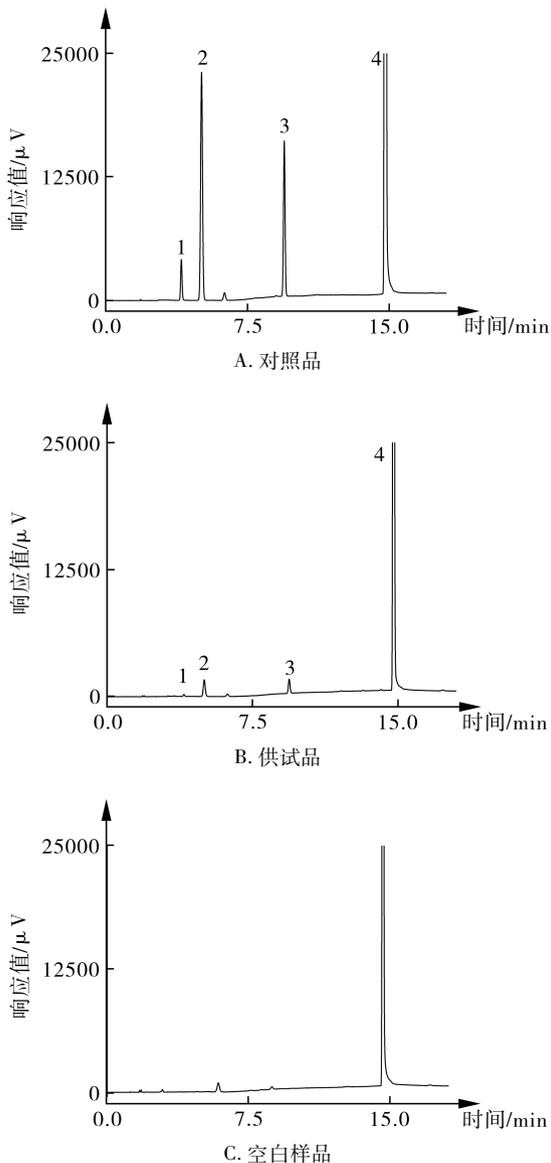
**2.1 色谱条件** 色谱柱: DB-5 弹性石英毛细管气相色谱柱 (50 m × 0.32 mm × 0.6 μm); 进样口温度: 200 °C, 分流比 1:10; 柱温程序: 起始温度 40 °C 保持 6 min, 再以每分钟 15 °C 的速率升温至 180 °C;

检测器: FID 检测器, 检测器温度: 250 °C; 载气: N<sub>2</sub>, 恒流: 1 mL · min<sup>-1</sup>; 进样量: 0.2 mL 顶部平衡气体。顶空条件如下: DMF 为溶剂, 溶液浓度 200 g · L<sup>-1</sup>, 加热时间 30 min, 加热器温度 100 °C, 传输线温度 105 °C。

**2.2 溶液的配制** 取乙醇 500 mg, 精密称定, 置于 50 mL 洁净容量瓶中, 迅速加 DMF 溶解并稀释至刻度, 得乙醇对照品储备溶液。同法制得乙酸乙酯储备、甲苯对照储备溶液。乙醇储备液、乙酸乙酯储备液、甲苯储备液浓度分别为 10.06、10.10、1.78 g · L<sup>-1</sup>。精密量取乙醇、乙酸乙酯、甲苯储备液各 0.1 mL, 置同一 100 mL 容量瓶中, 用 DMF 稀释至刻度, 摇匀, 作为相当于限度浓度 1% 的对照品工作溶液。同法分别量取 0.5、1、2.5、5、10、20 mL 作为 5%、10%、25%、50%、100%、200% 的系列对照品工作溶液。取奥格列汀自制品 (批号: 20150921) 2 000 mg, 精密称定, 置 10 mL 容量瓶中。加入适量 DMF, 微微振摇使溶解并用 DMF 稀释至刻度, 摇匀, 作为供试品溶液。

**2.3 系统适用性试验** 精密量取“2.2”项下 100% 对照品溶液 2 mL 置于顶空瓶中, 迅速密封瓶口, 按“2.1”项下色谱条件进行测定, 记录色谱图, 色谱图见图 1。其中乙醇、乙酸乙酯、甲苯的保留时间分别为 3.991、5.059、9.432 min, 各对照品之间分离度均大于 1.5, 计算理论塔板数均大于 10 000。从空白样品中可以看出 DMF 对测定无干扰。表明该法专属性良好。

**2.4 线性关系** 分别精密移取“2.2”项下系列对照品溶液 2 mL 置于顶空瓶中, 迅速密封瓶口, 按“2.1”项下色谱条件进行测定。分别以各溶剂的峰面积为纵坐标 (Y), 浓度为横坐标 (X), 进行线性回归。线性回归结果为: 乙醇在 10.06 ~ 2 012 mg · L<sup>-1</sup> 范围内线性方程为  $Y = 1\ 827X + 356$  ( $r = 0.999\ 7$ ); 乙酸乙酯在 10.10 ~ 2 020 mg · L<sup>-1</sup> 范围内线性方程为  $Y = 13\ 489X - 5\ 341$  ( $r = 0.999\ 4$ ); 甲



注:1. 乙醇;2. 乙酸乙酯;3. 甲苯;4. DMF。

图1 气相色谱图

苯在  $1.78 \sim 356 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  范围内线性方程为  $Y = 65829X - 2758$  ( $r = 0.9995$ )。结果表明,乙醇、乙酸乙酯、甲苯分别在  $10.06 \sim 2012 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $10.10 \sim 2020 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $1.78 \sim 356 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  范围内线性关系良好。

**2.5 回收率** 取奥格列汀自制品(批号:20150921)2000 mg,精密称定,置于10 mL容量瓶中。再从“2.2”项下对照品储备液中分别精密量取0.8 mL放入奥格列汀自制品容量瓶中,用DMF稀释至刻度,摇匀,精密量取2 mL置于顶空瓶中,密封瓶口,作为80%回收率的溶液。同法称量2000 mg自制品分别加入1.0、1.2 mL对照品储备液制备100%、120%的加样回收测定溶液。将各加样回收溶液按“2.1”项下色谱条件进行测定,使用外标法定量。计算得乙醇回收率为97.91%,RSD为1.54% ( $n=9$ );乙酸乙酯的回收率96.48%,RSD为2.60% ( $n=9$ );甲苯的回收率95.58%,RSD为3.74% ( $n=9$ )。具体数据见表1。

**2.6 仪器精密度** 精密量取“2.2”项下100%对照品溶液2 mL置于顶空瓶中,迅速密封瓶口,按“2.1”项下色谱条件将同一溶液重复测定6次,计算各溶剂色谱峰面积的RSD。结果表明乙醇、乙酸乙酯、甲苯的峰面积RSD分别为1.3%、0.8%、0.6%。结果表明仪器精密度良好。

**2.7 日内精密度和日间精密度** 取奥格列汀自制品(批号:20150921)2000 mg,精密称定,按“2.2”项下方法进行处理,共处理12份,分别按“2.1”项下色谱条件进行测定,当日测定6份、隔日测定6份,外标法计算各残留溶剂含量。测得日内精密度结果为:乙醇的平均含量为0.021%,RSD为2.13%

表1 回收率测定结果( $n=9$ )

加入水平	加入量/mg			测得量/mg			回收率/%		
	乙醇	乙酸乙酯	甲苯	乙醇	乙酸乙酯	甲苯	乙醇	乙酸乙酯	甲苯
80%	8.05	8.08	1.42	8.12	8.92	1.56	95.68	97.52	97.89
	8.05	8.08	1.42	8.16	8.86	1.53	96.17	96.78	96.79
	8.05	8.08	1.42	8.19	8.46	1.40	96.55	91.83	86.66
100%	10.06	10.10	1.78	10.24	11.02	1.89	97.61	99.20	96.85
	10.06	10.10	1.78	10.35	10.98	1.85	98.71	98.81	94.61
	10.06	10.10	1.78	10.49	10.73	1.87	100.1	96.32	95.73
120%	12.07	12.12	2.14	12.29	12.26	2.23	98.33	92.94	96.63
	12.07	12.12	2.14	12.38	12.75	2.28	99.07	97.00	98.97
	12.07	12.12	2.14	12.37	12.86	2.24	98.99	97.91	97.10
平均值/%	-	-	-	-	-	-	97.91	96.48	95.58
RSD/%	-	-	-	-	-	-	1.54	2.60	3.74

注:回收率(%) = (测得量 - 原料药中所含溶剂量) / 加入量 × 100%。

( $n=6$ ); 乙酸乙酯的平均含量为 0.052%; RSD 为 4.84% ( $n=6$ ), 甲苯的平均含量为 0.0083%, RSD 为 5.41% ( $n=6$ ) 日间精密度结果为: 乙醇的平均含量为 0.020%, RSD 为 1.98% ( $n=12$ ); 乙酸乙酯的平均含量为 0.052%; RSD 为 4.51% ( $n=12$ ), 甲苯的平均含量为 0.0082%, RSD 为 5.09% ( $n=12$ )。

**2.8 检测限和定量限** 精密移取“2.2”项下乙醇储备液 80  $\mu\text{L}$ 、乙酸乙酯储备液 10  $\mu\text{L}$ 、甲苯储备液 10  $\mu\text{L}$ , 至同一 10 mL 容量瓶中, 用 DMF 定容, 摇匀, 再逐级稀释制成测定溶液。分别取各测定溶液 2 mL, 置顶空瓶中, 立即密封, 按“2.1”项下色谱条件检测, 并计算信噪比。当信噪比为 10:1 时的样品浓度为定量限, 此时乙醇浓度为 5.04  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 乙酸乙酯浓度为 0.63  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 甲苯浓度为 0.11  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。当信噪比为 3:1 时的样品浓度为检测限, 此时乙醇浓度为 1.68  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 乙酸乙酯浓度为 0.21  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 甲苯浓度为 0.04  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

**2.9 样品测定** 取 3 批自制品各 2 000 mg, 精密称定, 按“2.2”项下供试品溶液制备项下方法进行处理, 按“2.1”项下色谱条件下进行测定, 色谱图见图 1, 按照外标法计算各溶剂的含量, 结果见表 2。

表 2 三批样品溶剂残留量/(%,  $n=3$ )

溶剂	批号		
	20130819	20131025	20131216
乙醇	0.021	0.029	0.031
乙酸乙酯	0.052	0.058	0.051
甲苯	0.0083	0.0079	0.00091

### 3 讨论

**3.1 气相色谱条件的选择和优化** 药典中提倡使用水作为溶解样品的溶剂, 但是乙酸乙酯在水中溶解度较小, 且奥格列汀水中溶解性较差, 因此未选用水作为溶剂来溶解样品。经过尝试多种溶剂后发现, DMF 可以充分溶解奥格列汀自制品和三种待测溶剂, 同时 DMF 在相应溶剂位置无保留, 因此选择 DMF 可以得到良好的专属性。

选定溶剂后, 紧接着考察了顶空加热时间。分别考察加热时间为 20、30、40、50 min 时各个溶剂的挥发量。发现各溶剂在 30 min 时峰面积已经达到平台期, 实验结果表明 30 min 后瓶中气体挥发已经

达到了平衡, 因此选择 30 min 作为顶空加热的时间。本试验中待测残留溶剂沸点相差大, 故选择程序升温。经摸索, 确定升温程序为起始柱温 40  $^{\circ}\text{C}$  保持 6 min, 再以每分钟 15  $^{\circ}\text{C}$  的升温速率升至 180  $^{\circ}\text{C}$ 。使用该条件可以缩短检测时间, 提升试验效率。

**3.2 溶剂残留量** 根据《中国药典》2015 年版四部附录 0861 项残留溶剂测定法规定<sup>[8]</sup>, 原料药中乙醇、乙酸乙酯、甲苯的含量分别不得超过 0.5%、0.5%、0.089%。经测定, 三批奥格列汀自制品的溶剂残留均远小于药典规定限度。本方法中三种溶剂的检测浓度和定量浓度均远低于药典规定, 方法学中精密性、线性等各项均符合药典相应规定, 以上结果表明该方法用于测定奥格列汀中溶剂残留重现性好、结果准确可靠。

### 参考文献

- [1] Tesfaye B, Ranabir S R, Ping C, et al. Omarigliptin (MK-3102): a novel long-acting DPP-4 inhibitor for once-weekly treatment of type 2 diabetes [J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2014, 57(8): 3205-3212.
- [2] Sheu WH, Gantz I, Chen M, et al. Safety and efficacy of omarigliptin (MK-3102), a novel once-weekly DPP-4 inhibitor for the treatment of patients with type 2 diabetes [J]. *Diabetes Care*, 2015, 38(11): 2106-2114.
- [3] Chen P, Feng D, Qian X, et al. Structure-activity-relationship of amide and sulfonamide analogs of omarigliptin [J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2015, 25(24): 5767-5771.
- [4] Burness CB. Omarigliptin: First global approval [J]. *Drugs*, 2015, 75(16): 1947-1952.
- [5] Addy C, Tatosian D, Glasgow XS, et al. Pharmacokinetic and pharmacodynamic effects of multiple-dose administration of omarigliptin, a once-weekly dipeptidyl peptidase-4 inhibitor, in obese participants with and without type 2 diabetes mellitus [J]. *Clinical Therapeutics*, 2016, 38(3): 516-530.
- [6] 谢嵩, 徐济萍, 杨磊. 顶空气相色谱法测定苯甲酸阿格列汀原料药中 3 种有机溶剂残留量 [J]. *中国药房*, 2015, 26(9): 1269-1271.
- [7] 姜建国, 宋更申, 张西如, 等. 顶空气相色谱法测定洛伐他汀原料药中的有机溶剂残留量 [J]. *中国药房*, 2011, 22(17): 1607-1608.
- [8] 国家药典委员会. 中国药典(四部) [S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 附录 0861 项.

(收稿日期: 2016-06-13, 修回日期: 2016-08-08)