



ICP-MS 法测定盐酸安舒法辛缓释片中 7 个元素杂质含量

许雯雯¹, 孙震², 周凤梅², 余飞^{1,2}, 车鑫^{1,2}, 刘万卉^{1,2*}

(1. 烟台大学新型制剂与生物技术药物研究山东省高校协同创新中心, 分子药理和药物评价教育部重点实验室(烟台大学), 烟台 264005; 2. 绿叶制药集团有限公司长效和靶向制剂国家重点实验室, 烟台 264003)

摘要 目的: 建立电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)法测定盐酸安舒法辛缓释片中铅(Pb)、镉(Cd)、砷(As)、汞(Hg)、钴(Co)、钒(V)、镍(Ni) 7 个元素杂质含量。**方法:** 用微波消解进行样品前处理; 以 ^{73}Ge , ^{115}In , ^{209}Bi 为内标, 采用 ICP-MS 进行测定, 测量模式为碰撞池模式(KED), 碰撞气流速 $4.35\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, 采样深度 5.0 mm , 辅助气流速 $0.8\text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$, 雾化器流速 $1.075\text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$; 对所建立的方法进行了方法学验证。**结果:** 7 个元素标准曲线的相关系数均大于 0.99; 加样回收率在 92.2%~104.4% 之间; 重复性试验 $\text{RSD} \leq 1.2\%$ ($n=6$); 中间精密度试验 $\text{RSD} \leq 3\%$, 均满足 USP<233> 方法学验证的要求。样品检测的结果远小于国际人用药物注册技术协调会议《元素杂质指南 Q3D》(ICHQ3D) 中各元素杂质的每日允许暴露量(PDE)。**结论:** 本文建立的方法样品用量少, 分析速度快, 灵敏度高, 可用于盐酸安舒法辛缓释片中元素杂质的质量研究。**关键词:** 元素杂质; 盐酸安舒法辛缓释片; 电感耦合等离子体质谱; USP<233>; ICHQ3D; 方法学验证

中图分类号: R 917

文献标识码: A

文章编号: 0254-1793(2019)02-0319-09

doi: 10.16155/j.0254-1793.2019.02.19

Determination of 7 kinds of elemental impurities in desvenlafaxine hydrochloride extended-release tablets by ICP-MS

XU Wen-wen¹, SUN Zhen², ZHOU Feng-mei², YU Fei^{1,2},
CHE Xin^{1,2}, LIU Wan-hui^{1,2*}

(1. School of Pharmacy, Key Laboratory of Molecular Pharmacology and Drug Evaluation (Yantai University), Ministry of Education, Collaborative Innovation Center of Advanced Drug Deliver System and Biotech Drugs in Universities of Shandong, Yantai University, Yantai 264005, China; 2. State Key Laboratory of Long-acting and Targeting Drug Delivery System, Lüye Pharma Group Ltd., Yantai 264003, China)

Abstract Objective: To establish an inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) method for determination of 7 kinds of elemental impurities (Pb, Cd, As, Hg, Co, V, Ni) in desvenlafaxine hydrochloride extended-release tablets. **Methods:** Microwave digestion was adopted for sample pretreatment. ^{73}Ge , ^{115}In , ^{209}Bi were chosen as internal standard elements, and an inductively coupled plasma mass spectrometry method was

* 通信作者 Tel: (0535) 3808288; E-mail: wanhui@luye.cn

第一作者 Tel: 13665353982; E-mail: 1456162925@qq.com



established with following conditions: measurement mode was collision cell mode with kinetic energy discrimination (KED), the Q Cell gas was $4.35 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, the sampling depth was 5.0 mm, the auxiliary flow was $0.8 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ and the nebulizer flow was $1.075 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$. The method was validated. **Results:** Regression coefficients of standard curve of those seven elemental impurities are beyond 0.99. The recovery rates of spiked samples ranged from 92.2% to 104.4%. In repeatability, the $\text{RSD} \leq 1.2\%$ ($n=6$). The $\text{RSD} \leq 3\%$ of intermediate precision test. The determined values were well below permitted daily exposure (PDE) of elemental impurities in International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use < Guideline For Elemental Impurities Q3D> (ICHQ3D). **Conclusion:** The microwave digestion-ICP-MS method has a high sensitivity, a strong specificity, a fast analysis speed, and it only requires a small amount of sample which can support the determination of 7 elements in desvenlafaxine hydrochloride extended-release tablets.

Keywords: elemental impurities; desvenlafaxine hydrochloride extended-release tablets; ICP-MS; USP<233>; ICHQ3D; method validation

药品中的元素杂质来源较多,可能在合成中添加的催化剂残留,也可能由生产设备或容器密闭系统相互作用产生,还可能存在于药品各个组分中。基于元素毒性及在药品中出现的可能性,将元素分为3类^[1-2]。第1类:砷(As)、镉(Cd)、汞(Hg)和铅(Pb),对人体有毒,药品生产中不得使用或限制使用;第2类:该类元素毒性的大小与药物的给药途径有关,根据出现在药品中概率的大小将该类元素进一步分级为2A和2B类,2A类元素包括钴(Co)、镍(Ni)、钒(V),2B类元素包括银(Ag)、金(Au)、铱(Ir)、锇(Os)、钯(Pd)、铂(Pt)、铑(Rh)、钌(Ru)、硒(Se)、铊(Tl);第3类:该类元素口服毒性低,包括钡(Ba)、铬(Cr)、铜(Cu)、锂(Li)、钼(Mo)、锑(Sb)、锡(Sn)。由于元素杂质不能给患者提供任何治疗效果且有害,所以药品中元素杂质含量应该被控制在可接受的限度。

《元素杂质指南 Q3D》(ICHQ3D)是新药制剂元素杂质控制的质量指南,旨在为新药制剂和其赋形剂中元素杂质的定性和定量控制提供全球性方针,为口服、注射和吸入制剂中的24个元素杂质建立了日允许暴露量(PDE)^[3-4]。根据国际人用药物注册技术协调会议(ICH)Q3D口服制剂评估要求,生产过程中无有意添加元素杂质的产品需要对分类1和分类2A的7个元素进行评估。

目前,各国药典收载的重金属检查法仍以目视比色法进行半定量测定为主,方法存在专属性差,灵敏度低,操作烦琐等缺点^[5],已经不能满足元素杂质控制的要求。USP两项全新通则<232>(限度)、<233>(方法)取代了通则<231>(重金属限量检测),已于

2018年1月1日正式执行。USP<233>介绍了ICP-OES和ICP-MS 2种现代化元素杂质测定方法,并提出了具体的方法要求^[6-8]。

盐酸安舒法辛缓释片是山东绿叶制药有限公司开发的抗抑郁新药^[9-12],目前已获准开展Ⅲ期临床研究。为有效控制产品质量,本文按照USP<233>方法要求,建立ICP-MS法测定盐酸安舒法辛缓释片中7个元素杂质的含量。

1 仪器与试剂

电感耦合等离子体质谱仪:ICAPQ,赛默飞世尔科技公司;微波消解仪:Multiwave GO,安东帕有限公司;十万分之一天平:Mettler Toledo。

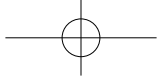
硝酸:超级纯,苏州晶瑞化学股份有限公司;Pb标准溶液($1000 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$),Hg标准溶液($1000 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$),As标准溶液($1000 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$),Cd标准溶液($100 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$),Co标准溶液($1000 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$),V标准溶液($1000 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$),Ni标准溶液($1000 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$),Reagecon Diagnostics Ltd.; 锗(Ge)标准溶液($1000 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$),铟(In)标准溶液($1000 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$),国家有色金属及电子材料分析测试中心;铋(Bi)标准溶液($100 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$),中国计量科学研究院;Au标准溶液($1000 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$),赛默飞;调谐液1323770B, Inorganic Ventures Inc.。

盐酸安舒法辛缓释片($160 \text{ mg} \cdot \text{片}^{-1}$):批号170812、170813、170814,山东绿叶制药有限公司。

2 方法与结果

2.1 元素杂质限度的制定

参照ICHQ3D指导原则的要求,口服固体制剂



中 Pb、Cd、As、Hg、Co、V、Ni 7 个元素的 PDE 如表 1 所示,盐酸安舒法辛缓释片每日服用剂量按片重计算不超过 10 g。本次研究参考 ICHQ3D 指南中浓度转换方法 1,即日摄入量不超过 10 g 的药品中元素杂质通用允许浓度限值^[13],计算各元素杂质的通用允许浓度——限度值。根据各元素杂质的限度值,稀释合理倍数,得到稀释后溶液中的限度浓度(J)。ICP-MS 测定大多数元素的线性动态范围在 0.01~100 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ ^[7],因此,本次研究中调整稀释因子为 1:500,使溶液中各目标元素 J 在 ICP-MS 合适的线性动态范围内,各目标元素限度值及 J 如表 1 所示。

表 1 元素 PDE 值和 J 值转换表Tab. 1 PDE value of the elements and J value conversion table

元素 (element)	等级 (class)	口服制剂 PDE 值 (oral PDE)/ ($\mu\text{g} \cdot \text{day}^{-1}$)	以日剂量 10 g 计 (calculated by a 10 g daily dose)	
			限度值 (the limit value)/ ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)	J / ($\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)
Pb	1	5	0.5	1
Cd	1	5	0.5	1
As	1	15	1.5	3
Hg	1	30	3.0	6
Co	2A	50	5.0	10
V	2A	100	10	20
Ni	2A	200	20	40

* 注 (notes): 按稀释因子 1:500 折算 (calculated by a dilution factor of 1:500); J : 溶液中限度浓度 (the limit value of concentration in solution, $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)

2.2 仪器参数

喷雾室温度为 2.7 $^{\circ}\text{C}$,冷气流速为 14.0 $\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$,蠕动泵速度为 40.0 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$,碰撞气流速为 4.35 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$,采样深度为 5.0 mm,辅助气流速为 0.8 $\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$,雾化器流速为 1.075 $\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$,火炬垂直位置为 -0.37,火炬水平位置为 -0.95,测量模式为 KED。

2.3 溶液制备

2.3.1 内标溶液 分别精密量取 Ge、In、Bi 标准溶液适量,用 5% 硝酸溶液定量稀释。即得 Ge、In、Bi 质量浓度均为 10 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的混合内标溶液。

2.3.2 供试品溶液制备 取本品 20 片,用研钵研细,作为供试品,取供试品 0.1 g,精密称定,置消解罐中,加硝酸 5 mL,110 $^{\circ}\text{C}$ 预消解 30 min,然后按表 2 条件进行微波消解,消解后 110 $^{\circ}\text{C}$ 赶酸 30 min,用超纯水将消解罐内溶液转移至 50 mL 量瓶,稀释至刻度,摇匀,即得。不加样品,同法制备空白溶液。

表 2 微波消解条件

Tab. 2 The conditions of microwave digestion

编号 (No.)	梯度 (ramp)/mm:ss	温度 (temp)/ $^{\circ}\text{C}$	保持 (hold)/mm:ss
1	10:00	120	5:00
2	5:00	150	5:00
3	5:00	180	25:00

2.3.3 标准曲线溶液的制备 分别精密量取 Pb、Hg、As、Cd、Co、V、Ni 标准溶液适量,用 5% 硝酸溶液 (含 200 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ Au)^[14] 定量稀释成 0.1 J 、0.5 J 、1.0 J 、1.5 J 、2.0 J 系列浓度的溶液 (如表 3 所示),作为标准曲线溶液。以 5% 硝酸溶液 (含 200 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ Au) 为溶剂空白。

表 3 线性溶液浓度 ($\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)

Tab. 3 Concentration of linear solution

元素 (element)	空白 (blank)	1 (0.1 J)	2 (0.5 J)	3 (1.0 J)	4 (1.5 J)	5 (2.0 J)
Pb	0	0.1	0.5	1	1.5	2
Cd	0	0.1	0.5	1	1.5	2
As	0	0.3	1.5	3	4.5	6
Hg	0	0.6	3	6	9	12
Co	0	1	5	10	15	20
V	0	2	10	20	30	40
Ni	0	4	20	40	60	80

2.4 测定法

测定时选取 ^{73}Ge 、 ^{115}In 、 ^{209}Bi 作为内标,仪器的内标进样管在仪器分析过程中始终插入内标溶液中,依次将仪器的样品管插入各个浓度的标准曲线溶液 (包括空白溶液) 中进行测定 (浓度依次递增),以每一浓度对应的响应值 (3 次读数的平均值) 为纵坐标,相应的浓度为横坐标做标准曲线。将仪器样品管插入供试品溶液中,测定,取 3 次读数的平均值,从标准曲线上计算相应的浓度,计算各元素杂质的含量。

2.5 方法学验证

2.5.1 系统适用性试验 供试品溶液测定前后,分别取标准曲线溶液 4 (1.5 J) 进样分析,按 USP<233> 要求,信号漂移不得过 20%。结果如表 4 所示,7 个元素供试品测定前后信号漂移均小于 3%,符合要求。

表 4 系统适用性试验结果

Tab. 4 Results of system suitability test

元素 (element)	初测值 (initial value)/cps	再测值 (retest value)/cps	漂移 (drift)/%
V	348 487	340 038	2.42
Co	446 433	434 412	2.69
Ni	443 730	431 504	2.76
As	543 5	541 2	0.43
Cd	103 21	100 51	2.61
Hg	132 560	132 288	0.21
Pb	217 859	211 689	2.83

2.5.2 线性与范围试验 分别按各元素限度浓度的 0~200% 设计线性范围,设计 6 个浓度点,考察各元素线性关系。取标准曲线溶液依次进样,以各元素杂质的响应值(Y , cps)为纵坐标,浓度(X , $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)为横坐标,绘制标准曲线,得各元素杂质的线性方程和相关系数。结果如表 5 所示,7 个元素 P 值最大为 5.92×10^{-7} ,远小于 α ($\alpha=0.01$ 或 0.05),证明回归方程有显著性;相关系数 $r>0.999$,说明线性关系良好。截距 95% 置信区间包含零(如图 1,以 Hg 元素为例),说明线性回归分析中使用过原点的三点校正法,能减少分析的不确定性^[15]。残差图以 Hg 元素为例,如图 2 所示。

表 5 线性试验结果

Tab. 5 Results of Linear regression

元素 (element)	线性方程 (linear regression)	斜率的相对标准误差 (relative standard error of slope)/%	截距 95% 置信区间 (95% confidence interval of Intercept)	剩余标准偏差 (residual standard deviation)	P 值 (P value)	r
V	$Y=1.165 \times 10^4 X-2.406 \times 10^3$	0.91	$-9.020 \times 10^3 \sim 4.207 \times 10^3$	377.4	4.18×10^{-8}	0.999 8
Co	$Y=2.975 \times 10^4 X-3.023 \times 10^3$	0.92	$-1.150 \times 10^4 \sim 5.451 \times 10^3$	482.2	4.24×10^{-8}	0.999 8
Ni	$Y=7.393 \times 10^3 X-2.809 \times 10^3$	0.92	$-1.123 \times 10^4 \sim 5.613 \times 10^3$	479.1	4.24×10^{-8}	0.999 8
As	$Y=1.203 \times 10^3 X-3.466$	0.92	$-1.067 \times 10^2 \sim 9.981 \times 10$	59	4.31×10^{-8}	0.999 8
Cd	$Y=6.918 \times 10^3 X-7.777 \times 10$	1.02	$-2.963 \times 10^2 \sim 1.40 \times 10^2$	124	6.41×10^{-8}	0.999 8
Hg	$Y=1.485 \times 10^4 X-1.932 \times 10^2$	1.27	$-3.696 \times 10^3 \sim 3.309 \times 10^3$	200.9	1.54×10^{-7}	0.999 7
Pb	$Y=1.452 \times 10^5 X+2.538 \times 10^2$	1.77	$-7.747 \times 10^3 \sim 8.255 \times 10^3$	451.1	5.92×10^{-7}	0.999 4

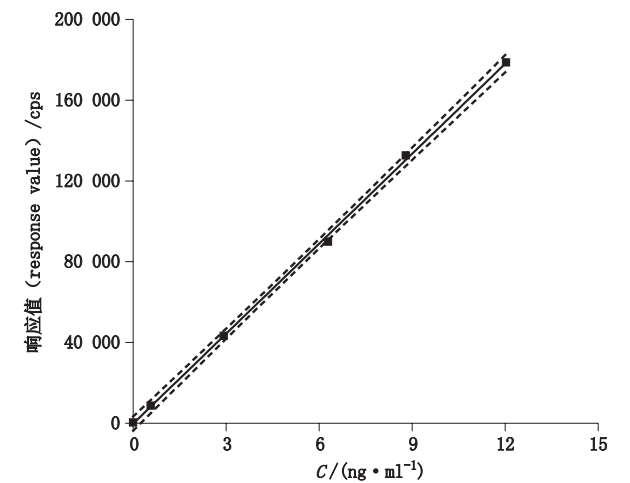


图 1 Hg 元素线性(直线)及 95% 置信区间(虚线)
Fig. 1 Linear regression line of Hg element (straight line) and 95% confidence interval (dotted line)

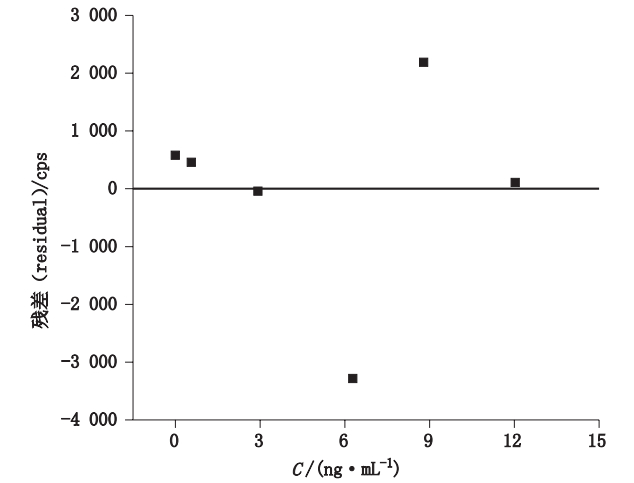


图 2 Hg 元素线性回归的残差图
Fig. 2 Residual plot for the linear regression analysis of Hg element

2.5.3 检测线及定量限试验 取空白溶液连续测定 11 次,以空白溶液响应值的 3 倍标准差所对应的浓度值作为检测下限,以空白溶液响应值的 10 倍标准差所对应的浓度值作为定量下限^[16]。具体计算公式为:

检测下限 $\text{LOD}=3\sigma/S$,定量下限 $\text{LOQ}=10\sigma/S$ 。 σ 为空白溶液连续测定 11 次各元素响应值的标准偏差; S 为各元素标准曲线斜率。以浓度和含量分别计算检测下限及定量下限。结果如表 6 所示,7 个元素检测下限、定量下限均低于限度值的 10%,能够满足限度测试需求。

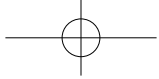


表 6 检测下限及定量下限试验结果

Tab. 6 Results of LODs and LOQs

元素 (element)	标准偏差 (SD)	斜率 (slope)	浓度 (concentration) / (ng · mL ⁻¹)		含量 (content) / (ng · g ⁻¹)		
			检测下限 (LOD)	定量下限 (LOQ)	检测下限 (LOD)	定量下限 (LOQ)	10% 限度值 (10% limit value)
V	12	1.165×10^4	0.003	0.010	1.565	5.217	1 000
Co	19	2.975×10^4	0.002	0.007	0.975	3.250	500
Ni	40	7.393×10^3	0.016	0.054	8.056	26.854	2 000
As	5	1.203×10^3	0.013	0.043	6.414	21.379	150
Cd	2	6.918×10^3	0.001	0.002	0.347	1.156	50
Hg	58	1.485×10^4	0.012	0.039	5.824	19.414	300
Pb	262	1.482×10^5	0.005	0.018	2.707	9.024	50

2.5.4 专属性试验 按照供试品溶液制备方法,加入适量标准物质,使待测元素浓度为限度浓度,即加标供试品溶液。

取空白溶液、供试品溶液、标准曲线溶液 3 (1.0J)、加标供试品溶液分别进样分析。结果如表 7 所示,空白溶液中 7 个待测元素 m/z 位置响应值均较低,Pb 元素在标准曲线溶液 3 (1.0J) 响应值的 7% 以内,其余各元素在标准曲线溶液 3 (1.0J) 响应值的 2% 以内,因此空白溶液对测定影响较小;各待测元素均有各自的 m/z ,不互相干扰检测;考察基质干

扰对测定的影响,以供试品溶液作为基质,在基质中加入对照品,与相应浓度对照品比较,按下式方法计算基质干扰,结果表明基质干扰在 -7.54%~0.72% 之间,基质抑制或增强均在 10% 以内,说明基质无较强干扰,因此专属性良好。

$$\text{基质干扰}(\%) = \frac{(A-B)-C}{C} \times 100\%$$

式中: A 为加标供试品溶液中各待测元素响应值(cps); B 为供试品溶液中各待测元素响应值(cps); C 为标准曲线溶液 3 (1.0J) 中各待测元素响应值(cps)。

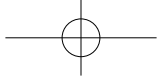
表 7 专属性试验结果(cps)

Tab. 7 Results of Specificity test(cps)

元素 (element)	空白溶液 (blank solution)	供试品溶液 (test solution)	标准曲线溶液 3 (1.0J) (1.0J standard solution)	加标供试品溶液 (spiked test solution)	基质干扰 (matrix effects) / %
V	73	333 8	229 598	234 584	0.72
Co	88	664	296 072	291 382	-1.81
Ni	546	704 8	295 342	293 762	-2.92
As	48	45	361 5	367 2	0.33
Cd	14	19	685 4	680 3	-1.02
Hg	379	377	898 76	834 73	-7.54
Pb	899 7	164 50	147 175	158 464	-3.51

2.5.5 重复性试验 精密称取样品 6 份,按供试品溶液制备方法,分别加入适量标准物质,使待测元素浓度为限度浓度,进样分析,计算每个元素的

RSD,考察其重复性。要求每个元素 RSD 应不大于 20%。盐酸安舒法辛中 V、Co、Ni、As、Cd、Hg、Pb 7 个元素重复性 RSD ($n=6$) 分别为 0.73%、0.63%、



0.57%、1.19%、0.89%、0.78%、1.2%，RSD 均在 2% 以内，符合 USP<233> 重复性的要求，表明方法的重复性良好^[7]。

2.5.6 中间精密度试验 由另一位分析人员在不同时间，按照重复性项下方法进行试验，考察随机变动因素对精密度的影响，采用 12 次测定结果的 RSD 来验证中间精密度，按 USP<233> 要求，每个待测元素 RSD 不超过 25% ($n=12$)。

加标供试品溶液制备：100% 限度浓度：精密称取已知含量的供试品 6 份，分别精密加入适量标准物质，然后按供试品溶液项下方法处理，得到浓度约为 1.0J 的加标供试品溶液，进样分析。

结果如表 8 所示。盐酸安舒法辛缓释片中 7 个元素由 2 位分析人员，不同时间测定，各元素总体重复性 $RSD \leq 2\%$ ($n=12$)，中间精密度 $RSD \leq 3\%$ ，满足 $RSD \leq 25\%$ 的验证要求^[7]。

表 8 中间精密度试验结果 (%)

Tab. 8 Results of intermediate precision test

样品编号 (sample No.)	V		Co		Ni		As		Cd		Hg		Pb	
	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2
1	100.67	102.91	99.85	100.52	100.88	99.58	101.15	98.74	100.14	99.39	94.56	94.49	101.76	101.51
2	101.92	107.54	101.73	105.58	102.15	104.7	104.39	102.79	101.73	101.9	96.47	97.21	104.37	105.09
3	102.11	101.71	101.11	99.41	102.34	100.03	102.29	101.11	102.33	99.61	96.13	95.35	102.62	101.18
4	102.23	101.86	101.15	100.16	101.59	99.41	103.6	101.05	100.87	98.71	95.43	95.16	103.85	99.58
5	102.96	103.38	101.37	101.01	102.27	100.38	104.13	100.25	100.86	98.21	96.17	96.02	102.95	99.63
6	102.08	103.1	100.88	100.34	102.27	100.58	103.36	99.6	102.35	98.53	96.49	96.08	105.02	100.88
平均值 (mean)	102.00	103.42	101.02	101.17	101.92	100.78	103.15	100.59	101.38	99.39	95.88	95.72	103.43	101.31
95% 置信区间 (95% confidence interval)	101.21~ 102.78	101.18~ 105.65	100.34~ 101.69	98.84~ 103.50	101.31~ 102.52	98.71~ 102.85	101.87~ 104.44	99.12~ 102.06	100.44~ 102.32	97.99~ 100.80	95.09~ 96.66	94.73~ 96.70	102.16~ 104.69	99.19~ 103.43
RSD/%	0.73	2.1	0.63	2.2	0.57	2.0	1.2	1.4	0.89	1.4	0.78	0.98	1.2	2.0
总体平均值 (overall mean)	102.71		101.09		101.35		101.87		100.39		95.80		102.37	
总体 95% 置信区间 (95% confidence interval)	101.63~ 103.78		100.10~ 102.08		100.39~ 102.31		100.71~ 103.04		99.43~ 101.34		95.28~ 96.31		101.14~ 103.60	
总体重复性 (overall repeatability) /%	1.55		1.62		1.43		1.29		1.13		0.89		1.62	
中间精密度 (intermediate precision) /%	1.7		1.6		1.5		2.1		1.7		0.89		2.1	

注 (notes): A1. 分析人员 1 (analyst 1); A2. 分析人员 2 (analyst 2)

2.5.7 加样回收率试验 精密称取供试品 9 份，按照供试品溶液制备方法，按限度浓度 50%、100%、150% 加入标准物质，作为低、中、高 3 个浓度的加标供试品溶液，每个浓度制备 3 个平行样品，进行加样回收试验，验证方法准确度，要求每个浓度 3 个平行样的加样回收率平均值在 70%~150%。结果如表 9 所示，7 个元素 3 个不同浓度水平下回收率均在

92.2%~104.4% 之间，符合 USP<233> 要求。

2.6 样品测定

在上述仪器条件下，采用该方法对 3 批盐酸安舒法辛缓释片中元素杂质进行含量测定，结果如表 10 所示，各批次中元素杂质含量均远小于限度值 (均低于限度值的 1%)，制剂中所测 7 个元素杂质无风险。

表 9 加样回收率试验结果

Tab. 9 Results of recovery test

元素 (element)	浓度水平 (concentration level)/%	回收率 (recovery)/%	平均回收率 (average recovery)/%	RSD/% (n=3)	RSD/% (n=9)
V	50	101.9, 99.8, 100.5	100.8	1.1	0.88
	100	100.7, 101.9, 102.1	101.6	0.77	
	150	100.9, 102.6, 101.3	101.6	0.83	
Co	50	101.1, 99.6, 100.1	100.3	0.77	0.97
	100	99.8, 101.7, 101.1	100.9	0.95	
	150	99.2, 102.0, 100.4	100.5	1.4	
Ni	50	101.5, 99.9, 100.0	100.5	0.87	1.0
	100	100.9, 102.2, 102.4	101.8	0.78	
	150	99.5, 101.5, 100.1	100.4	1.0	
As	50	103.6, 104.3, 101.2	103.1	1.6	1.2
	100	101.2, 104.4, 102.3	102.6	1.6	
	150	101.5, 103.4, 102.8	102.5	0.94	
Cd	50	100.8, 99.8, 101.6	100.8	0.92	0.86
	100	100.1, 101.7, 102.3	101.4	1.1	
	150	101.4, 101.4, 100.1	101.0	0.74	
Hg	50	94.3, 93.4, 92.2	93.3	1.2	1.7
	100	94.6, 96.5, 96.1	95.7	1.1	
	150	95.3, 97.5, 95.4	96.1	1.3	
Pb	50	104.4, 102.1, 100.1	102.2	2.1	1.8
	100	101.8, 104.4, 102.6	102.9	1.3	
	150	100.5, 102.2, 99.0	100.6	1.6	

表 10 样品测定结果 ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)

Tab. 10 Determination of sample

元素 (element)	170812	170813	170814	定量不限 (LOQ)	限度值 (limit value)
V	0.141	0.103	0.137	0.005	10
Co	0.010	0.008	0.010	0.003	5
Ni	0.445	0.457	0.490	0.027	20
As	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0.021	1.5
Cd	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0.001	0.5
Hg	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0.019	3
Pb	0.025	0.014	0.018	0.009	0.5

注 (note): 限度值按 ICH Q3D 口服用药 PDE 值折算, 日剂量以 10 g 计 (the limit value is calculated with ICHQ3D PDE and a daily intake of 10 grams of drug product)

3 讨论

3.1 内标元素的选择

ICP-MS 分析过程中, 分析信号会随时间而发生

漂移, 而且分析样品时基质效应可能抑制或增强样品的信号。选择适当的内标元素, 不仅能改善方法的精密度, 而且还能补偿基质干扰。通常选择供试品中

不含,且质量数和第一电离能都和待测元素接近的元素作为内标元素^[17]。本试验测定 7 个元素,依据上述内标选择的原则,选择 ^{73}Ge 、 ^{115}In 、 ^{209}Bi 作为混合内标。内标浓度参考相关文献^[18-19]、元素丰度及响应值,仪器合理范围等因素,采用 $10\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 Ge 、 $10\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 In 、 $10\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 Bi 作为混合内标溶液。

3.2 样品消解方法的选择

对于不溶或不易溶解的样品,通常采用消解法进行前处理。消解方法分为干灰化法、湿式消解法和微波消解法:干灰化法操作复杂,高温灼烧样品易导致挥发性元素损失,造成结果偏低;湿式法消解在敞口容器中有些元素易挥发,且操作时间较长;比较而言,微波消解法快速、简便、节省试剂,因此本研究首选微波消解作为不溶样品的前处理方法^[20]。

3.3 同位素选择

ICP-MS 测定过程中有质谱干扰,主要包括同量异位素重叠干扰、多原子干扰、难溶氧化物干扰及双电荷离子干扰,可以通过同位素的选择和仪器参数的最佳化来减少。许多元素具有多个同位素,应按照丰度大、干扰小、灵敏度高的原则选择同位素^[21],按照以上原则,本次实验测定的 7 个元素选择的同位素如下: ^{51}V 、 ^{59}Co 、 ^{60}Ni 、 ^{75}As 、 ^{111}Cd 、 ^{202}Hg 、 ^{208}Pb 。

如表 11 所示, ^{59}Co 、 ^{75}As 为单同位素; ^{51}V 、 ^{202}Hg 、 ^{208}Pb 选择丰度最大同位素, ^{60}Ni 选择丰度第二高同位素,因丰度最大同位素 ^{58}Ni 存在 $^{115}\text{In}^{++}$ 、 $^{116}\text{Sn}^{++}$ 、 ^{58}Fe 、 $^{40}\text{Ar}+^{18}\text{O}$ 等潜在干扰; ^{111}Cd 选择了丰度第三高同位素,因丰度最大同位素 ^{114}Cd 存在 $^{40}\text{Ar}+^{74}\text{Ge}$ 、 $^{12}\text{C}+^{102}\text{Ru}$ 、 $^{16}\text{O}+^{98}\text{Mo}$ 等潜在干扰,丰度第二高同位素 ^{112}Cd 存在 $^{40}\text{Ar}+^{72}\text{Ge}$ 、 $^{14}\text{N}+^{98}\text{Mo}$ 、 $^{16}\text{O}+^{96}\text{Mo}$ 等潜在干扰。

表 11 元素分析同位素的选择

Tab. 11 Selection of isotope of elements

元素 (element)	主要同位素 (main isotope)	优选的同位素 (preferred isotope)	选择原因 (reasons for choice)
V	^{51}V (99.75%)、 ^{50}V (0.25%)	^{51}V	丰度最大同位素,干扰较少 (highest abundance, less interference)
Co	^{59}Co (100%)	^{59}Co	单同位素 (single isotope)
Ni	^{58}Ni (68.27%)、 ^{60}Ni (26.10%)、 ^{61}Ni (1.13%) 等 (etc.)	^{60}Ni	^{58}Ni : $^{115}\text{In}^{++}$ 、 $^{116}\text{Sn}^{++}$ 、 ^{58}Fe 、 $^{40}\text{Ar}+^{18}\text{O}$ 干扰等; ^{60}Ni : 干扰较少 (^{58}Ni : $^{115}\text{In}^{++}$ 、 $^{116}\text{Sn}^{++}$ 、 ^{58}Fe 、 $^{40}\text{Ar}+^{18}\text{O}$ interference etc. ^{60}Ni : less interference)
As	^{75}As (100%)	^{75}As	单同位素 (single isotope)
Cd	^{114}Cd (28.73%)、 ^{112}Cd (24.13%)、 ^{111}Cd (12.80%) 等 (etc.)	^{111}Cd	^{114}Cd : $^{40}\text{Ar}+^{74}\text{Ge}$ 、 $^{12}\text{C}+^{102}\text{Ru}$ 、 $^{16}\text{O}+^{98}\text{Mo}$ 干扰等; ^{112}Cd : $^{40}\text{Ar}+^{72}\text{Ge}$ 、 $^{14}\text{N}+^{98}\text{Mo}$ 、 $^{16}\text{O}+^{96}\text{Mo}$ 干扰等 (^{114}Cd : $^{40}\text{Ar}+^{74}\text{Ge}$ 、 $^{12}\text{C}+^{102}\text{Ru}$ 、 $^{16}\text{O}+^{98}\text{Mo}$ interference etc. ^{112}Cd : $^{40}\text{Ar}+^{72}\text{Ge}$ 、 $^{14}\text{N}+^{98}\text{Mo}$ 、 $^{16}\text{O}+^{96}\text{Mo}$ interference etc.)
Hg	^{202}Hg (29.80%)、 ^{200}Hg (23.13%)、 ^{199}Hg (16.84%) 等 (etc.)	^{202}Hg	丰度最大同位素,干扰较少 (highest abundance, less interference)
Pb	^{208}Pb (52.40%)、 ^{206}Pb (24.10%)、 ^{207}Pb (22.10%) 等 (etc.)	^{208}Pb	丰度最大同位素,干扰较少 (highest abundance, less interference)

3.4 方法的专属性

按照 USP<233> 方法学验证要求,分析方法应当能够明确检测每种元素杂质,共存的其他成分(包括其他元素杂质、基质成分)不干扰检测^[7]。本方法选择的待测同位素如下: ^{51}V 、 ^{59}Co 、 ^{60}Ni 、 ^{75}As 、 ^{111}Cd 、 ^{202}Hg 、 ^{208}Pb 。7 个待测元素均有各自的 m/z ,不互相干扰检测;空白溶液中 7 个待测元素的 m/z 位置强度值均较低,小于标准曲线溶液 3 (1.0J) 响应值的 10%,空白溶液干扰小;设计了样品消解后加标与标准曲线溶液 3 (1.0J) 对比的方法证明基质干扰,基质干扰在 10% 以内,证明无较强干扰,满足专属性

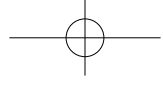
要求。

3.5 线性与范围、定量限

分别按各元素限度浓度的 0~200% 设计线性范围,方法能检测样品中元素杂质含量在 0~2 倍 PDE 值对应浓度水平,能够满足元素杂质评估需要。本方法各元素定量限均低于限度浓度的 10%,能够满足元素杂质限度测定需求。

3.6 小结

本试验按照 USP<233> 方法要求,建立了 ICP-MS 法测定盐酸安舒法辛缓释片中 7 个元素杂质的含量并进行方法学验证;参考 < Method Validation in



Pharmaceutical Analysis >^[15]线性要求,验证回归方程有显著性,线性关系良好;准确度、中间精密度满足 USP<233> 方法要求。采用本方法测定盐酸安舒法辛缓释片中 7 个元素杂质含量,灵敏度高,干扰小,具有良好的准确度与精密度。用该方法测定了 3 批盐酸安舒法辛缓释片中 7 个元素杂质含量,测定结果显示各目标元素杂质含量均远小于限度值,满足 ICHQ3D 中口服制剂元素杂质限度要求,因此盐酸安舒法辛缓释片中元素杂质无风险,不需要进一步控制,在质量标准中,无需设置相关检查项。

本试验建立的测定方法及评估标准符合目前国际上最新的指导原则及法规要求,为元素杂质分析方法的建立与评估提供了参考。

参考文献

- [1] IPCS. Environmental Health Criteria 240 Principles and Methods for the Risk Assessment of Chemicals in Food, Chapter 5: Dose Response Assessment and Derivation of Health Based Guidance Values[S]. 2009: 537
- [2] HAXEL GB, HEDRICK JB, ORRIS GJ. Rare Earth Elements—Critical Resources for High Technology [EB/OL]. US Geological Survey (2005–05–17) [2018–05–30]. [http://geopubs. wr. usgs. gov/fact-sheet/fs087-02/](http://geopubs.wr.usgs.gov/fact-sheet/fs087-02/)
- [3] ICH: ICH Q3D Step 4 Version Guideline for Elemental Impurities [EB/OL]. (2014–12–16) [2017–04–29]. [https://www.ich. Org/ fileadmin/Public_Web_Site/ICH _Products/Guide lines/Quality/ Q3D/Q3D _Step _4. pdf](https://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q3D/Q3D_Step_4.pdf)
- [4] 姜小林,董素萍,舒靖能. ICHQ3D 新药制剂元素杂质评估及控制的要点解读[J]. 中国药事, 2017, 31(8): 854
JIANG XL, DONG SP, SHU JN, *et al.* Key points for the evaluation and control of element impurities in ICH Q3D new drug formulations [J]. China Pharm Aff, 2017, 31(8): 854
- [5] 靳贵英. 药用辅料 β -环糊精中 7 种重金属元素的分析[J]. 今日药学, 2017, 27(4): 228
JIN GY. Analysis of heavy metal element in pharmaceutical excipient β -cyclodextrin [J]. Pharm Today, 2017, 27(4): 228
- [6] USP 40–NF 35[S]. 2017: 6151 (<232>, Elemental Impurities—Limits)
- [7] USP 40–NF 35[S]. 2017: 6147 (<233>Elemental Impurities—Procedures)
- [8] 张亚红,李华龙. 电感耦合等离子体质谱法测定阿加曲班原料药中催化剂钯的残留量[J]. 药物分析杂志, 2016, 36(9): 1667
ZHANG YH, LI HL. Determination of catalyst palladium residue in argatroban crude product by ICP–MS [J]. Chin J Pharm Anal, 2016, 36(9): 1667
- [9] MUTH EA, MOYER JA, HASKIN JT, *et al.* Biochemical, neurophysiological, and behavioral effects of Wy–45, 233 and other identified metabolites of the antidepressant venlafaxine [J]. Drug Dev Res, 2010, 23(2): 191
- [10] DEECHER DC, BEYER CE, JOHNSTON G, *et al.* Desvenlafaxine succinate: a new serotonin and norepinephrine reuptake inhibitor [J]. J Pharmacol Exp Ther, 2006, 318(2): 657
- [11] PARKS V, PATAT A, BEHRLE J, *et al.* Safety, pharmacokinetics (PK) and pharmacodynamics (PD) of ascending single doses of desvenlafaxine (DVS–233 SR) in healthy subjects [J]. Clin Pharmacol Ther, 2005, 77(2): 28
- [12] 李洁,马崔. 文拉法辛的药理特点及临床应用[J]. 精神医学杂志, 2005, 18(4): 276
LI J, MA C. Pharmacological features and clinical application of venlafaxine [J]. J Psychiatr Neurosci, 2005, 18(4): 276
- [13] TEASDALE A, CHERY CC, COOK G, *et al.* Implementation of ICH Q3D elemental impurities guideline: challenges and opportunities [J]. Pharm Technol, 2015, 27(3): 12
- [14] GB5009.268–2016 食品安全国家标准食品中多元素的测定[S]. 2016
GB5009.268–2016 Determination of Multi–elements in Food Safety National Standard Food [S]. 2016
- [15] ERMER J, NETHERCOTE P, BURGESS C, *et al.* Method validation in pharmaceutical analysis [M]. 2nd ed. British: Wiley–VCH, 2015: 203
- [16] 高若梅,刘鸿皋. 检出限概念问题讨论—IUPAC 及其它检出限定义的综合探讨和实验论证[J]. 分析化学, 1993, 21(10): 1232
GAO RM, LIU HG. Discussion of concept of detection limit—the definition, the estimation and the use of IUPAC and etc. Approaches [J]. Chin J Anal Chem, 1993, 21(10): 1232
- [17] 金鹏飞,马捷,邹定,等. ICP–MS 同时测定多维元素片(29)中 8 种微量元素的含量[J]. 药物分析杂志, 2009, 29(6): 994
JIN PF, MA J, ZOU D, *et al.* Simultaneous determination of eight trace elements in multidimensional element tablets (29) by ICP–MS [J]. Chin J Pharm Anal, 2009, 29(6): 994
- [18] 张振兴,王强,杨凤,等. 微波消解–ICP–MS 法测定利奈唑胺中残留钯[J]. 化学研究与应用, 2013, 25(1): 134
ZHANG ZX, WANG Q, YANG F, *et al.* Determination of residual Pd in linezolid by microwave digestion–ICP–MS [J]. Chem Res Appl, 2013, 25(1): 134
- [19] 李颖,刘雁鸣,栗贵,等. 采用 ICP–MS 法测定苯甲酸钠中 Mn、Co、As、Pb 元素的含量[J]. 中南药学, 2015, 13(7): 752
LI Y, LIU YM, SHU G, *et al.* Determination of Mn, Co, As, and Pb contents in sodium benzoate using ICP–MS [J]. Cent South Pharm, 2015, 13(7): 752
- [20] CLAUDIA A, PONCE A. Trace element determination in vitamin E using ICP–MS [J]. Anal Bioanal Chem, 2002, 374(2): 230
- [21] 符传武,韦瑶瑶,洪薇,等. ICP–MS 测定明胶空心胶囊中的二氧化钛[J]. 药物分析杂志, 2015, 35(12): 2209
FU CW, WEI YY, HONG W, *et al.* Determination of titanium dioxide in gelatin hollow capsules by ICP–MS [J]. Chin J Pharm Anal, 2015, 35(12): 2209

(本文于 2018 年 11 月 25 日收到)