

ICP-MS 法测定辅酶 Q₁₀ 原料及制剂中 22 种元素杂质

王也牧

(上海食品药品检验所, 上海 200131)

摘要 目的: 建立测定辅酶 Q₁₀ 原料及制剂中 22 种元素杂质的方法。方法: 以密闭高压微波消解技术处理样品, 采用电感耦合等离子体质谱法以全定量的方式测定镉 (Cd)、铅 (Pb)、砷 (As)、汞 (Hg)、钴 (Co)、钒 (V)、镍 (Ni) 的含量, 以半定量的方式测定其余 15 种元素杂质的含量。结果: 辅酶 Q₁₀ 中 Cd、Pb、As、Hg、Co、V、Ni 的加样回收率为 89.8%~103.5%, 检测下限均满足测定要求。辅酶 Q₁₀ 原料所含元素杂质均远低于限度值, 企业 1~3 生产的辅酶 Q₁₀ 胶囊含 Pb 浓度较高。企业 3、14 生产的辅酶 Q₁₀ 胶囊含 (Al) 浓度较高, 有可能是药用辅料滑石粉引入。结论: 所用方法准确快捷, 灵敏度高, 适用于辅酶 Q₁₀ 原料和制剂中元素杂质的测定。
关键词: 辅酶 Q₁₀; 电感耦合等离子体质谱法; 元素杂质; 制剂; 胶囊

中图分类号: R 917

文献标识码: A

文章编号: 0254-1793(2019)05-0890-05

doi: 10.16155/j.0254-1793.2019.05.17

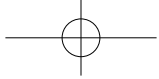
Determination of twenty-two elemental impurities in coenzyme Q₁₀ material and preparations by ICP-MS

WANG Ye-mu

(Shanghai Institute for Food and Drug Control, Shanghai 200131, China)

Abstract Objective: To establish a method for determination of twenty-two elemental impurities in coenzyme Q₁₀ material and preparations. **Methods:** A rapid method was established based on microwave digestion assisted with inductively coupled plasma-mass spectrometer (ICP-MS) for full quantitative analysis for Cd, Pb, As, Hg, Co, V, Ni and semi quantitative analysis for other 15 elemental impurities. **Results:** The recoveries of Cd, Pb, As, Hg, Co, V, Ni in coenzyme Q₁₀ were 89.8%–103.5%, and the limits of detection all met the requirements of determination. The elemental impurities in coenzyme Q₁₀ material were far below limits. The concentrations of lead in coenzyme Q₁₀ capsules made by manufacturers 1–3 were higher than the other. The higher concentration of aluminum in coenzyme Q₁₀ capsules made by manufacturers 3 and 14 were supposed come from pharmaceutical excipient talc. **Conclusion:** The proposed method is accurate, rapid, and sensitive, which can be applied to the determination of elemental impurities in coenzyme Q₁₀ material and preparations.

Keywords: coenzyme Q₁₀; ICP-MS; elemental impurities; preparation; capsules



辅酶 Q₁₀ 合成过程中使用了过渡金属复合物或金属盐类等催化剂,有可能造成辅酶 Q₁₀ 原料药金属杂质残留^[1]。此外,药用辅料、制剂过程亦有可能引入金属杂质。基于药物安全性和质量控制的要求,应当控制这些通常无治疗作用的金属杂质^[2-3],国内已经开始采用 ICP-MS 法对食品、药品进行多元素杂质分析^[4-6]。

本文根据 ICH Q3D 元素杂质指导原则,结合美国药典(USP 39)关于金属催化剂或金属试剂残留量限度规定,全定量测定镉(Cd)、铅(Pb)、砷(As)、汞(Hg)、钴(Co)、钒(V)、镍(Ni)7种金属杂质,半定量测定铱(Ir)、锇(Os)、钯(Pd)、铂(Pt)、铑(Rh)、钌(Ru)、钼(Mo)、硒(Se)、锰(Mn)、锂(Li)、铝(Al)、铁(Fe)、锌(Zn)、铬(Cr)、铜(Cu)15种金属杂质在辅酶 Q₁₀ 原料及制剂中的残留。

1 仪器与试剂

Agilent 7900 电感耦合等离子体质谱仪(安捷伦科技有限公司);Agilent 700 电感耦合等离子体发射光谱仪(安捷伦科技有限公司);Topex 微波消解仪(上海屹尧分析仪器有限公司);A10 超纯水仪(Millipore 公司);XS205 电子天平(Mettler Toledo 公司)。

Ir、Ru、Mo、Ni、V、Co、Se 标准储备液(1 000 mg·L⁻¹,国家有色金属及电子材料分析测试中心);Cd、Pb、Mn、Li、Al、Fe、Zn、Cr、Cu 标准储备液(1 000 mg·L⁻¹,上海市计量测试技术研究院);As、Hg、Os、Rh、Pd、Pt、钪(Sc)、锗(Ge)、铟(In)、铯(Cs)、镧(Lu)标准储备液(1 000 mg·L⁻¹,Merck 公司);硝酸、盐酸(优级纯)。玻璃仪器使用前经 20% 硝酸浸泡过夜,并用去离子水洗净。

2 个企业提供共 7 批辅酶 Q₁₀ 原料,15 个企业提供辅酶 Q₁₀ 制剂(包括硬胶囊、软胶囊、片剂)。

2 方法与结果

2.1 工作条件 仪器的最佳分析条件:RF 功率 1 550W,样品提升速率 0.3 r·s⁻¹,载气流量 0.80 L·min⁻¹,雾化室温度 2℃,稀释器流量 0.30 L·min⁻¹,采样深度 8 mm,数据采集次数 3,积分时间 0.6 s。

2.2 标准曲线及内标溶液配制 精密称取各离子标准储备液适量,加 3% 盐酸配制成 0.5 J、J、5 J 系列标准曲线溶液,标准溶液 J 的浓度与各金属杂质的限度相对应,详见表 1。以 3% 盐酸配制浓度均为 40 ng·mL⁻¹ 的混合内标溶液(Sc、Ge、In、Cs、Lu)。空白溶液为 3% 盐酸。

表 1 各元素限度规定及标准溶液 J 浓度

Tab. 1 Class exposure and concentration limits in ICH and standard solution concentration

元素 (element)	分类 (class)	口服药组分元素浓度限度 (concentration limits for components used in oral drug products)/(μg·g ⁻¹)	口服每日允许暴露量 (oral permitted daily exposures, oral PDE)/μg per day	标准溶液 J 浓度 (concentration of standard solution J)/(ng·mL ⁻¹)
Cd、Pb	1	0.5	5	2
As	1	1.5	15	6
Hg	1	3	30	12
Co	2A	5	50	20
V	2A	10	100	40
Ni	2A	20	200	80
Ir、Os、Pd、Pt、Rh、Ru	2B	10	100	40
Mo	3	300	3 000	60
Cr	3	1 100	11 000	120
Li	3	55	550	280
Cu	3	300	3 000	1 000
Mn、Al	-	-	-	1 000
Fe、Zn	-	-	-	4 000
Se	-	-	-	60

2.3 样品溶液的制备 取供试品约 0.2 g,精密称定,置消解罐中,加盐酸 1 mL,加硝酸 3.5 mL,混匀,盖好内盖,室温放置过夜(预消解),放入外套管,旋紧外盖,置于微波消解仪中进行消解处理。消解完毕后,待消解罐内红棕色蒸汽挥尽,冷却至室温,加水将内容物定量转移至 50 mL 量瓶中,用水稀释至刻度,摇匀,离心,即得样品溶液;同法制备样品空白溶液。

2.4 方法学验证 测定“2.2”项下空白溶液和标准曲线溶液,得到不同元素的线性回归方程,测定样

品空白溶液 20 次,计算各元素检出限。取供试品约 0.2 g,精密称定,置消解罐中,分别加入标准储备液配制为 0.5 J、J、5 J 的加样回收溶液,每个浓度制备 3 份平行样,依照“2.3”项下方法制备溶液,取供试品溶液和加样回收溶液进样测定,计算各元素加样回收率。取浓度为 1 J 的 1 份加样回收溶液连续测定 6 次,计算方法精密度。照加样回收溶液 J 制备方法平行配制 6 份溶液,测得方法重复性,结果见表 2。

表 2 Cd、Pb、As、Hg、Co、V、Ni 的方法学验证结果
Tab. 2 The validation results of Cd, Pb, As, Hg, Co, V, Ni

元素 (element)	线性方程 (regression equation)	<i>r</i>	回收率 (recovery)/% (<i>n</i> =9)	检测下限 (limit of detection) / (ng · mL ⁻¹)	精密度 (precision), RSD/%	重复性 (repeatability), RSD/%
Cd	$Y=0.0177X+3.5330 \times 10^{-6}$	1.000	93.1 ± 2.8	3.301×10^{-4}	0.39	1.3
Pb	$Y=0.0104X+8.6098 \times 10^{-5}$	1.000	95.2 ± 1.6	7.673×10^{-4}	0.51	1.1
As	$Y=0.0070X+5.4765 \times 10^{-5}$	1.000	103.5 ± 2.6	9.994×10^{-3}	0.53	1.3
Hg	$Y=8.0009 \times 10^{-4}X+3.6096 \times 10^{-5}$	1.000	89.8 ± 4.9	5.031×10^{-3}	1.2	1.5
Co	$Y=0.1093X+1.1463 \times 10^{-4}$	1.000	99.9 ± 0.7	4.523×10^{-4}	0.49	1.2
V	$Y=0.0379X+1.6766 \times 10^{-4}$	1.000	98.6 ± 1.0	4.531×10^{-3}	0.82	1.3
Ni	$Y=0.0300X+5.9884 \times 10^{-4}$	1.000	100.4 ± 0.8	2.745×10^{-3}	1.0	2.9

Ir、Os、Pd、Pt、Rh、Ru 等 15 种金属杂质采用半定量方法测定,以标准溶液浓度和响应信号的比值作为响应因子,计算待测样品中元素浓度。

2.5 样品测定 测定“2.3”项下样品溶液并根据

样品称量值和稀释倍数计算辅酶 Q₁₀ 原料中各元素浓度,根据样品称量值、平均片重、每日服药量和稀释倍数计算辅酶 Q₁₀ 制剂中各元素浓度,结果见表 3~6。

表 3 辅酶 Q₁₀ 原料中 1、2A 类金属杂质测定结果 (μg · g⁻¹, *n*=2)
Tab. 3 Determination results of class 1 and 2A elemental impurities in coenzyme Q₁₀ material

生产企业 (manufacturer)	批号 (lot No.)	Cd	Pb	As	Hg	Co	V	Ni
A	160624	<0.001	0.009	0.007	—	0.003	0.004	0.025
	160713	<0.001	0.041	0.009	—	0.002	0.002	0.041
	160706	<0.001	0.021	0.009	—	0.003	0.003	0.106
	1607112	<0.001	0.006	0.011	—	0.001	—	0.047
B	Q20160701	<0.001	0.016	0.009	—	0.001	—	0.033
	Q20160702	<0.001	0.004	0.008	—	0.002	—	0.015
	Q20160703	<0.001	0.027	0.009	—	0.002	—	0.090

表 4 辅酶 Q₁₀ 制剂中 1、2A 类金属杂质测定结果 ($\mu\text{g per day}$, $n=2$)Tab. 4 Determination results of class 1 and 2A elemental impurities in coenzyme Q₁₀ preparation

生产企业 (manufacturer)	批号 (lot No.)	Cd	Pb	As	Hg	Co	V	Ni
1	160202	<0.01	0.92	0.01	<0.01	0.01	0.01	0.06
2	27160151	<0.01	0.87	0.01	—	<0.01	0.02	0.05
3	151201	<0.01	0.74	0.02	0.01	0.06	0.97	0.17
4	24160401	<0.01	0.08	<0.01	—	0.01	<0.01	0.02
5	20160101	<0.01	0.12	0.01	<0.01	0.01	0.02	0.03
6	160601	<0.01	0.06	0.01	—	0.01	0.02	0.04
7	160302	<0.01	0.04	0.01	—	<0.01	0.02	0.04
8	151202	<0.01	0.04	0.01	—	<0.01	0.01	0.01
9	27151006	<0.01	0.03	0.01	—	<0.01	0.01	0.02
10	1504002	<0.01	0.02	<0.01	—	<0.01	0.01	0.03
11	160102	<0.01	0.06	0.02	<0.01	0.01	0.01	0.07
12	FES1604002	<0.01	0.02	0.04	<0.01	0.01	0.04	0.11
13	20160104	<0.01	0.01	0.01	—	0.05	<0.01	0.06
14	150701	<0.01	0.11	0.02	—	0.03	0.82	0.23
15	1601036	<0.01	0.15	0.03	—	0.01	0.26	0.07

表 5 辅酶 Q₁₀ 原料中其他金属杂质测定结果 ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, $n=2$)Tab. 5 Determination results of other elemental impurities in coenzyme Q₁₀ material

生产企业 (manufacturer)	批号 (lot No.)	Li	Al	Cr	Mn	Fe	Cu	Zn	Se	Mo	Ru	Rh	Pd	Os	Ir	Pt
A	160624	—	2.26	0.09	0.10	3.14	0.03	0.29	<0.01	—	<0.01	<0.01	0.39	—	<0.01	<0.01
	160713	—	0.40	0.06	0.09	9.18	0.04	0.15	<0.01	0.01	<0.01	<0.01	0.90	—	0.03	<0.01
	160706	—	1.55	0.15	0.11	4.92	0.04	0.13	<0.01	0.02	<0.01	<0.01	0.52	—	0.01	<0.01
	1607112	—	0.59	0.09	0.01	1.01	0.01	0.05	—	<0.01	<0.01	<0.01	—	—	—	—
B	Q20160701	—	0.43	0.06	0.01	0.56	0.01	0.17	—	<0.01	<0.01	<0.01	—	—	—	—
	Q20160702	—	0.43	0.08	0.02	0.25	0.04	0.13	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	0.17	—	<0.01	<0.01
	Q20160703	—	0.50	0.20	0.03	0.95	0.07	0.13	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	—	—	<0.01	<0.01

表 6 辅酶 Q₁₀ 制剂中其他金属杂质测定结果 ($\mu\text{g per day}$, $n=2$)Tab. 6 Determination results of other elemental impurities in coenzyme Q₁₀ preparation

生产企业 (manufacturer)	批号 (Lot No.)	Li	Al	Cr	Mn	Fe	Cu	Zn	Se	Mo	Ru	Rh	Pd	Os	Ir	Pt
1	160202	—	2.36	0.17	0.34	2.48	0.15	0.92	<0.01	0.05	<0.01	<0.01	—	—	<0.01	<0.01
2	27160151	—	1.73	0.11	0.05	1.34	0.08	0.33	0.01	0.03	<0.01	<0.01	0.60	—	<0.01	<0.01
3	151201	0.35	829.53	0.43	1.31	228.14	0.15	0.62	0.02	0.02	—	—	0.52	—	<0.01	<0.01
4	24160401	—	1.12	0.03	0.14	1.12	0.10	0.42	0.01	0.02	—	—	0.10	—	<0.01	<0.01
5	20160101	—	1.64	0.11	0.61	2.48	0.17	0.46	0.01	0.02	<0.01	<0.01	0.25	—	<0.01	<0.01
6	160601	—	5.86	0.09	0.20	4.59	0.09	1.43	0.01	0.05	—	<0.01	0.14	—	<0.01	—
7	160302	0.01	4.89	0.12	0.25	2.87	0.10	0.27	<0.01	0.02	—	—	—	—	—	—
8	151202	—	0.75	0.03	0.01	1.86	0.08	0.22	<0.01	0.02	<0.01	<0.01	—	—	—	—
9	27151006	—	0.64	0.08	0.05	0.95	0.02	0.32	0.01	0.02	—	—	—	—	—	—
10	1504002	—	0.42	0.04	0.02	0.91	0.02	0.12	<0.01	0.01	—	—	—	—	—	—
11	160102	—	3.41	0.13	0.16	4.39	0.32	2.0	<0.01	0.02	—	—	—	—	—	—
12	FES1604002	—	1.78	0.13	0.66	6.92	0.07	0.68	0.02	0.03	—	—	—	—	—	—
13	20160104	—	0.95	0.65	1.66	1874.7	0.05	0.57	0.01	0.01	—	—	—	—	—	—
14	150701	—	488.98	0.37	1.59	169.41	0.26	1.81	0.02	0.04	—	—	—	—	—	<0.01
15	1601036	—	105	0.08	1.45	56.36	0.04	1.59	0.01	0.06	—	—	—	—	—	<0.01

注 (note): 第 13 家企业制剂处方中含有 Fe (13 enterprises formulation containing Fe)

3 讨论

3.1 分析方法选择 ICH Q3D 对元素杂质按照毒性和丰度进行分类,规定无论是否有可能引入,口服制剂均需要检查 1 类和 2A 类元素杂质,即 Cd、Pb、As、Hg、Co、V、Ni。由于 Pb、As、Hg、Cd 限度低,采用 ICP-OES 法测定比较困难,一般采用 ICP-MS 法测定。此外,实验中发现,有的样品含有较高浓度的 Fe 元素,在 ICP-OES 测定方法中,Fe 元素的发射谱线会干扰某些贵金属如 Os、Pt、Ru 测定,导致假阳性,因此,本文采用 ICP-MS 法定量测定辅酶 Q₁₀ 原料和制剂中 Cd、Pb、As、Hg、Co、V、Ni 7 种元素杂质,半定量筛选 Ir、Os、Pd 等 15 种元素杂质。

3.2 样品前处理方法选择 Hg 元素沸点较低,Os 元素加热易生成剧毒蒸气,故选用微波消解法作为样品处理方法。常用的消解剂为硝酸,贵金属加盐酸形成络合物能够稳定存在,含 Si 化合物必须加入氢氟酸才能消解,所以相应加入少量盐酸或氢氟酸。

根据对企业的问卷调查,辅酶 Q₁₀ 制剂的原料均为测定后生产,测定 2 个厂家共 7 批不同批号的原料药,所含金属杂质均较少。

3.3 测定结果分析 本文对所有元素浓度和 PDE 的计算方法源于 ICH Q3D 评价计算方法 3^[3]。

目前国内生产的辅酶 Q₁₀ 制剂所用原料药均来自于生产厂家 A、B。7 批原料药的测定数据表明,较少含有检测的 22 种元素杂质。

以每日服用量 30 mg 计算辅酶 Q₁₀ 制剂各种元素的每日暴露量,结果表明,大部分企业生产的辅酶 Q₁₀ 制剂含有较少元素杂质,但个别企业的产品含有远高于其他厂家同类产品的元素杂质。企业 1、2、3 生产的辅酶 Q₁₀ 胶囊含 Pb 浓度较高(每天 0.74~0.92 μg),虽然小于标准规定限度每天 5 μg,但远大于其他厂家产品所含 Pb 浓度,有可能存在安全隐患。

企业 3 生产的辅酶 Q₁₀ 胶囊含有较高浓度的 Al (829.53 μg·d⁻¹),进一步测定发现该企业生产的另外 15 批产品中 Al 元素浓度均偏高(每天 280~757 μg)。考察该生产企业生产所用辅料(乳糖、滑石粉、二氧化硅),滑石粉和二氧化硅检出 Al 浓度分别为 378.75 μg·g⁻¹ 和 701.17 μg·g⁻¹。此外,企业 14 生产的辅酶 Q₁₀ 胶囊亦检出较高浓度的 Al(每天 488.98 μg),2 个企业生产所用辅料中均含有滑石粉和二氧化硅,推测有可能由辅料引入 Al 元素杂质。

目前 ICH、USP 并未规定检测 Al 元素,但人体摄

入过多 Al 会蓄积在体内,进而危害神经系统等^[7]。WHO 和欧洲食品安全局建议^[7-8],人体 Al 最高摄入量每周每千克体重不超过 1~2 mg。辅酶 Q₁₀ 胶囊说明书描述,此药品用于心血管疾病、肝炎、癌症的辅助性治疗,可见其为长期用药。《中华人民共和国药典》和 USP 对滑石粉中 Al 元素浓度规定为不得超过 2.0%^[9-10],滑石粉比例较高的制剂即使使用符合药典规定的辅料,仍含有较高浓度 Al 元素,对人体健康不利。

参考文献

- [1] 戴惠芳. 辅酶 Q₁₀ 立体控制合成的研究[D]. 上海: 复旦大学, 2008
DAI HF. Studies on The High Stereoselective Synthesis of Coenzyme Q₁₀[D]. Shanghai: Fudan University, 2008
- [2] USP 39-NF-41. Vol I [S]. 2016: 268
- [3] Guideline for Elemental Impurities ICH Q3D[S]. 2016
- [4] 李春盈, 张玉英. ICP-MS 法测定板蓝根颗粒中重金属及有害元素的含量并分析其来源[J]. 华西药理学杂志, 2012, 27(2): 187
LI CY, ZHANG YY. Determination and source apportionment of heavy metals and hazardous elements in Banlangen granules by ICP-MS[J]. West Chin J Pharm Sci, 2012, 27(2): 187
- [5] 杜静, 秦民坚, 黄林芳, 等. ICP-MS 测定石斛中微量元素及其安全性评价[Z]. 世界中联中药专业委员会学术年会暨中药新药研发与中药资源可持续利用国际研讨会, 2011
DU J, QIN MJ, HUANG LF, et al. Determination of trace elements in *Dendrobii caulis* by ICP-MS and safety analysis[Z]. World Federation of Chinese Medicine Societies (WFCMS) Academic Annual Meeting and International Symposium On the Research and Development of Traditional Chinese Medicine and The Sustainable Use of Traditional Chinese Medicine Resources, 2011
- [6] 牟卫伟, 刘艳. ICP-MS 测定补钙类保健食品中的多种重金属元素残留[J]. 中国生化药物杂志, 2016, 36(5): 207
MOU WW, LIU Y. Residue determination of various metal elements in calcium health food by ICP-MS[J]. Chin J Biochem Pharm, 2016, 36(5): 207
- [7] 李青, 刘思洁, 方赤光. 食品中铝含量及其危害研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(1): 14
LI Q, LIU SJ, FANG CG. Research progress on the content and harm of aluminum in food[J]. Food Safe Qual Detec Technol, 2016, 7(1): 14
- [8] 欧盟修改有关含铝食品添加剂使用条件和标准[J]. 国际市场, 2012(Z3): 50
The EU revised the conditions and standards for the use of aluminium-containing food additives[J]. World Market, 2012(Z3): 50
- [9] USP 39-NF 41. Vol 3[S]. 2016: 5995
- [10] 中华人民共和国药典 2015 年版. 四部[S]. 2016: 598
ChP 2015. Vol IV[S]. 2016: 598

(本文于 2017 年 9 月 30 日收到)