

·国家药监局重点实验室·麻精药品质量研究专题·

中图分类号: R927.2; R971⁺.3 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2024)09-0007-04
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2024.09.003



电感耦合等离子体-质谱法测定艾司唑仑片中7种元素杂质含量*

胡幸¹, 匡鑫玉², 曾令高^{1△}

(1. 重庆市食品药品检验检测研究院·国家药品监督管理局麻醉精神药品质量监测重点实验室, 重庆 401121;
2. 重庆大学生物工程学院, 重庆 400044)

专家简介: 胡幸, 女, 大学本科, 主管药师。研究方向为药物分析和药品质量标准, 参与并完成6个国家药品评价性抽检品种, 多项进口质量标准复核、药品质量标准提高项目。发表学术论文6篇。



摘要:目的 建立测定艾司唑仑片中1类元素砷(As)、镉(Cd)、汞(Hg)、铅(Pb)及2A类元素钴(Co)、镍(Ni)、钒(V)杂质含量的电感耦合等离子体-质谱(ICP-MS)法。方法 采用硝酸前处理样品。等离子体射频功率为1500 W, 雾化气流速为0.92 L/min, 蠕动泵速为25 r/min, 碰撞模式为动能歧视(KED)模式, 碰撞气为氦气, 碰撞气流速为3.8 mL/min, 以铟(¹¹⁵In)和铋(²⁰⁹Bi)元素为内标元素校正基体效应和干扰。结果 As, Cd, Hg, Pb, Co, Ni, V元素的质量浓度分别在0~4.5 ng/mL、0~1.5 ng/mL、0~9.0 ng/mL、0~1.5 ng/mL、0~15.0 ng/mL、0~60.0 ng/mL、0~30.0 ng/mL范围内与待测元素和内标元素响应值的比值线性关系良好($r \geq 0.9994$, $n = 5$); 重复性、中间精密度的试验结果的RSD均小于4% ($n = 6$); 加样回收率分别为96.33%, 90.02%, 89.46%, 105.08%, 104.43%, 99.07%, 106.04%, RSD分别为4.48%, 4.42%, 3.19%, 4.58%, 2.16%, 2.43%, 1.87% ($n = 9$)。20批样品中7种元素杂质的含量均远低于限度。结论 该方法操作简单、结果准确, 可用于艾司唑仑片中1类和2A类元素杂质的含量测定。

关键词: 电感耦合等离子体-质谱法; 艾司唑仑片; 元素杂质; 含量测定

Content Determination of Seven Elemental Impurities in Estazolam Tablets by ICP-MS

HU Xing¹, KUANG Xinyu², ZENG Linggao¹

(1. Chongqing Institute for Food and Drug Control · NMPA Key Laboratory for Quality Monitoring of Narcotic Drugs and Psychotropic Substances, Chongqing, China 401121; 2. College of Bioengineering, Chongqing University, Chongqing, China 400044)

Abstract: Objective To establish an inductively coupled plasma - mass spectrometry (ICP - MS) method for the content determination of category 1 elements [arsenic (As), cadmium (Cd), hydrargyrum (Hg), and lead (Pb)], and category 2A elements [cobalt (Co), nickel (Ni), and vanadium (V)] in Estazolam Tablets. **Methods** The samples were pre-treated with the nitric acid. The radio frequency (RF) power of the plasma was 1500 W, the flow rate of the atomized gas was 0.92 L/min, the speed of the peristaltic pump was 25 r/min, the crash mode was kinetic energy discrimination (KED) mode, the collision gas was helium with a flow rate of 3.8 mL/min. The matrix effect and interference were corrected with indium (¹¹⁵In) and bismuth (²⁰⁹Bi) elements as internal standards. **Results** The linear ranges of As, Cd, Hg, Pb, Co, Ni, and V elements were 0 - 4.5 ng/mL, 0 - 1.5 ng/mL, 0 - 9.0 ng/mL, 0 - 1.5 ng/mL, 0 - 15.0 ng/mL, 0 - 60.0 ng/mL, and 0 - 30.0 ng/mL ($r \geq$

*基金项目: 重庆市技术创新与应用发展专项面上项目[CSTB2022TIAD-GPX0071]。

第一作者: 胡幸, 女, 大学本科, 主管药师, 研究方向为药物分析, (电子信箱)huxing@cqifdc.org.cn。

△通信作者: 曾令高, 男, 硕士研究生, 主任药师, 研究方向为药物分析, (电子信箱)zenglinggao@cqifdc.org.cn。

[7] 程航, 刘晓娟. 盐酸吡硫醇渗透泵片的研制[J]. 中国医药工业杂志, 2018, 49(6): 775-781.

[8] 张栋梁, 奚泉, 苗佳颖. 挤出型单室渗透泵片释药性能的影响因素考察[J]. 中国医药工业杂志, 2021, 52(2): 219-225.

[9] 袁晓炫, 要辉, 张欣, 等. 天麻素微孔渗透泵缓释片的制备及其药动学评价[J]. 中国医院药学杂志, 2021, 41(17): 1472-1478.

[10] 赵堂开, 葛婷婷, 王琢文, 等. 山奈酚微孔渗透泵片的制备工艺研究[J]. 湖北科技学院学报(医学版), 2023, 37(6): 495-498.

[11] 冀慧雁, 宋文静, 王宁. 口服渗透泵控释制剂的研究进展[J]. 山西医药杂志, 2018, 47(15): 1774-1776.

[12] 江雄知, 崔丽丽, 李和平. 羧甲基淀粉钠的合成与应用研究进展[J]. 精细与专用化学品, 2008, 16(17): 23-26.

[13] 唐岚, 裘帅波, 吴兰, 等. 厚朴酚-交联羧甲基纤维素钠固体分散体的制备及体外溶出研究[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(3): 433-437.

(收稿日期: 2024-02-09)

0.999 4, $n = 5$), respectively. The *RSDs* of the repeatability and intermediate precision test results were lower than 4% ($n = 6$). The recovery rates of the above seven elemental impurities were 96.33%, 90.02%, 89.46%, 105.08%, 104.43%, 99.07%, and 106.04%, with *RSDs* of 4.48%, 4.42%, 3.19%, 4.58%, 2.16%, 2.43%, and 1.87% ($n = 9$), respectively. The impurity content of seven elemental impurities in 20 batches of samples was far below the specified limits. **Conclusion** The method is simple and accurate, which can be used for the content determination of category 1 and 2A elemental impurities in Estazolam Tablets.

Key words: ICP - MS; Estazolam Tablets; elemental impurities; content determination

艾司唑仑片为第二类精神药品,具有催眠镇静^[1-3]、抗焦虑^[4]、抗惊厥^[5]等作用。国内目前共有42家企业生产艾司唑仑片,有1 mg和2 mg 2个规格,其中4家企业(规格为1 mg)生产的艾司唑仑片已通过一致性评价。生产过程中,元素杂质可能通过原料药、辅料、包装材料、注射用水、生产设备等多途径引入^[6-9]。若长期服用药品,存在元素杂质超过允许限度的风险,故需测定制剂中的元素杂质。目前,常用元素杂质测定方法有原子荧光光谱(AFS)法、原子吸收(AAS)法、电感耦合等离子体发射光谱(ICP)法和电感耦合等离子体-质谱(ICP-MS)法。其中,AFS法测定元素的种类较局限;AAS法每次只能测定1个元素,多元素测定操作烦琐;ICP法的灵敏度不及ICP-MS法,操作过程中会使用更大的样品及更高浓度的标准物质;ICP-MS法灵敏度高、线性范围宽,同时测定多种元素使用样品更少,可达到检测效果,是目前检测痕量有害金属离子的首选方法^[10-12]。为保障用药安全,本研究中建立了测定艾司唑仑片中1类元素砷(As)、镉(Cd)、汞(Hg)、铅(Pb)及2A类元素钴(Co)、镍(Ni)、钒(V)杂质含量的ICP-MS法,为其质量控制提供参考。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

NexION 2000型ICP-MS仪(美国PerkinElmer公司);Milli-Q型超纯水仪(美国Millipore公司);XPE205DR型电子天平(瑞士Mettler Toledo公司,精度为0.01 mg)。

1.2 试剂

As标准溶液(中国计量科学研究院,批号为20041,质量浓度为1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$);Cd标准溶液(批号为235037-4),Hg标准溶液(批号为235008-4),Pb标准溶液(批号为235025-6),Co标准溶液(批号为235041-2),金(Au)标准溶液(批号为21B022-2),V标准溶液(批号为233061-3),Ni标准溶液(批号为234023-6),质量浓度均为1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$,均购自国家有色金属及电子材料分析测试中心;多元素标准溶液[含铋(Bi)、锗(Ge)、铟(In)、锂(Li)、钪(Sc)、铽(Tb)、钇(Y)元素,美国PerkinElmer公司,批号为CL1-46MKBY1,质量浓度为10 $\mu\text{g}/\text{mL}$];68%硝酸溶液(UPS级,晶瑞电子材料股份

有限公司,批号为230215049);艾司唑仑片(A厂家,批号分别为20221018,20221112,20221115,20221116,20221206;B厂家,批号分别为221001,221008,221012,221018,221106;C厂家,批号分别为65230201,65230101,65221203,65221004,65221003;D厂家,批号分别为20220805,20220414,20220413,20221106,20220901)。

2 方法与结果

2.1 ICP-MS工作条件

等离子体射频功率:1 500 W;雾化气流速:0.92 L/min;碰撞气:氦气;碰撞气流速:3.8 mL/min;蠕动泵速:25 r/min;碰撞模式:动能歧视(KED)模式;重复次数:3次。以铟(¹¹⁵In)和铋(²⁰⁹Bi)作为内标元素。

2.2 溶液制备

标准空白溶剂(稀释剂):取硝酸50 mL,加Au元素标准溶液200 μL ,用超纯水稀释至1 000 mL。

混合标准贮备液:分别精密量取As, Pb, Cd, Hg, Co, V, Ni单元素标准溶液各适量,用稀释剂稀释成每1 mL含As 75 ng、Pb 25 ng、Cd 25 ng、Hg 150 ng、Co 250 ng、V 500 ng、Ni 1 000 ng的溶液,即得。

系列标准曲线溶液:分别精密量取上述混合标准贮备液0.1, 0.5, 1.0, 1.5, 3.0 mL,分别置50 mL容量瓶中,用稀释剂定容,混匀,即得。

限度浓度溶液:分别精密量取上述混合标准贮备液1.0 mL,置50 mL容量瓶中,用稀释剂定容,混匀,即得。

混合内标溶液(²⁰⁹Bi, ¹¹⁵In):精密量取多元素标准溶液(质量浓度为10 $\mu\text{g}/\text{mL}$)0.1 mL,置200 mL容量瓶中,用5%硝酸溶液稀释成质量浓度为5 ng/mL的溶液,即得。

供试品溶液:取样品细粉50 mg,精密称定,加硝酸5.0 mL、Au元素标准溶液10 μL ,置同一聚四氟乙烯消解罐内,130 $^{\circ}\text{C}$ 条件下用石墨消解仪消解1 h,赶酸0.5 h,用超纯水将消解罐内的溶液转移至50 mL容量瓶中,并用超纯水定容,摇匀,即得。

空白溶液:不加样品,按供试品溶液制备方法制备,即得。

2.3 方法学考察

专属性试验:选择待测元素间互不干扰,同时与内

标元素也互不干扰的质量数作为检测对象,待测元素各有特定的质量数,对测定互不干扰。标准空白溶液(稀释剂)与限度浓度溶液的响应值比值小于10%,即空白基质液对检测无明显干扰。详见表1。

表1 专属性试验结果

Tab. 1 Results of the specificity test

元素	响应值(cps)		比值(%)
	标准空白溶液	限度浓度溶液	
⁷⁵ As	13.00	828.02	1.57
¹¹¹ Cd	11.00	1 003.37	1.10
²⁰² Hg	1 379.73	15 513.42	8.89
²⁰⁸ Pb	929.30	21 136.96	4.40
⁵⁹ Co	157.33	65 215.20	0.24
⁶⁰ Ni	287.67	71 171.86	0.40
⁵¹ V	500.68	46 388.54	1.08

线性关系考察:取2.2项下系列标准曲线溶液,按2.1项下ICP-MS工作条件进样测定,在线加入混合内标溶液,以待测元素的质量浓度(X , ng/mL)为横坐标、待测元素与内标元素响应值的比值(Y)为纵坐标进行线性回归。结果见表2。

表2 线性关系考察、检测限与定量限确定结果($n=5$)

Tab. 2 Results of the linear relation test and determination of limit of detection and limit of quantitation ($n=5$)

元素	回归方程	r	线性范围(ng/mL)	检测限(ng/mL)	定量限(ng/mL)
⁷⁵ As	$Y=0.0418X$	0.9999	0~4.5	0.011	0.037
¹¹¹ Cd	$Y=0.151X$	0.9999	0~1.5	0.002	0.007
²⁰² Hg	$Y=0.2789X$	0.9999	0~9.0	0.005	0.016
²⁰⁸ Pb	$Y=0.757X$	0.9994	0~1.5	0.017	0.056
⁵⁹ Co	$Y=1.1375X$	1.0000	0~15.0	0.001	0.005
⁶⁰ Ni	$Y=0.27655X$	0.9999	0~60.0	0.016	0.054
⁵¹ V	$Y=0.3555X$	0.9999	0~30.0	0.005	0.015

检测限和定量限确定:精密吸取2.2项下空白溶液11份适量,按2.1项下ICP-MS工作条件进样测定,以各元素与内标元素响应值比值的标准偏差的3倍所对应质量浓度为检测限,以标准偏差的10倍所对应质量浓度为定量限。结果见表2。

重复性试验:取空白辅料0.05 g,精密称定,按2.2项下方法平行制备溶液6份,精密加入标准贮备液1.0 mL,用超纯水稀释并定容,摇匀,按2.1项下ICP-MS工作条件进样测定,按标准曲线法计算各元素的含量。结果各元素含量的RSD均小于4%($n=6$),表明方法重复性良好。详见表3。

中间精密度试验:由不同分析员在不同时间,取空白辅料6份,按重复性试验项下方法操作,计算各元素的含量。结果各元素含量的RSD均小于3%($n=6$),表

明方法中间精密度良好。详见表3。

加样回收试验:分别精密量取各单元素标准溶液适量,用稀释剂稀释成每1 mL含As 375 ng、Pb 125 ng、Cd 125 ng、Hg 750 ng、Co 1 250 ng、V 2 500 ng、Ni 5 000 ng的加标贮备液;取空白辅料0.05 g,精密称定,共9份,分别加入上述加标贮备液0.1,0.2,0.3 mL,各3份,按供试品溶液制备方法进行消解,分别作为50%,100%,150%浓度水平加标回收溶液。按2.1项下ICP-MS工作条件进样测定,计算加样回收率。结果各元素的回收率均在85%~110%范围内,符合方法学验证的要求,表明方法准确度良好。详见表3。

表3 精密度、重复性与加样回收试验结果(%)

Tab. 3 Results of the precision, repeatability, and recovery tests (%)

元素	RSD($n=6$)		加样回收试验($n=9$)	
	重复性试验	中间精密度试验	\bar{X}	RSD
⁷⁵ As	2.14	2.68	96.33	4.48
¹¹¹ Cd	3.88	2.57	90.02	4.42
²⁰² Hg	1.63	0.87	89.46	3.19
²⁰⁸ Pb	3.66	1.64	105.08	4.58
⁵⁹ Co	0.85	1.95	104.43	2.16
⁶⁰ Ni	1.62	0.91	99.07	2.43
⁵¹ V	0.79	1.93	106.04	1.87

2.4 元素杂质限度计算

艾司唑仑片每日最大摄入量远低于10 g,参照人用药品注册技术要求国际协调会(ICH)Q3D指南,按剂量不超过10 g/d的最大量计算。允许浓度($\mu\text{g/g}$)=允许日暴露量(PDE)/每日剂量。ICP-MS法测定多数元素的线性动态范围为0.01~100 ng/mL,故本研究中调整稀释因子为1:1 000,使溶液中各目标元素均在仪器合适的线性动态范围内,各元素杂质限度见表4。

表4 艾司唑仑片中元素杂质的允许日暴露量与限度

Tab. 4 Permissible daily exposure and concentrations of elemental impurities in Eszopiclone Tablets

元素	分类	允许日暴露量($\mu\text{g/d}$)	限度浓度(按稀释1 000倍计,ng/mL)	限度($\mu\text{g/g}$)
⁷⁵ As	1类	15	1.5	1.5
¹¹¹ Cd	1类	5	0.5	0.5
²⁰² Hg	1类	30	3.0	3.0
²⁰⁸ Pb	1类	5	0.5	0.5
⁵⁹ Co	2A类	50	5.0	5.0
⁶⁰ Ni	2A类	100	10.0	10.0
⁵¹ V	2A类	200	20.0	20.0

2.5 样品含量测定

取20批样品,按2.2项下方法制备供试品溶液,按2.1项下ICP-MS工作条件进样测定,按内标校正的标

准曲线法计算含量。结果见表5。可见,1类元素As和Cd元素均未检出,但企业B和企业D的Hg元素检出批次较多;2A类元素Co,V,Ni元素均有检出,但含量均低于控制阈值的30%,表明原辅料、纯化水、生产设备等可能引入的元素杂质均能被有效控制,不影响药物的安全性。

表5 样品中元素杂质含量测定结果($\times 10^{-6}$)

Tab. 5 Results of the content determination of elemental impurities in samples ($\times 10^{-6}$)

企业	批号	As	Pb	Hg	Cd	Co	V	Ni
A	20221115	-	-	-	-	<0.005	-	<0.054
	20221116	-	-	-	-	-	-	<0.054
	20221112	-	-	-	-	<0.005	<0.015	-
	20221018	-	-	-	-	-	-	-
	20221206	-	-	-	-	-	-	-
B	221001	-	-	<0.016	-	-	-	<0.054
	221008	-	-	<0.016	-	-	-	<0.054
	221106	-	<0.056	<0.016	-	<0.005	-	<0.054
	221012	-	-	<0.016	-	<0.005	-	-
	221018	-	-	<0.016	-	<0.005	-	-
C	65230201	-	-	-	-	-	<0.015	<0.054
	65230101	-	-	-	-	<0.005	<0.015	-
	65221203	-	-	-	-	-	<0.015	<0.054
	65221004	-	-	-	-	<0.005	<0.015	<0.054
	65221003	-	-	-	-	-	<0.015	-
D	20220805	-	-	<0.016	-	-	-	-
	20220414	-	-	<0.016	-	-	-	<0.054
	20220413	-	-	<0.016	-	-	<0.015	-
	20221106	-	-	<0.016	-	-	-	<0.054
	20220901	-	-	-	-	-	-	<0.054

注: - 表示未检出。

Note: - refers to no detection.

3 讨论

3.1 内标元素选择

在ICP-MS分析中,光谱干扰(如同位素、多原子离子和双电荷离子)和非光谱干扰(如基质效应、记忆效应)是常见问题^[13-14]。为校正信号干扰,通常依据内标元素质量数与元素质量数是否相似、与元素电离势是否匹配选择内标元素^[15]。本研究中选择²⁰⁹Bi作为²⁰²Hg和²⁰⁸Pb的内标元素,选择¹¹⁵In作为⁷⁵As,¹¹¹Cd,⁵⁹Co,⁶⁰Ni,⁵¹V的内标元素。此外,结合元素丰度及响应值、仪器合理范围等因素,确定以质量浓度为5 ng/mL的²⁰⁹Bi和¹¹⁵In作为混合内标溶液。

3.2 用空白辅料进行方法学验证

由于艾司唑仑片规格为1 mg,主药只占平均片重的1%,对测定结果几乎无影响。且被测样品均已通过

一致性评价,样品辅料组成一致,故选择空白辅料进行方法学验证,既有代表性,又可减少艾司唑仑片的使用。

3.3 方法评价

本研究中建立的方法操作简单、分析快速、灵敏度高、检测结果准确、样品用量少,可用于艾司唑仑片中1类和2A类元素杂质的质量控制及风险评估。

参考文献

- [1] 李君,马金玉. 艾司唑仑治疗慢性失眠症的效果研究[J]. 中国药物滥用防治杂志,2023,29(1):27-29.
- [2] 张彬彬,官军. 针灸结合艾司唑仑片治疗慢性失眠患者的效果分析[J]. 中国药物滥用防治杂志,2022,28(10):1387-1391.
- [3] 李丹青. 艾司唑仑联合认知行为治疗对精神分裂症合并睡眠障碍受救助患者的疗效分析[J]. 吉林医学,2022,43(7):1824-1826.
- [4] 涂福堂,胡松,朱宗伟,等. 氟哌噻吨美利曲辛片联用艾司唑仑片治疗帕金森病伴焦虑抑郁的临床疗效研究[J]. 临床医药实践,2020,29(6):425-427.
- [5] 刘岳,刘晓慧,齐文渊,等. 艾司唑仑片在中国健康受试者中的药代动力学及生物等效性研究[J]. 中国临床药理学杂志,2021,37(14):1776-1779.
- [6] 姜小林,董素萍,舒靖能. ICH Q3D 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):854-860.
- [7] 王宏亮. 金属参与的化学合成原料药元素杂质来源浅析[J]. 药物评价研究,2023,46(12):2689-2698.
- [8] 张芸,王亚敏. 基于ICH Q3D(R2)解读药品元素杂质研究的基本考虑[J]. 中国新药杂志,2023,32(17):1719-1724.
- [9] 王稠雯. 化学原料药中元素杂质含量的风险评估[J]. 化工设计通讯,2022,48(4):218-220.
- [10] 郑颖,白靖,梁平,等. 电感耦合等离子体质谱法测定丙泊酚注射液中有毒元素含量[J]. 中国药业,2021,30(7):62-65.
- [11] 裴丽娟,杨继章,李建,等. 电感耦合等离子体质谱法同时测定布南色林原料药中12种金属元素含量[J]. 中国药业,2022,31(20):65-68.
- [12] 耿治飞,王永杰,刘会艳,等. 电感耦合等离子体质谱法同时测定杨梅根药材中5种重金属及有害元素含量[J]. 中国药业,2023,32(11):71-74.
- [13] ZHU L, XIAO CQ, TENG X, et al. An inductively coupled plasma mass spectrometry method for the determination of elemental impurities in calcium carbonate mineral medicine[J]. Spectrochemical Acta Part B: Atomic Spectroscopy, 2022, 192:106429.
- [14] 朱俐,赵瑜,尹利辉,等. 电感耦合等离子体原子发射光谱法和电感耦合等离子体质谱法检测药品中元素杂质的研究进展[J]. 理化检验:化学分册,2022,58(3):361-372.
- [15] 高盼,邹巧根. ICP-MS法测定富马酸替诺福韦二吡啶酯中元素杂质含量[J]. 生物加工过程,2023,21(6):670-676.

(收稿日期:2023-07-23;修回日期:2024-01-12)