

中图分类号: R917 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2024)14-0091-04
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2024.14.022



电感耦合等离子体质谱法测定富马酸伏诺拉生片及其原料药中7种元素杂质含量*

龚翠云, 朱婧[△], 王玲兰, 刘秀, 彭国卿

(株洲千金药业股份有限公司, 湖南 株洲 412000)

摘要:目的 建立测定富马酸伏诺拉生片及其原料药中7种元素杂质含量的电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS)法。方法 等离子体功率为1550 W, 等离子体气为氦气, 流速为14 L/min, 载气为氦气, 流速为4.9 mL/min, 蠕动泵转速为40 r/min, 采用动能歧视(KED)测定模式, 全定量分析获取模式。结果 砷、镉、汞、铅、钴、镍、钒质量浓度分别在0~30 ng/mL、0~12 ng/mL、0~60 ng/mL、0~12 ng/mL、0~120 ng/mL、0~120 ng/mL、0~120 ng/mL范围内与仪器响应值线性关系良好($r > 0.990$), 检测限为0.002~0.052 ng/mL, 定量限为0.006~0.159 ng/mL; 精密密度、重复性试验结果的RSD均小于10.0%; 平均加样回收率为97.46%~102.11%, RSD为0.49%~4.11% ($n=9$)。3批成品中仅检出镉、汞、铅、镍, 含量分别为0.05 mg/kg、0.24~0.35 mg/kg、0.04~0.16 mg/kg、0.41~0.49 mg/kg; 3批原料药中仅检出汞、镍、钒, 含量分别为0.09~0.64 mg/kg、0.28~0.38 mg/kg、0.01~0.03 mg/kg。结论 所建立的方法简单、快速, 灵敏度、准确度高, 精密密度好, 可用于富马酸伏诺拉生片及其原料药中元素杂质含量控制。

关键词: 电感耦合等离子体质谱法; 富马酸伏诺拉生片; 原料药; 元素杂质; 含量测定

Determination of Seven Elemental Impurities in Vonoprazan Fumarate Tablets and Its Raw Materials by Inductively Coupled Plasma - Mass Spectrometry

GONG Cuiyun, ZHU Jing, WANG Linglan, LIU Xiu, PENG Guoqing
(Zhuzhou Qianjin Pharmaceutical Co., Ltd., Zhuzhou, Hunan, China 412000)

Abstract: Objective To establish an inductively coupled plasma - mass spectrometry (ICP - MS) method for the determination of seven elemental impurities in Vonoprazan Fumarate Tablets and its raw materials. **Methods** The plasma power was 1 550 W, the

* 基金项目: 湖南省自然科学基金[2022JJ80049]。

第一作者: 龚翠云, 女, 大学本科, 研究方向为药物分析, (电子信箱)714785190@qq.com。

[△]通信作者: 朱婧, 女, 大学本科, 副主任药师, 研究方向为药物分析, (电子信箱)750572673@qq.com。

析, 建议在运输和储存过程中, 严格控制温湿度, 减少挥发性成分损失, 保证药品质量。

3.4 方法评价

本研究中所建立的方法操作简便, 专属性强, 重复性好, 可为喉康散的质量控制提供参考。

参考文献

- [1] WS₃-B-1040-91, 中华人民共和国卫生部药品标准·中药成方制剂(第5册)[S].
- [2] 郭兆广, 曾宪鏊. 中药成药——喉康散[J]. 广州医药, 1987, 18(6): 43-44.
- [3] 李玲, 王婷婷, 陈乃江. 高效液相色谱法同时测定喉康散中靛蓝和靛玉红含量[J]. 中国药业, 2021, 30(23): 65-67.
- [4] 金锐, 杨寿圆, 王彬. 含冰片中成药临床合理使用与药学评价的专家共识(2022, 北京)[J]. 中国医院药学杂志, 2023, 43(8): 827-834.
- [5] 袁莉蓉, 黄冰林, 谢强. 盱江谢氏“喉药”配伍及制备特色[J]. 时珍国医国药, 2019, 30(4): 940-941.
- [6] 姜静静. 牛黄清火丸质量标准提升研究[D]. 南京: 南京中医药大学, 2022.
- [7] 江勋. 海珠喘息定片质量标准研究[J]. 中国药业, 2022,

31(1): 89-91.

- [8] 张暇蔚, 齐聪, 胡雪晴, 等. 青黛在银屑病治疗中的应用及研究进展[J]. 河北中医, 2023, 45(7): 1208-1213.
- [9] 肖敏, 曾文雪, 乐志艳, 等. 穿心莲叶质量标准的研究[J]. 江西中医药大学学报, 2017, 29(6): 75-78.
- [10] 陆柳君, 林敏, 周宇轩, 等. 天花粉化学成分及其对谷氨酸损伤PC12细胞的保护作用[J]. 中成药, 2021, 43(7): 1775-1781.
- [11] 肖先, 李春燕, 刘晓龙, 等. 甘草的主要化学成分及药理作用研究进展[J]. 新乡医学院学报, 2023, 40(3): 280-285.
- [12] WS₃-B-1173-92, 中华人民共和国卫生部药品标准·中药成方制剂(第6册)[S].
- [13] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典中药粉末显微鉴别彩色图集[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 284.
- [14] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 8, 88, 152.
- [15] 广东省食品药品监督管理局. 广东省中药材标准(第2册)[M]. 广州: 广东科技出版社, 2011: 262-268.
- [16] 杜憬生, 莫结丽, 黄志海. 气相色谱法测定喉康散中龙脑与薄荷脑的含量[J]. 中药新药与临床药理, 2012, 23(4): 477-479.

(收稿日期: 2023-08-03; 修回日期: 2023-12-19)

plasma gas was argon with a flow rate of 14 L / min, the carrier gas was argon with a flow rate of 4.9 mL / min, the rotation rate of peristaltic pump was 40 r / min, the kinetic energy discrimination (KED) determination mode and full - quantitative analysis acquisition mode were adopted. **Results** The linear ranges of arsenic, cadmium, mercury, lead, cobalt, nickel, and vanadium were 0 - 30 ng / mL, 0 - 12 ng / mL, 0 - 60 ng / mL, 0 - 12 ng / mL, 0 - 120 ng / mL, 0 - 120 ng / mL, 0 - 120 ng / mL ($r > 0.990$). The limit of detection (LOD) was in the range of 0.002 - 0.052 ng / mL, the limit of quantification (LOQ) was in the range of 0.006 - 0.159 ng / mL. The RSDs of precision and repeatability tests were lower than 10.0%. The average recovery rate of the above elements was in the range of 97.46% - 102.11% with the RSD of 0.49% - 4.11% ($n = 9$). Only cadmium, mercury, lead, and nickel were detected in three batches of finished products, with contents of 0.05 mg / kg, 0.24 - 0.35 mg / kg, 0.04 - 0.16 mg / kg, and 0.41 - 0.49 mg / kg, respectively. Only mercury, nickel, and vanadium were detected in three batches of raw materials, with contents of 0.09 - 0.64 mg / kg, 0.28 - 0.38 mg / kg, and 0.01 - 0.03 mg / kg, respectively. **Conclusion** The established method is simple, fast, sensitive, accurate, and precise, which can be used for content control of the elemental impurities in Vonoprazan Fumarate Tablets and raw materials.

Key words: inductively coupled plasma - mass spectrometry; Vonoprazan Fumarate Tablets; raw material; elemental impurity; content determination

富马酸伏诺拉生片为钾离子竞争性酸阻滞剂,是一种口服固体制剂,用于胃溃疡、十二指肠溃疡、反流性食管炎的治疗,还能预防服用低剂量阿司匹林期间或非甾体抗炎药期间胃溃疡或十二指肠溃疡的复发,以及辅助根除幽门螺杆菌^[1-2]。国际人用药品注册技术协调会(ICH)Q3D元素杂质指导原则(以下简称《原则》)根据元素杂质的毒性大小及制剂中引入的可能性高低,将元素杂质分为3类(其中第2类又分为2A类和2B类),第1类及2A类在所有给药途径中均须进行研究,2B类及第3类如在生产过程中未有意添加,口服给药时可不进行研究。富马酸伏诺拉生片处方组成含原料药(富马酸伏诺拉生),7种辅料(甘露醇、微晶纤维素、羟丙基纤维素、富马酸、交联羧甲基纤维素、硬脂酸镁、胃溶型薄膜包衣预混剂),各原辅料制备工艺中均未使用元素杂质。本研究中根据《原则》和文献^[3-5],仅对其中引入风险较大的第1类[砷(As)、镉(Cd)、汞(Hg)、铅(Pb)]、2A类[钴(Co)、镍(Ni)、钒(V)]元素进行分析。电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)法可同时检测多种痕量元素杂质,有检测速度快、干扰少、灵敏度高等优点^[6-9],已广泛用于食品检测、地质研究、环境监测、医药检测等多个领域^[10-16]。常用的样品前处理方法^[17-21]有干法消解法、直接溶解法、湿法消解法、微波消解法等,其中直接溶解法有前处理简便、效率高,安全风险小等优势。基于此,本研究中采用直接溶解法进行样品前处理,并使用ICP-MS法测定富马酸伏诺拉生片及其原料药中7种元素杂质含量。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

iCAPRQ型ICP-MS仪(美国Thermo Fisher Scientific公司);ME204型电子分析天平(梅特勒-托利多国际贸易有限公司,精度为0.1 mg)。

1.2 试剂

富马酸伏诺拉生原料药、富马酸伏诺拉生片(A公

司,各3批,批号分别为YC045190401, YC045190402, YC045190403及20220801, 20220802, 20220901);硝酸为优级纯,其余试剂均为分析纯,水为超纯水。10种元素单元标准溶液信息见表1,其中Bi为铋,In为铟,Au为金。

表1 单元标准溶液信息

Tab. 1 Information of single - element standard solution

元素	批号	来源	质量浓度(μg/mL)
As	211040-1	国家有色金属及电子材料分析测试中心	1000
Cd	B21120277	坛墨质检标准物质中心	1000
Hg	B21110212	坛墨质检标准物质中心	1000
Pb	B22030148	坛墨质检标准物质中心	1000
Co	B21080156	坛墨质检标准物质中心	1000
Ni	B21110357	坛墨质检标准物质中心	1000
V	B22010216	坛墨质检标准物质中心	1000
Bi	B21080275	坛墨质检标准物质中心	1000
In	222026	国家有色金属及电子材料分析测试中心	1000
Au	21C027-1	国家有色金属及电子材料分析测试中心	1000

2 方法与结果

2.1 质谱条件

等离子功率:1 550 W;等离子体气:氩气,流速为14 L / min;载气:氩气,流速为4.9 mL / min;蠕动泵转速:40 r / min;测定模式:动能歧视(KED)测定模式,获取模式为全定量分析;监测同位素:⁵¹V, ⁵⁹Co, ⁶⁰Ni, ⁷⁵As, ¹¹¹Cd, ²⁰²Hg, ²⁰⁸Pb,以¹¹⁵In和²⁰⁹Bi为内标。

2.2 限度制订

根据《原则》计算限度,限度 = 每日允许暴露值(PDE) / 制剂最大日剂量(富马酸伏诺拉生片最大日剂量为440 mg,相当于2片)。结果见表2(为严格控制 and 方便计算,收紧部分元素杂质研究限度)。

2.3 溶液制备

混合标准元素贮备液:精密量取Pb, Hg, As, Cd, Co, V单元标准溶液0.2, 1, 0.5, 0.2, 2, 2 mL;置同一100 mL

表2 7种待测元素的拟订限度

Tab. 2 Proposed limits for seven elements to be tested

待测元素	口服PDE (μg/d)	限度 (mg/kg)	拟订限度 (mg/kg)	待测元素	口服PDE (μg/d)	限度 (mg/kg)	拟订限度 (mg/kg)
As	15	34	30	Co	50	114	100
Cd	5	11	10	Ni	200	455	100
Hg	30	68	50	V	100	227	100
Pb	5	11	10				

容量瓶中,用1%硝酸溶液定容,摇匀;精密量取5 mL,置100 mL容量瓶中,用1%硝酸溶液定容,摇匀,即得。

Ni标准元素贮备液:精密量取Ni单元素标准溶液1 mL,置50 mL容量瓶中,用1%硝酸溶液定容,摇匀;精密量取5 mL,置100 mL容量瓶中,用1%硝酸溶液定容,摇匀,即得。

混合元素系列标准溶液:分别精密量取混合标准元素贮备液及Ni标准元素贮备液各适量,置不同50 mL容量瓶中,用1%硝酸溶液定容,摇匀,得质量浓度分别为相应限度的0, 20%, 50%, 80%, 100%, 120%的溶液。

Au标准元素贮备液:精密量取Au单元素标准溶液1 mL,置100 mL容量瓶中,用1%硝酸溶液定容,摇匀,即得。作为测定Hg元素含量时的稳定剂。

内标溶液:精密量取Bi和In单元素标准溶液0.5, 1 mL,置100 mL容量瓶中,用1%硝酸溶液定容,摇匀,作为内标贮备液;精密量取5 mL,置50 mL容量瓶中,用1%硝酸溶液定容,摇匀,再精密量取1 mL,置100 mL容量瓶中,用1%硝酸溶液定容,摇匀,即得。

供试品溶液:取样品约50 mg,精密称定,置50 mL容量瓶中,加1%硝酸溶液适量,40 °C水浴振摇30 min使溶解,用1%硝酸溶液定容,即得。

空白溶液:以1%硝酸溶液为空白溶液。

2.4 方法学考察

线性关系考察:取2.3项下混合元素系列标准溶液适量,按2.1项下质谱条件进样测定,记录仪器响应值。以各待测元素的质量浓度(X , ng/mL)为横坐标、仪器

响应值(Y)为纵坐标进行线性回归,结果见表3。

定量限与检测限考察:取空白溶液适量,按2.1项下质谱条件连续进样测定11次,记录仪器响应值,并计算其标准偏差,以10倍、3倍标准偏差对应的各待测元素质量浓度作为定量限与检测限。结果7种待测元素的定量限和检测限均满足测试要求,详见表3。

精密度试验:取2.3项下混合元素系列标准溶液(相对限度体积分数为100%)适量,按2.1项下质谱条件连续进样测定6次,记录仪器响应值。结果的RSD为0.50%~1.63%,均小于2.0%($n=6$),表明仪器精密度良好。详见表3。

重复性试验:按2.3项下供试品溶液制备方法制备100%加样供试品溶液,平行6份,按2.1项下质谱条件进样测定,记录仪器响应值。7种待测元素结果的RSD为1.32%~6.23%,均小于10.0%,表明方法重复性良好。详见表3。

加样回收试验:取样品约50 mg,精密称定,置50 mL容量瓶中,加空白溶液适量,40 °C水浴振摇30 min使溶解,平行9份;分别精密量取1, 2.5, 5 mL,取2.3项下混合标准元素贮备液或Ni标准元素贮备液,置同一容量瓶中,用1%硝酸溶液定容,制备相对体积分数为20%, 50%, 100%的加样供试品溶液,各体积分数平行3份。同时取2.3项下内标溶液、混合元素系列标准溶液、供试品溶液各适量,按2.1项下质谱条件进样测定。结果7种待测元素的平均回收率为97.46%~102.11%,RSD为0.49%~4.12%($n=9$)。详见表3。

2.5 样品含量测定

取各批样品适量,按2.3项下方法制备供试品溶液,按2.1项下质谱条件进样测定,平行3次。结果7种待测元素含量均小于拟订限度的30%。详见表4。

3 讨论

3.1 供试品溶液制备方法

采用1%硝酸溶液40 °C水浴振摇的前处理方法,与湿法消解、微波消解等消解方法相比,具有操作安全、

表3 线性关系、检测限、定量限考察结果

Tab. 3 Results of the linear relation test, LOD and LOQ investigation

元素	回归方程	r	线性范围 (ng/mL)	定量限 (ng/mL)	检测限 (ng/mL)	精密度的 RSD(%)	重复性的 RSD(%)	加样回收试验(%)	
								\bar{X}	RSD
As	$Y_1 = 1184.0333 X_1 + 400.9781$	0.9939	0~30	0.159	0.052	1.08	1.52	100.28	1.87
Cd	$Y_2 = 5471.3592 X_2 + 76.6862$	0.9999	0~12	0.018	0.006	1.30	1.72	101.63	0.77
Hg	$Y_3 = 92230.0603 X_3 + 26634.3627$	0.9998	0~60	0.023	0.008	1.63	1.32	98.85	2.67
Pb	$Y_4 = 13312.2608 X_4 + 185.0437$	0.9998	0~12	0.019	0.006	0.50	2.17	100.33	4.11
Co	$Y_5 = 7650.2585 X_5 + 51.9936$	0.9999	0~120	0.006	0.002	0.63	1.56	97.46	0.49
Ni	$Y_6 = 7186.1653 X_6 + 1437.0887$	0.9997	0~120	0.071	0.021	0.94	6.23	98.63	1.74
V	$Y_7 = 25058.6719 X_7 + 412.8415$	0.9999	0~120	0.013	0.004	0.63	1.67	102.11	0.70

表4 样品含量测定结果(mg/kg, n=3)

Tab. 4 Results of content determination of seven elements in samples (mg/kg, n=3)

批号	As	Cd	Hg	Pb	Co	Ni	V
YC045190401	-	-	0.64	-	-	0.28	0.02
YC045190402	-	-	0.31	-	-	0.38	0.01
YC045190403	-	-	0.09	-	-	0.28	0.03
20220801	-	0.05	0.35	0.16	-	0.41	-
20220802	-	0.05	0.28	0.09	-	0.41	-
20220901	-	0.05	0.24	0.04	-	0.49	-

注: - 表示小于定量限。

Note: - indicates that the element content is below the limit of quantification.

快速、空白干扰小、准确度高、试剂消耗少、污染小等优点;在样品处理方法的优化过程中发现,富马酸伏诺拉生及部分辅料在1%硝酸溶液中的溶解性欠佳,可能会导致部分元素提取不充分;采用40℃水浴振摇30 min可解决该问题。

3.2 系统考察

选择在线引入混合内标溶液及采用碰撞反应池技术以降低干扰,减少分析误差及消除干扰。为提高检验结果的准确度,采用内标校正的标准曲线法进行计算,其中²⁰²Hg和²⁰⁸Pb以²⁰⁹Bi为内标,¹¹¹Cd,⁵⁹Co,⁶⁰Ni,⁷⁵As,⁵¹V以¹¹⁵In为内标。待仪器点火稳定30 min后,按质量浓度从低到高的顺序依次注入混合元素系列标准溶液,记录仪器响应值,绘制标准曲线,结果待测元素质量浓度与仪器响应值的 r 均大于0.990,即可在标准曲线下测定空白溶液、供试品溶液,计算供试品溶液中各元素的含量。

3.3 样品测定结果分析

6批样品中各元素杂质检出水平均在其限度的30%以下,结合生产工艺中并未有意添加或使用此类元素判定目标元素杂质风险低。

3.4 方法评价

本研究中建立了测定富马酸伏诺拉生中7种元素杂质的ICP-MS法,方法学考察结果表明,线性范围、检测限、定量限、准确度和精密度均符合要求,且该方法前处理简单,灵敏度高,结果准确可靠,适用于富马酸伏诺拉生片及其原料药中元素杂质的含量控制。

参考文献

[1] 马原,孙倩,王爽,等.富马酸伏诺拉生片治疗复发性反流性食管炎患者的临床研究[J].中国临床药理学杂志,2022,38(15):1735-1738.
[2] 陈珑,焦红梅.基于富马酸伏诺拉生的幽门螺杆菌根除治疗方案的现状[J].中国临床药理学杂志,2022,38(20):2506-2509.

[3] 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.
[4] 吴洁,黄青兰.化学原料药中元素杂质的风险评估[J].上海医药,2019,40(1):74-77.
[5] 徐昕怡,刘贞.欧美药典及ICH元素杂质指导原则增修订历程及对中国药典的启示[J].中国药事,2019,33(6):624-629.
[6] 曾涛,沈倩.电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS)应用进展及展望[J].广东化工杂志,2018,45(18):116-119.
[7] 冯先进,屈太原.电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS)最新应用进展[J].中国无机分析化学,2011,1(1):46-52.
[8] 邵丹丹,王中媛,张宏康,等.电感耦合等离子体质谱法联用技术应用研究进展[J].食品安全质量检测学报,2017,8(9):3403-3408.
[9] 朱俐,赵瑜,姚尚辰,等.药物中元素杂质检测技术研究最新进展[J].分析测试学报,2020,39(4):547-554.
[10] 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.
[11] 刘慧,王健,张璐,等.电感耦合等离子体-质谱法测定益肾壮骨丸中6种重金属含量[J].中国药业,2022,31(2):87-90.
[12] 罗雪芹,杨军,秦秀蓉.电感耦合等离子体质谱法测定川芎中多种微量元素[J].中国药业,2015,24(3):28-30.
[13] 张春华,陈亮,陈春桃,等.电感耦合等离子体质谱法测定阿莫西林原料药中的7种杂质元素[J].化学分析计量,2021,30(6):52-56.
[14] 宋敏,李蓓.电感耦合等离子体质谱法在食品中重金属检测中的应用[J].食品安全质量检测学报,2018,9(5):1045-1049.
[15] 孙雨彤,孙震,许雯雯,等.微波消解-ICP-MS法测定罗替戈汀原料药中元素杂质含量[J].中国药事,2021,35(3):289-299.
[16] 王建滨,黄荣华.在线ICP-MS检测地表水中19种元素[J].环境监测与预警,2018,10(2):23-25.
[17] 邹敏,段建坤,周毅,等.食品中重金属检测及样品前处理方法综述[J].现代食品,2019(6):167-171.
[18] 黎少豪,雷宁生,吴训.不同前处理方法对食品中总砷含量测定结果的影响[J].食品安全质量检测学报,2019,10(5):1305-1310.
[19] 张金奎,李辅碧,赛金旭.不同消解方法测定食品中的铅含量[J].医药前沿,2016,6(20):314-315.
[20] 潘钢,张勇,周磊,等.测定川芎中有害金属元素的三种样品前处理方法的比较试验[J].理化检验-化学分册,2010,46(4):404-410.
[21] 郭红丽, NORTH C, 张敏,等.不同消解方法对定量测定人参皂苷中5种重金属的对比研究[J].华西药学杂志,2015,30(4):511-514.

(收稿日期:2023-05-26;修回日期:2023-12-20)