

阿司匹林中的元素杂质；使用 Agilent 5110 ICP-OES 验证 USP <232>/<233> 和 ICH Q3D

应用简报

药物

作者

Lindsey Whitecotton、
Greg Gilleland、Elizabeth
Kulikov、Amir Liba
安捷伦科技（美国）有限公司

Samina Hussain
Exova, 美国



前言

药品中的元素杂质可能有害，制药企业必须对其进行控制。元素污染源包括原材料、生产过程以及包装和容器密封系统 (CCS)。

之前的美国药典 (USP) 方法 USP <231> (重金属限度检测) 虽广泛用于痕量金属检测，但并非定量方法，且无法提供有关污染物潜在毒性的充足信息。为解决 USP <231> 的局限性，现开发了一种对药品中无机杂质进行定量测定的新方法。方法中建议使用现有分析仪器。该方法与国际协调会议 (ICH, Q3D) 发布的人用药品技术要求指南保持一致 [1]。



Agilent Technologies

USP 通则章节 <232> (元素杂质 — 限值) [2] 和 <233> (元素杂质 — 流程) [3] 规定了测定药品及其成分中元素杂质的限值和流程。

USP<232> 元素杂质 — 限值

ICH Q3D 和 USP<232> 章节均规定了药品中元素杂质的目标分析物和每日允许暴露 (PDE) 限值, 制药公司必须遵守这些限量规定。

表 1 列出了根据不同给药途径规定的药品中元素杂质的每日允许暴露 (PDE) 限值, 同时列出了 USP/ICH 方法中规定的每种元素的潜在毒性等级。

表 1. 口服、注射和吸入制剂中元素杂质的每日允许暴露 (PDE) 限值

ICH/USP 类别	元素	口服 (µg/日)	注射 (µg/日)	吸入 (µg/日)
1 类	Cd — 镉	5	2	2
	Pb — 铅	5	5	5
	As — 砷 (无机)	15	15	2
	Hg — 汞 (无机)	30	3	1
2A 类	Co — 钴	50	5	3
	V — 钒	100	10	1
	Ni — 镍	200	20	5
2B 类	Tl — 铊	8	8	8
	Au — 金	100	100	1
	Pd — 钯	100	10	1
	Ir — 铱	100	10	1
	Os — 锇	100	10	1
	Rh — 铑	100	10	1
	Ru — 钌	100	10	1
	Se — 硒	150	80	130
	Ag — 银	150	10	7
	Pt — 铂	100	10	1
3 类	Li — 锂	550	250	25
	Sb — 锑	1200	90	20
	Ba — 钡	1400	700	300
	Mo — 钼	3000	1500	10
	Cu — 铜	3000	300	30
	Sn — 锡	6000	600	60
	Cr — 铬	11000	1100	3

USP<233> 元素杂质 — 流程

USP 通则章节 <233> 建议使用 ICP-OES 或 ICP-MS 分析药品及成分中的元素杂质。通则中规定了几种样品前处理方法。对于待分析的药品, 应当选择最合适的溶解流程。溶解选项有:

- 直接分析
- 在合适的水性溶剂 (如水或稀酸) 中稀释/溶解
- 在合适的有机溶剂中稀释/溶解
- 对于不可溶样品, 使用密闭容器微波酸消解

用于制药应用的安捷伦 ICP-OES

Agilent 5110 同步垂直双向观测 (SVDV) ICP-OES 是测量散装原料 (填充剂、粘合剂及其他赋形剂) 中元素杂质的理想之选, 并可用于口服制剂成品 [4]。这款仪器专为测量最具挑战性的样品而设计, 包括以下部件:

- 垂直炬管设计: 检测范围更宽, 只需极少的样品稀释甚至无需样品稀释便可对复杂基质样品进行测试, 总溶解固体量高达 25% 的样品也能轻松应对
- Vista Chip II 检测器: 具有宽波长覆盖范围的高速检测器, 能够在单次测量中测量 167–785 nm 的所有波长, 使用户能够选择无干扰的波长
- 快速分析。在不影响性能的前提下, 5110 同步垂直双向观测 (SVDV) ICP-OES 每 24 小时可测量最多 2500 个样品。5110 系统对于低产量及高产量实验室均适用
- 可选择不同的背景校正技术: 拟合背景校正 (FBC) 和快速自动曲线拟合技术 (FACT)。FBC 可简化方法开发并降低分析人员分析样品的复杂性。FACT 可校正光谱干扰和复杂的背景结构
- 简便易用。直观的 Agilent ICP Expert 软件中附带用于药物样品中元素杂质分析的预设方法 (版本 7.4 及更高版本)。该方法可满足 ICH-Q3D 和 USP<232>/<233> 的要求

本研究介绍了 USP <233>/ICH-Q3D 规定的分析流程和验证研究。其中包括使用 Agilent 5110 SVDV ICP-OES 对阿司匹林样品中 24 种目标元素的分析。

实验部分

仪器

采用具备智能光谱组合 (DSC) 功能的 Agilent 5110 SVDV ICP-OES 进行所有测量。DSC 能够在单次读数中在整个波长范围内同时测量来自等离子体的水平和垂直观测发射光。5110 ICP-OES 使用垂直取向的炬管以及在 27 MHz 下运行的固态射频 (RF) 系统提供等离子体, 具有分析复杂样品所需的稳定性和可靠性。为保持充分的用户灵活性, ICP-OES 可以在垂直双向观测 (VDV) 模式、专用垂直观测 (RV) 和专用水平观测 (AV) 模式下运行。

样品引入系统由 SeaSpray 雾化器、双通道旋流雾化室和 1.8 mm 内径中心管炬管组成。采用 Agilent SPS 4 自动进样器进行样品引入。仪器操作参数如表 2 所示。

表 2. Agilent 5110 SVDV ICP-OES 仪器和方法参数

参数	设置
读取时间 (s)	30
重复次数	3
样品提升延迟 (s)	30
稳定时间 (s)	15
冲洗时间 (s)	36
泵速 (rpm)	12
吸入和冲洗期间快泵 (rpm)	启用
RF 功率 (kW)	1.50
辅助气流速 (L/min)	1.00
等离子体流速 (L/min)	12.0
雾化器流速 (L/min)	0.7
观测模式	SVDV
样品泵管	白色/白色
废液泵管	蓝色/蓝色
内标泵管	橙色/绿色

标样和样品前处理

J 值

最终药品中元素杂质的最大含量, 用每日最大允许暴露量 (PDE) 来表示。该限值考虑到药物产品中存在的元素浓度以及推荐的药物每日最大剂量。

对于需要在分析前进行消解或用溶剂稀释的材料, 必须将 PDE 限值 (以 $\mu\text{g}/\text{日}$ 表示) 转化为制得试样中测得的浓度限值 (以 $\mu\text{g}/\text{L}$ 表示)。将 PDE 乘以稀释倍数, 可计算出这一浓度。对所用的稀释倍数进行优化, 使一种或多种分析物处于仪器的分析范围内。

制得样品中的目标浓度值称为“J 值”, 定义了该样品中分析物的最大允许浓度限值, 其中:

$$J = \frac{PDE}{\text{Total Dilution} \times \text{Max Daily Dose}}$$

J 值还可用于限定校准浓度和 QC 浓度。例如, 校准必须在 0.5 J 至 1.5 J 之间的浓度下进行。必须使用加入 80% J 值 (0.8 J) 的样品证实检测能力 (对于 USP <233> 所述的“限值”流程), 还必须在 50% 至 150% J 值 (即 0.5 J 和 1.5 J 之间) 的浓度下进行加标回收率测试。

标样前处理

使用市售 Agilent ICH Q3D/USP <233> 元素杂质试剂盒中的多元素标样, 配制含 0.5 J、1.0 J 和 1.5 J 各目标分析物的校准标样。该试剂盒包含五种有证标准物质 (CRM)。每种 CRM 中包含一组按 ICH/USP 类别、化学兼容性和相关规定浓度选择的元素 (目标元素) [5]。阿司匹林中每种分析物的 J 计算值 (根据 3000 mg/日的每日最大剂量) 列于表 4 中。

用 Millipore 18.2 M Ω 纯水稀释多元素 CRM 标样。将所有空白和标样与 10% HNO₃ 和 10% HCl 中的样品进行基质匹配。

样品前处理

准确称取 1.0 g 左右阿司匹林样品加入硼硅酸盐玻璃管中。使用 UltraWAVE 单反应室微波消解系统 (Milestone Inc., Shelton CT) 在 5 mL HNO₃ 和 1 mL HCl 中对样品

进行消解。加热条件如表 3 所示。在微波消解后，将 5 mL HCl 加入样品中，然后用 Nanopure 水将样品稀释至 50 mL 的最终体积。

表 3. 微波消解参数 (T1 和 T2 分别为程序化初始和最终反应容器温度)

步骤	时间 (min)	T1 (°C)	T2 (°C)	氮气压力 (bar)	功率 (W)
1	15	250	60	140	1500
2	15	250	60	140	1500

加标样品溶液

在消解之前，配制阿司匹林样品的三种加标溶液：

- 加标样品溶液 1：在阿司匹林样品中加入 1.0 J 标准溶液
- 加标样品溶液 2：在阿司匹林样品中加入 0.8 J 的浓度
- 加标样品溶液 3：在阿司匹林样品中加入 0.5 J 的浓度

结果与讨论

校准线性

所有 24 种被测元素均获得了线性校准结果。图 1 显示 1 类分析物 (As、Cd、Hg 和 Pb) 的校准曲线，这些元素需要在所有药品中得到控制。所有元素的波长和工作校准范围如表 4 所示。

表 4. 所用波长、背景校正方法、1 J 计算值以及 24 种目标元素中每种元素所用的工作校准范围。每种元素采用两个波长并非强制要求，但本研究中采用这种方式来辅助特异性测试

元素与波长 (nm)	背景校正	1 J 值 (µg/L)	校准范围 (ppm)
As 188.980	快速自动曲线拟合技术	100	0.0–0.15
As 193.696	拟合	100	0.0–0.15
Cd 214.439	拟合	33	0.0–0.05
Cd 226.502	拟合	33	0.0–0.05
Hg 184.887	拟合	200	0.0–0.30
Hg 194.164	拟合	200	0.0–0.30
Pb 220.353	拟合	33	0.0–0.05
Ag 328.068	快速自动曲线拟合技术	667	0.0–0.10
Ag 338.289	快速自动曲线拟合技术	667	0.0–0.10
Au 242.794	拟合	667	0.0–0.10
Au 267.594	拟合	667	0.0–0.10
Co 228.615	拟合	333	0.0–0.05

表续于下页...

元素与波长 (nm)	背景校正	1 J 值 (µg/L)	校准范围 (ppm)
Co 238.892	拟合	333	0.0–0.05
Ir 212.681	拟合	667	0.0–1.0
Ir 224.268	拟合	667	0.0–1.0
Ni 216.555	拟合	1333	0.0–2.0
Ni 231.604	拟合	1333	0.0–2.0
Os 225.585	拟合	667	0.0–1.0
Os 228.228	拟合	667	0.0–1.0
Pd 229.651	拟合	667	0.0–1.0
Pd 340.458	拟合	667	0.0–1.0
Pt 203.646	拟合	667	0.0–1.0
Pt 214.424	拟合	667	0.0–1.0
Rh 343.488	快速自动曲线拟合技术	667	0.0–1.0
Rh 369.236	快速自动曲线拟合技术	667	0.0–1.0
Ru 245.657	拟合	1000	0.0–1.5
Ru 267.876	拟合	1000	0.0–1.5
Se 196.026	拟合	1000	0.0–1.5
Se 203.985	快速自动曲线拟合技术	1000	0.0–1.5
Tl 190.794	拟合	53	0.0–0.8
V 292.401	拟合	667	0.0–1.0
V 309.310	拟合	667	0.0–1.0
Ba 455.403	拟合	9333	0.0–1.4
Ba 493.408	拟合	9333	0.0–1.4
Cr 205.560	拟合	73333	0.0–110
Cr 267.716	拟合	73333	0.0–110
Cu 324.754	拟合	20000	0.0–30
Cu 327.395	拟合	20000	0.0–30
Li 610.365	快速自动曲线拟合技术	3667	0.0–5.5
Li 670.783	拟合	3667	0.0–5.5
Mo 202.032	拟合	20000	0.0–30
Mo 204.598	拟合	20000	0.0–30
Sb 206.834	快速自动曲线拟合技术	8000	0.0–12
Sb 217.582	拟合	8000	0.0–12
Sn 189.925	拟合	40000	0.0–60
Sn 283.998	拟合	40000	0.0–60

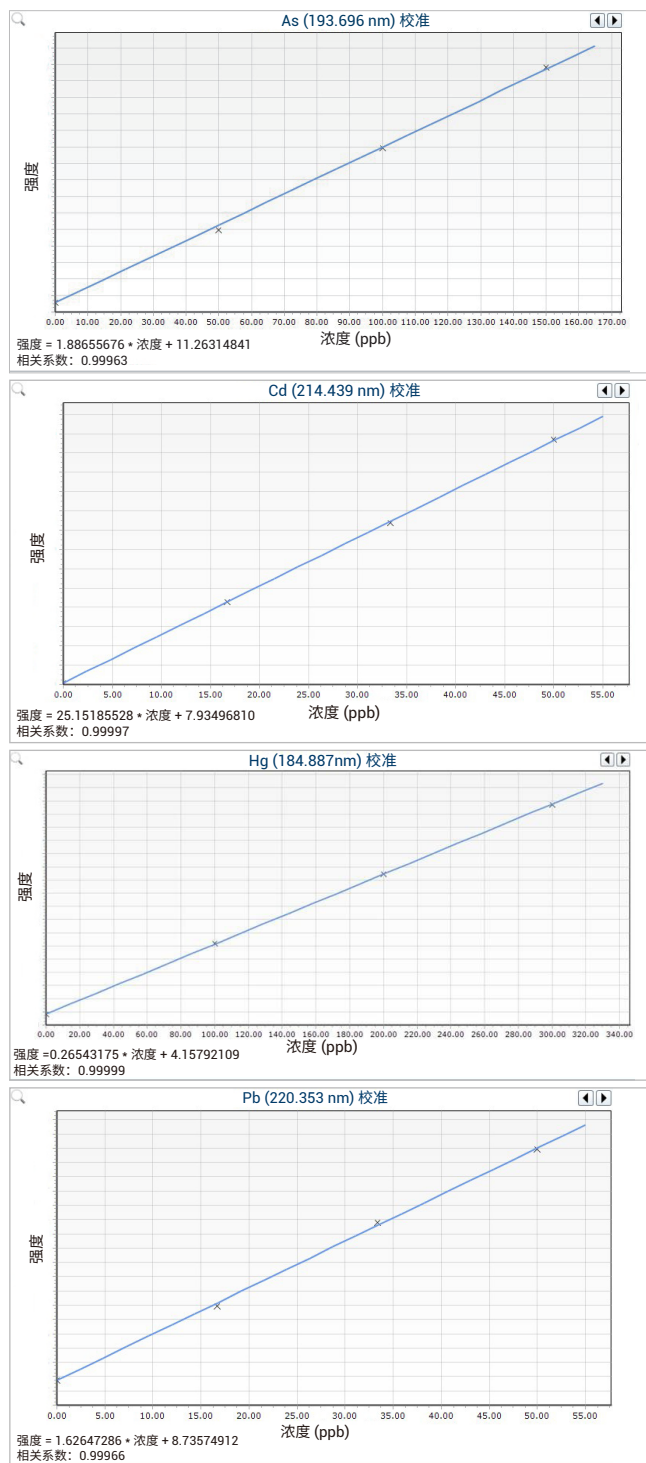


图 1. 四种 1 类元素的校准曲线: As 193.696 nm、Cd 214.439 nm、Hg 184.887 nm 和 Pb 220.353 nm

验证流程

USP <233> 列出了用于验证元素杂质浓度测定的分析流程的两种选项：限值流程和定量流程。成品制药企业通常使用限值流程，而原料药 (API) 和赋形剂生产商通常使用定量流程。本研究展示了两种选项，但请注意，只需采用其中一种。

定量流程

定量流程包括：准确度、精密度（重现性、耐用性）和特异性。

准确度

准确度测试包括对样品中三种加标浓度的测量：每种目标元素的 0.5 J、1.0 J 和 1.5 J。对于阿司匹林样品，将每种加标浓度重复配制三次，共测量九次。表 5 列出的测量结果表明，就每种浓度下三个平行制剂的平均值而言，所有目标元素均处于可接受标准内。

表 5. 以三个不同浓度 (0.5 J、1.0 J 和 1.5 J) 加标的阿司匹林三个单独测量读数的准确度测试结果。三个加标限值的平均值应处于 70%–150% 的范围内

元素与波长 (nm)	阿司匹林 + 加标浓度 0.5 J 的 3 次读数	阿司匹林 + 加标浓度 1.0 J 的 3 次读数	阿司匹林 + 加标浓度 1.5 J 的 3 次读数	总平均回收率 (%) (n = 9)
As 193.696	92%	96%	99%	96%
Cd 214.439	98%	99%	98%	98%
Hg 184.887	93%	91%	94%	93%
Pb 220.353	108%	104%	108%	106%
Co 238.892	95%	94%	94%	94%
Ni 231.604	94%	95%	94%	94%
V 292.401	88%	92%	90%	90%
Ag 328.068	94%	94%	93%	94%
Au 242.794	94%	96%	96%	95%
Ir 212.681	92%	93%	93%	93%
Os 225.585	94%	99%	98%	97%
Pd 340.458	88%	92%	93%	91%
Pt 214.424	93%	97%	96%	95%
Rh 343.488	90%	94%	95%	93%
Ru 245.657	92%	94%	94%	93%
Se 196.026	102%	98%	99%	100%
Tl 190.794	80%	86%	88%	85%
Ba 455.403	95%	95%	93%	94%
Cr 205.560	99%	96%	91%	95%
Cu 327.395	92%	93%	93%	93%
Li 670.783	93%	99%	101%	98%
Mo 202.032	92%	93%	91%	92%
Sb 217.582	92%	94%	94%	93%
Sn 189.925	97%	96%	93%	95%

精密度

精密度测试包括评价流程的重现性和耐用性。通过分析六个单独的阿司匹林样品（加标浓度 1 J），对流程的重现性进行评价。通过在两天内分析六个单独的阿司匹林样品（加标浓度 1 J），对耐用性进行评价。对于每种目标元素，重现性的可接受限值 < 20% RSD，耐用性的可接受限值 < 25% RSD。如表 6 所示，所有目标元素均满足可接受标准。

表 6. 在两天内分别测量的加标浓度为 1.0 J 的 6 个单独样品的重现性和耐用性结果

元素与波长 (nm)	重现性 第 1 天 1 天内获得的结果 (n = 6)	重现性 第 2 天 2 天内获得的结果 (n = 12)
As 193.696	1.00%	1.90%
Cd 214.439	1.90%	1.60%
Hg 184.887	2.60%	2.30%
Pb 220.353	2.30%	2.60%
Co 238.892	1.40%	1.20%
Ni 231.604	1.10%	1.10%
V 292.401	1.50%	1.20%
Ag 328.068	1.60%	1.60%
Au 242.794	1.20%	1.10%
Ir 212.681	0.90%	0.80%
Os 225.585	4.80%	4.60%
Pd 340.458	1.10%	1.00%
Pt 214.424	1.00%	1.30%
Rh 343.488	1.10%	0.90%
Ru 245.657	1.00%	0.90%
Se 196.026	1.30%	1.20%
Tl 190.794	2.50%	2.10%
Ba 455.403	1.00%	1.00%
Cr 205.560	0.90%	0.80%
Cu 327.395	1.40%	1.20%
Li 670.783	1.40%	1.50%
Mo 202.032	0.70%	0.60%
Sb 217.582	0.70%	0.60%
Sn 189.925	1.20%	0.90%

特异性

该流程必须在样品中可能存在其他组分的情况下测定每种目标元素。这些组分包括其他目标元素和基质组分。（请参见“法定流程的验证”<1225>）。对于通过特异性

评价的流程，必须证实存在的其他组分不影响每种目标元素的回收率。准确度结果如表 5 所示。

用于评价特异性的另一种可选方法是，在多个波长下测量每种元素的浓度。如果每种元素在两个波长下计算得到的浓度相同，则表明绝对不存在干扰。表 7 包含在两个波长下测得的阿司匹林样品中目标元素的浓度。

表 7. 特异性测试结果显示，每种元素在两个波长下得到了相同的浓度结果（处于允许容差内）

元素与波长 (nm)	阿司匹林的 1.0 J 值 (ppb) (n-3)	元素与波长 (nm)	阿司匹林的 1.0 J 值 (ppb) (n-3)
As 188.980	99	Rh 343.488	631
As 193.696	99	Rh 369.236	627
Cd 214.439	33	Ru 245.657	946
Cd 226.502	33	Ru 267.876	929
Hg 184.887	184	Se 196.026	988
Hg 194.164	189	Se 203.985	893
Pb 220.353	35	Tl 190.794	45.8
Ag 328.068	625	V 292.401	613
Ag 338.289	624	V 309.310	521
Au 242.794	641	Ba 455.403	8875
Au 267.594	628	Ba 493.408	8922
Co 228.615	316	Cr 205.560	70173
Co 238.892	320	Cr 267.716	69309
Ir 212.681	625	Cu 324.754	18850
Ir 224.268	634	Cu 327.395	18717
Ni 216.555	1256	Li 610.365	3391
Ni 231.604	1267	Li 670.783	3639
Os 225.585	647	Mo 202.032	18574
Os 228.228	652	Mo 204.598	18534
Pd 229.651	628	Sb 206.834	7412
Pd 340.458	618	Sb 217.582	7512
Pt 203.646	630	Sn 189.925	38496
Pt 214.424	647	Sn 283.998	37574

限值流程

限值流程的验证参数包括：检测能力（非仪器流程和仪器流程）、精密度（重现性）和特异性。精密度和特异性如上文“定量流程”部分所述。

检测能力

检测能力包括两部分：仪器流程和非仪器流程。仪器检测能力流程包括比较三个单独样品（加标浓度 1.0 J）的平均信号强度。加标样品的回收率需处于重复测量 1.0 J 标准溶液获得的平均值的 $\pm 15\%$ 以内。阿司匹林样品的结果如表 8 所示。所有元素均处于可接受标准内。

非仪器检测能力涉及对加标浓度 1.0 J 样品的信号强度或浓度值与加标浓度 0.8 J 样品的测定值进行比较。如果 0.8 J 加标样品的平均信号强度或浓度值小于 1.0 J 加标样品的结果，则测试合格。非仪器测试的结果也列于表 8 中。

表 8. 加标浓度为 1.0 J 的样品与 1.0 J 标样的检测能力测试结果对比（结果应处于 15% 以内）。第 5 列显示 0.8 J 加标样品的平均浓度，该浓度必须小于 1.0 J 加标样品的结果（第 3 列）才可视为合格

元素与波长 (nm)	1.0 J 标样 (ppb) (n = 3)	1.0 J 加标样品 (ppb) (n = 3)	差异 (%)	阿司匹林的 0.8 J 值 (ppm) (n-3)	合格/不合格
Ag 328.068	666.67	625	6.20%	504	合格
As 193.696	100	96	1.40%	74	合格
Au 242.794	666.67	642	3.80%	515	合格
Ba 455.403	9333.33	8892	4.90%	7117	合格
Cd 214.439	33.33	32	0.30%	26	合格
Co 238.892	333.33	319	4.00%	257	合格
Cr 205.560	73333.33	70162	4.30%	57642	合格
Cu 327.395	20000	18714	6.40%	14888	合格
Hg 184.887	200	183	7.80%	142	合格
Ir 212.681	666.67	624	6.20%	502	合格
Li 670.783	3666.67	3638	0.80%	2867	合格
Mo 202.032	20000	18570	7.10%	14811	合格
Ni 231.604	1333.33	1271	5.00%	1026	合格
Os 225.585	666.67	651	2.90%	501	合格
Pb 220.353	33.33	34	4.20%	26	合格

表续于下页...

元素与波长 (nm)	1.0 J 标样 (ppb) (n = 3)	1.0 J 加标样品 (ppb) (n = 3)	差异 (%)	阿司匹林的 0.8 J 值 (ppm) (n-3)	合格/不合格
Pd 340.458	666.67	617	7.30%	489	合格
Pt 214.424	666.67	643	3.00%	512	合格
Rh 343.488	666.67	631	5.40%	498	合格
Ru 245.657	1000	944	5.40%	757	合格
Sb 217.582	8000	7512	6.10%	6039	合格
Se 196.026	1000	984	1.20%	802	合格
Sn 189.925	40000	38473	3.80%	31036	合格
Tl 190.794	53.33	45	14.10%	36	合格
V 292.401	666.67	613	8.10%	485	合格

结论

Agilent 5110 ICP-OES 可轻松满足 ICH Q3D 和 USP <232> 和 <233> 药品中元素杂质测定的要求。

此次实验完成了阿司匹林样品的药物样品中元素杂质分析的验证研究。

事实证明，Agilent 5110 ICP-OES 是口服制剂中元素杂质测试的理想仪器解决方案。

参考文献

1. ICH Guideline Q3D on Elemental Impurities, EMA/CHMP/ICH/353369/2013, July 2016
2. USP Chapter <232> Elemental Impurities- Limits, Pharmacopeial Forum, 42(2), Mar-April 2016
3. USP Chapter <233> Elemental Impurities- Procedures, USP 38-NF 33, Second Supplement
4. USP <232>/<233> 和 ICH Q3D 元素杂质分析：安捷伦 ICP-OES 解决方案，安捷伦出版物 5991-8150ZHCN，2017 年 5 月
5. 使用安捷伦有证标准物质套装简化药物中元素杂质的测试，安捷伦出版物 5991-8177ZHCN，2017 年 5 月

查找当地的安捷伦客户中心:

www.agilent.com/chem/contactus-cn

免费专线:

800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)

联系我们:

LSCA-China_800@agilent.com

在线询价:

www.agilent.com/chem/erfq-cn

www.agilent.com

安捷伦对本资料可能存在的错误或由于提供、展示或使用本资料所造成的间接损失不承担任何责任。

本资料中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2017

2017年10月18日，中国出版

出版号：5991-8337ZHCN