

利用 **ICP** 发射光谱分析法对药品原药的残留

金属催化剂进行分析

谷口 理 河野慎一 山口忠行 永田 淳 西根 勤

利用 ICP 发射光谱分析法对 药品原药的残留金属催化剂进行分析

谷口 理 河野慎一 山口忠行 永田 淳 西根 勤
分析计测事业部 应用技术部 应用开发中心

概 要

药品原药合成时会使用 Pd 等金属催化剂，这类金属催化剂由于并非药效成分，最后都会作为无机杂质从成品药中被去除。欧洲医药产品评估机构 EMEA 已颁布了关于残留金属催化剂限量的指南。ICP 发射光谱分析法通过简洁便利的前处理及对多元素同时分析，可有效地对残留金属进行评估。本次使用 ICP 发射光谱仪（岛津全谱型 ICP 发射光谱仪 ICPE-9000）对药品原药化合物进行分析，分析结果显示其灵敏度、精确度均符合 EMEA 的指南要求，可全面深入评估残留金属催化剂。经实验确认，使用有机溶剂可使医药催化剂的前处理工作变得简便、迅速。

1. 前言

1.1 药品原药中残留金属催化剂的管理动向

药品原药的合成过程中，往往会使用金属催化剂。但如有残留的情况下，则按照《关于新药品原药中残留杂质的指南》（日本医食审发第 1216001 号，2002 年 12 月 16 日），将其归类为无机杂质，需要被去除。根据该指南，采用日本制药标准收录的试验方法或适宜的方法对残留金属催化剂进行分析，在开发阶段进行评估。在海外，欧洲医药产品评估机构(European Medicines Agency: EMEA)于 2008 年 2 月 21 日颁布了关于限制药品生产工序中金属催化剂及金属试剂限量的指南，设定了 14 种金属的容许限值。另外，美国药典(United States Pharmacopeia: USP)也在其刊物 Pharmacopeial Forum34(5)(2008 年 9-10 月)³中，提出了 31 种金属的容许限值及其试验方法。所有这些，说明大家对药品中的金属杂质的日益关注。在金属元素的分析中，经常采用原子吸光光度法、ICP 发射光谱法和 ICP-MS 质谱法，而在进行多元素分析时，从分析的迅速简便的角度而言，ICP 发射光谱法最为有效。本文中，依据 EMEA 指南，使用 ICP 方法分析了医药中残存的 14 种金属元素。

2. ICP 发射光谱分析法



（岛津全谱直读型 ICPE-9000）

2.1. ICP 的原理

所谓 ICP, 是指电感耦合高频等离子体(Inductively Coupled Plasma)。其原理图参见图 1。

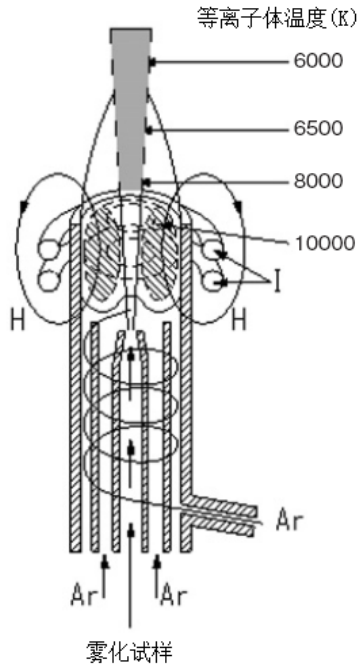


图 1 等离子体原理图

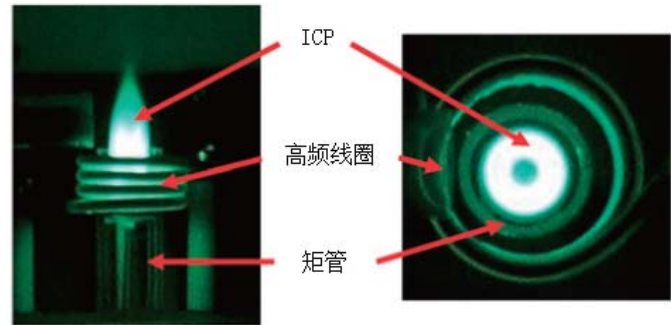


图 2 ICP 外观
(左: 正侧面照片 右: 自上而拍照片)

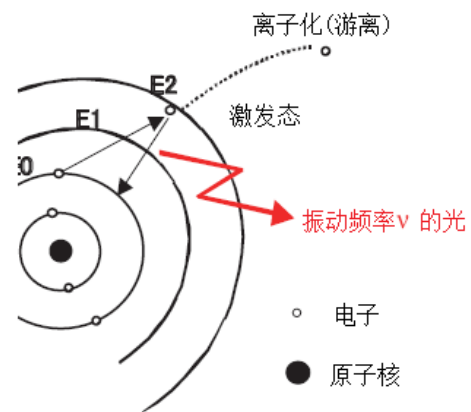


图 3 发射光谱的原理

被称为等离子体炬的三重同心炬管(通常为石英制成)的外侧装有高频线圈, 当 27.12MHz(或 40.68 MHz)的高频电流(I)通过该线圈时, 等离子体炬内产生磁场(H), 通过电磁感应产生电场。炬管中通有氩气, 同时高压放电使氩气产生电离, 生成等离子(在这种情况下为氩气等离子)。等离子也被称为电离气体, 其阳离子与电子数量相等, 保持着电荷的均衡状态。ICP 装置所用等离子为 27.12MHz(或 40.68 MHz)的高频电流。样品导入环形结构的中心部位, 温度较低, 而等离子中心部位仍处于高达 6000-8000K 的高温状态。

图 2 所示为 ICP 的外观。样品随载气雾化进入中心区域, 所含元素被激发, 在返回基态过程中, 能量差以光的形式释放出来。该光由于具有元素固有的波长(原子光谱), 可通过检测其光谱进行元素分析。图 3 所示为发光分析的原理图。因此 ICP 被称为电感耦合等离子体原子(光学)发射光谱仪, ICP-AES 或 ICP-OES。

2.2 ICP 发射光谱仪

ICP 发射光谱仪(ICP-AES)中, 由于发光光谱谱线复杂, 因而要用分光器将各个元素的谱线进行分光, 再用检测器进行检测。用于 ICP 法的分光器由于需要分开多条谱线, 因此与吸光光度法及原子吸光光度法所使用的分光器相比, 需使用更高性能的分光器。根据分光器的种类, ICP 可分为顺序型与全谱型两大类。顺序扫描型仪器中, 一般使用平面衍射光栅, 通过光栅的角度与狭缝对波长进行扫描, 用光电倍增管(PMT)进行检测。因此, 测量波长数越多, 所需测定时间也相应延长, 但是顺序型仪器的确具有高的波长分辨率。全谱型装置采用

Echelle 型衍射光栅与棱镜组合而成的分光器，将发光光谱二维展开，使用 CCD 或类似装置作为检测器。该类仪器的优势是可以同时检测多个元素。全谱直读型仪器结构如图 4。

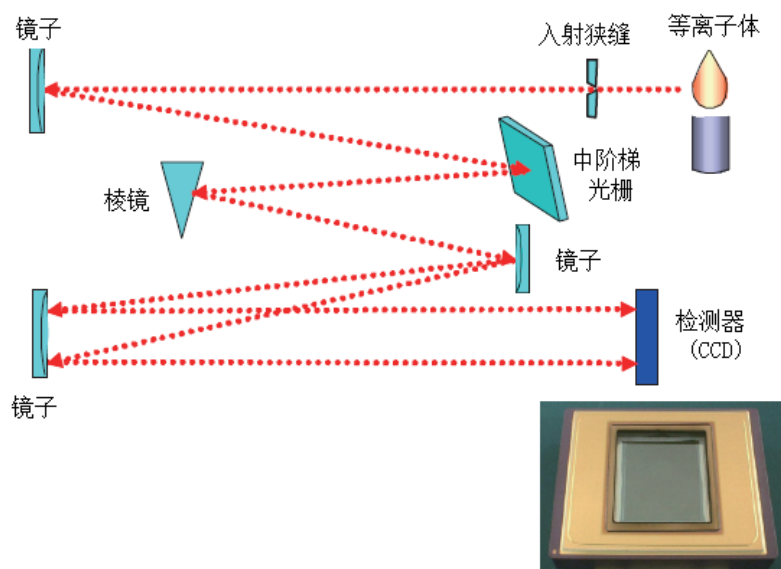


图 4 全谱型分光器的结构 (ICPE-9000 的光学系统)

2.3 岛津全谱型 ICP 发射光谱仪 ICPE-9000

岛津 ICP 仪器既有顺序扫描型又有全谱直读型。对于医药类样品中残留金属催化剂的分析而言，全谱直读型的 ICPE-9000 分析速度快，因此更为合适。以下为岛津 ICPE-9000 的几大特点：

(1) 测量全波长

多元素同时分析时，发出的谱线数量也非常多，因此谱线可能存在重叠（称为光谱干扰）。因此，为提高测定的可靠性，需确认每个元素的多个波长。ICPE-9000 使用了最新的 CCD 检测器，具有百万像素。除了高分辨 CCD 外，记录全部波长信息，一次测定得到丰富的信息量，为我们的日常工作提供了如下便利：

1. 测定结束后，可追加波长进行分析，如图 5。

由于测定完成后也可追加波长进行评估，无需事先确认最佳波长。

2. 测定完成后，可追加元素进行分析，如图 5。

当待测溶液中含有多个元素时，如果某一元素被遗忘或者后续发现新的需要测定的元素，测定完成后也可以对需要的元素进行定量分析。

3. 测定完成后，可得到更多定性分析的数据。

由于所有元素和所有波长的信息都已经存储，因此除了定量分析外，所有 71 元素的所有定性分析结果都可以得出。

4. 使用诊断助手功能，可实现分析结果的自动确认，如图 6。

诊断助手功能示例如图 6。当样品中含多种组分并存在光谱干扰时，可使用该功能，从而可以自动选择最佳波长。

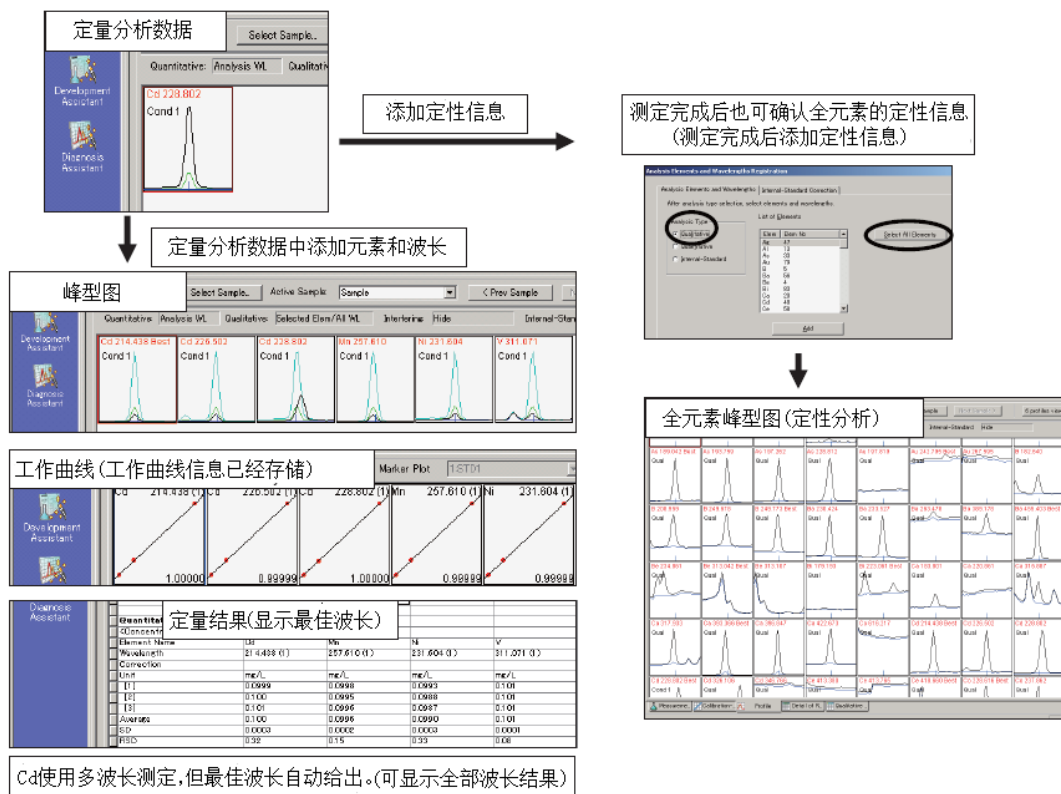


图 5 数据处理实例(测定完成后,数据的定量分析,元素/波长添加,全元素的定性分析)

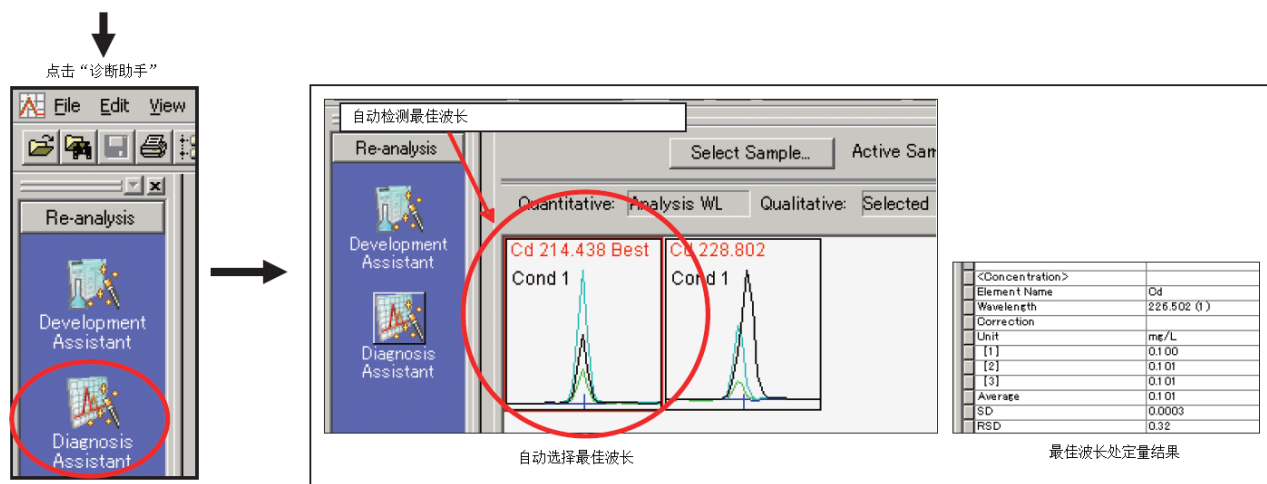
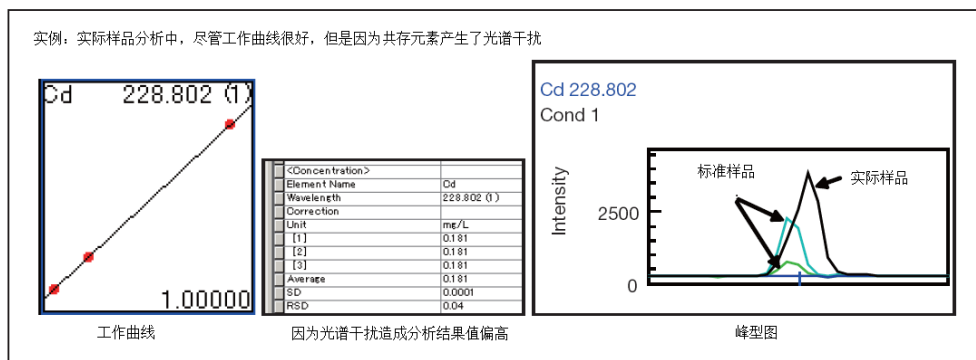


图 6 使用诊断助手功能对数据进行再分析实例

(2) 测量有机溶剂

在众多 ICP 装置中，测量有机溶剂试样时，要向等离子体炬管导入氧气，以防止炬管前端积炭。而岛津的 ICP 发射光谱仪采用了不易积炭的炬管，并且 ICPE-9000 炬管为垂直放置，炬管内不易残留样品。因此测量有机溶剂样品，如二甲基亚砷 (DMSO)、甲醇、乙醇等，无需导入氧气。

(3) 采用真空光室，可方便测定深紫外区域

使用 ICP 可以测定 P 和 S 在 190nm 以下的深紫外区谱线，灵敏度高且光谱干扰少。但是，如果在高波长区域，光室中有空气存在，发射光会被氧气吸收，因而无法进行检测。因此，深紫外区的分析需要气体吹扫型光室或者真空型光室。气体吹扫型光室，使用纯度为 99.999% 或更高纯度的气体进行吹扫，以将光室中的氧气排除并防止光学系统部件老化。并且，为了保证仪器的稳定性，测定阶段需要吹气，测定完成后仍需继续通气，运行成本大大增加。岛津 ICPE-9000 采用真空光室，除去空气，无需气体吹扫内部光室，具有良好的稳定性，节约实验时间并降低了运行成本。

(4) 纵向/轴向观测方式，可自动切换

轴向观测方式用于高灵敏度测定，因为相比于纵向观测而言，轴向观测方式观测发射光的时间较长。岛津 ICPE-9000 可装配双向观测方式，并通过软件实现自动切换。

3. 分析与结果

3.1. EMEA 的指南

2008 年 2 月 21 日 EMEA 颁布的指南中的容许量及容许浓度一览，见表 1²⁾。

表 1 EMEA 指南的分类与各元素的容许量

	口服		非胃肠道接触		吸入
	PDE (µg/天)	浓度 (ppm)	PDE (µg/天)	浓度 (ppm)	PDE (ng/day)
Class1A Pt,Pd	100	10	10	1	Pt:70
Class1B Ir,Rh,Ru,Os	100	10	10	1	
Class1C Mo,Ni,Cr,V	250	25	25	2.5	Ni:100; Cr(VI):10
Class2 Cu,Mn	2500	250	250	25	
Class3 Fe,Zn	13000	1300	1300	130	

该指南中，基于对人体健康产生潜在风险的考虑，将 14 种金属分为 Class1、2、3 三大类。Class1 (疑似可能具有致癌或其他显著毒性的金属) 进一步被划分为三个亚组。并针对各类金属，明确了口服、非肠道接触、吸入等不同给药途径时的容许量。效仿 ICH Q3C (药品残留溶剂指南) 采用了 PDE (Permitted Daily Exposure 单位 µg/天) 做为药品的最大容许量。假设每日制剂的给药量为 10g，根据各 PDE 计算得出容许浓度。此外，一日给药量超过 10g 时，应使用制剂中有效成分的容许值。

3.2. 医药品分析

本文测定了医药品中残留的金属元素，即 EMEA 指南中 14 种元素。分析试样，为市场上销售的用于研究分析的甲苯磺酸妥舒沙星水合物、卡托普利、盐酸贝那普利。前处理方法使用有机溶剂，而不是常规的酸消解的方法。用有机溶剂溶解来进行预处理，这是一种可减少污染、简单易行的方法。本次使用对多种物质使用溶解性高的二甲基亚砷 (DMSO) 进行样品准备。使用 Y (铯) 元素溶液作为内标。另外，准备 1ug/ml 的标准甲苯磺酸妥舒沙星水合

物溶液，作为用于添加回收试验的溶液。

分析中，使用岛津全谱型 ICP 发射光谱仪 ICPE-9000，采取轴向观测进行了分析。ICPE-9000 的分析条件如表 2 所示。表三为分析结果。本次未从测量试样中检测出属于 EMEA 指南 Class1A 中含有 Pd 及 Pt 的金属催化剂为代表的元素。从所有试样中检测出了 Class1C 的 Cr、Class2 的 Cu、Mn, Class2 的 Fe、Zn。对甲苯磺酸妥舒沙星进行添加回收试验（各元素的添加浓度：1g/mL）的结果如表 4 所示。所有元素取得了 98~101%良好回收率。从混合标准溶液测量结果计算得出的检测下限（3σ）如表 5 所示。对于所有元素，检测下限均在 EMEA 指南规定的容许浓度(Oral Exposure)的 1/10 以下，经确认，对残留金属催化剂进行的分析具有较高的灵敏度。

表 2 ICP-AES 的分析条件

分析装置 ICPE-9000
 高频输出 1.3kW
 等离子体气体流量 (Ar) 18L/min
 辅助气体流量 (Ar) 1.4L/min
 载气流量 (Ar) 0.70L/min
 试样注入 同轴型喷雾器
 雾化室 二管同心型
 观测方法 轴向方向

表 3 原药（3 种）的分析结果（试样粉末中浓度：μg/g）

元素名称	Cr	Cu	Fe	Ir	Mn	Mo	Ni	Os	Pd	Pt	Rh	Ru	V	Zn
甲苯磺酸妥舒沙星	0.11	0.05	4.37	<	0.03	<	<	<	<	<	<	<	<	0.06
贝那普利	0.36	0.52	5.17	<	0.07	<	<	<	<	<	<	<	<	1.12
卡托普利	0.37	0.26	0.52	<	0.10	<	<	<	<	<	<	<	<	14.1

<：低于检测下限

表 4 甲苯磺酸妥舒沙星的添加回收试验结果（溶液中浓度：mg/L）

元素名称	Cr	Cu	Fe	Ir	Mn	Mo	Ni	Os	Pd	Pt	Rh	Ru	V	Zn
添加前	0.011	0.005	0.437	<	0.003	<	<	<	<	<	<	<	<	0.006
添加后	0.997	0.994	1.423	0.978	0.987	1.010	0.991	1.003	0.981	0.996	0.978	0.977	1.000	0.989
回收率 (%)	99	98	99	98	98	101	99	100	98	100	98	98	100	98

表 5 原药分析中的检测下限值（3σ）

（上半部分：试样粉末中浓度（μg/g），下半部分：溶液中浓度（mg/L））

元素名称	Cr	Cu	Fe	Ir	Mn	Mo	Ni	Os	Pd	Pt	Rh	Ru	V	Zn
检测下限	0.03	0.04	0.007	0.07	0.007	0.03	0.07	0.08	0.02	0.3	0.1	0.04	0.007	0.01
	0.003	0.004	0.0007	0.007	0.0007	0.003	0.007	0.008	0.002	0.03	0.01	0.004	0.0007	0.001

然后，为了考察有机溶剂前处理的影响，进行连续 2 小时测量的稳定性和为期 3 天的每天重现性确认。各项结果如图 7 和表 6 所示。2 小时连续测量中的稳定性评价采用了混合标准溶液（浓度 1.0mg/L）进行。结果表明，即使连续 2 小时注入 DMSO 溶液，所有元素 RSD 均为 1%或 1%以下，具有良好的稳定性，确认了使用有机溶剂进行分析在实用性上可经受考验。为期 3 天的重现性确认实验，使用甲苯磺酸妥舒沙星溶液的加标回收试验溶液，重现性非常好，3 天的 RSD 约在 1%左右。

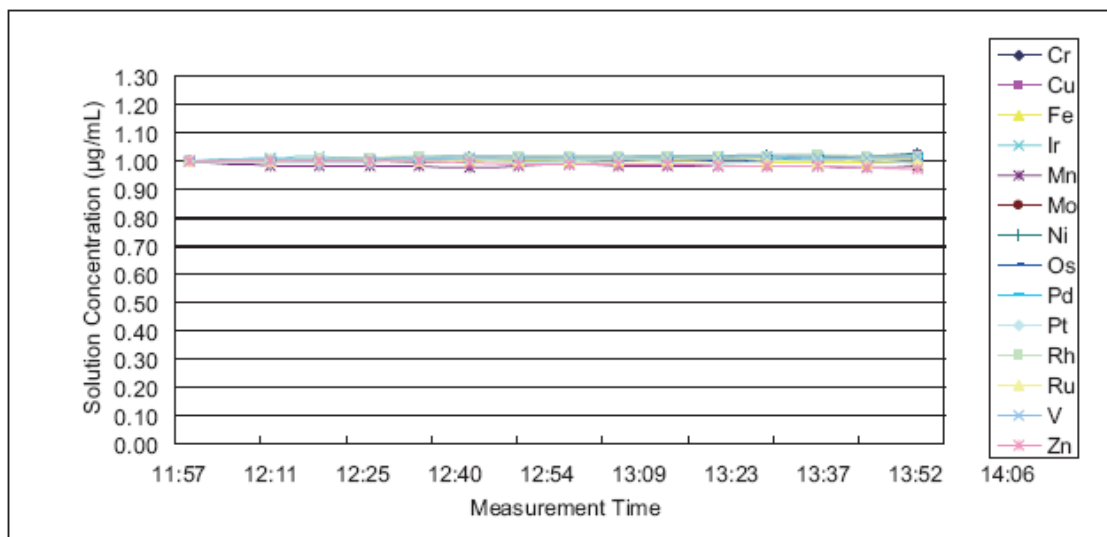


图 7 2 小时内测定结果随时间的变化

图 6 为期 3 天的重现性测定结果(单位: ug/ml)

元素名称	第一天	第二天	第三天	RSD(%)
Cr	1.00	1.00	1.02	1.18
Cu	0.99	1.00	0.99	0.46
Fe	1.42	1.43	1.43	0.19
Ir	0.98	0.98	0.97	0.60
Mn	0.99	0.99	1.00	0.89
Mo	1.01	1.01	1.01	0.26
Ni	0.99	0.99	0.99	0.24
Os	1.00	1.00	1.01	0.66
Pd	0.98	0.98	0.99	0.85
Pt	1.00	1.00	1.02	0.96
Rh	0.98	0.97	0.97	0.55
Ru	0.98	0.98	1.00	1.35
V	1.00	1.00	1.00	0.23
Zn	0.99	0.98	0.97	0.87

图 8 显示了部分代表元素的峰轮廓图 (标准曲线试样溶液 (0, 0.1, 1.0mg/L), 示例为 甲苯磺酸妥舒沙星溶液及其加标回收试验溶液)。

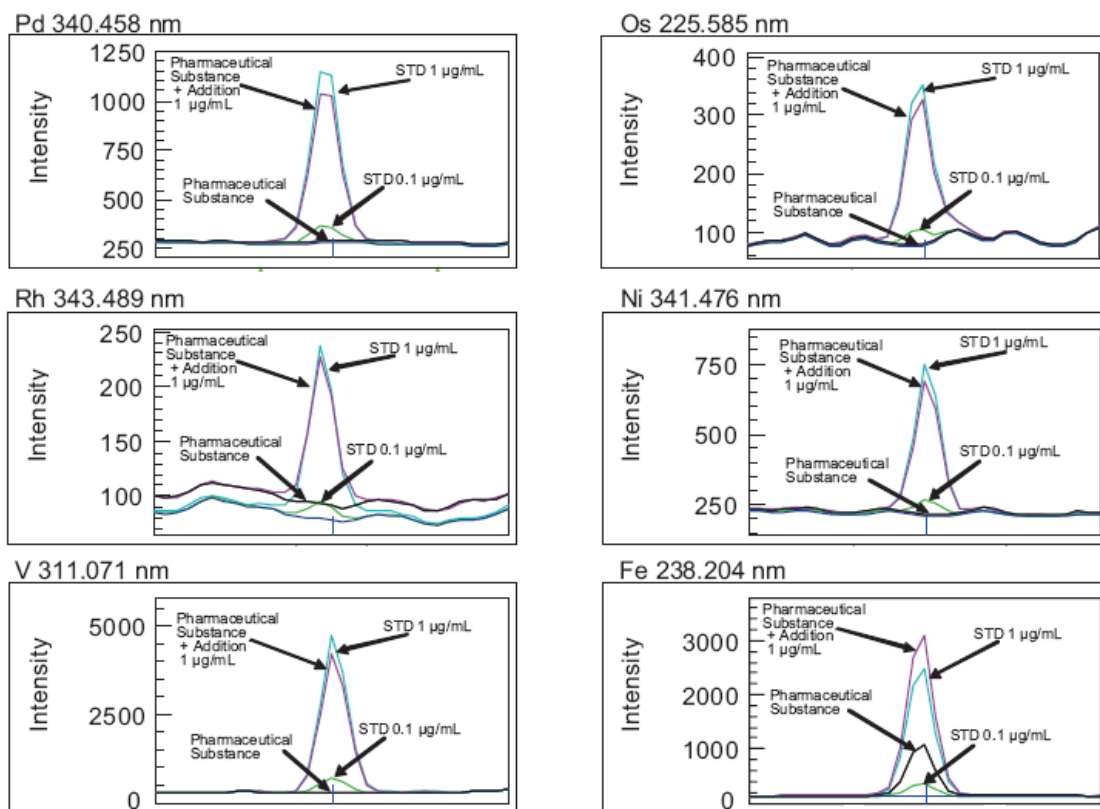


图 8 各元素的光谱谱线轮廓
(标准曲线试样溶液 (0, 0.1, 1.0mg/L), 原药, 添加试样 (原药+标准试样 1.0mg/L))

4. 结束

本文简要介绍了 ICP 发射光谱分析方法,并遵从 EMEA 指南要求的 14 种金属元素使用 ICP 对医药品中金属催化剂残留物质进行了检测。经过多年的实验确认, ICP 发射光谱分析法(岛的 ICPE-9000)具备分析药品原药中残留金属催化剂所需的较高灵敏度,通过在前处理中引入有机溶剂样品 DMSO,前处理操作也可简便有效地进行。

金属元素在生物生存中发挥着重要的作用,在新陈代谢、能量代谢及信息传递等阐明生命机能的过程中,对确定构成金属蛋白质、金属酶等活力中心的金属元素等进行功能分析是不可或缺的。希望我们共同发挥 ICP 发射光谱分析法可对多元素同时进行快速分析与操作简便的特色,在药品以及生命科学领域的多种试样分析中进行推广应用。