

《美国药典》新通则<232>和<233>元素杂质控制新标准和方法介绍及其对医药界的影响

张慧敏*,余灵芝,陈旭,冯常强[#](浙江省台州医院药剂科,浙江临海 317000)

中图分类号 R921;R924 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)17-1601-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.17.21

摘要 目的:介绍《美国药典》(USP)新通则<232>和<233>中的药品元素杂质控制的新标准和方法,并分析其对医药行业的影响。方法:与现行标准比较USP新通则中元素杂质控制的新标准和方法以及重金属检查法的异同,并分析各元素杂质定量检测方法的优缺点及运行成本,对相关生产厂家提出建议。结果与结论:新通则明确要求测定各元素杂质含量而不是总量,即由半定量转为定量控制,并规定了15种金属元素杂质的每日允许接触限值及原料药和辅料中元素杂质的限量值;新通则推荐的两种重金属检查分析方法为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,可大大提高杂质检出能力,但仪器总运行成本较高。准备进入美国市场或已有产品销售的原料药或制剂生产厂家需对检测分析手段从软件和硬件上进行升级,并开发和验证合适的金属杂质检测方法。新通则的实施能更好地控制药品中的元素杂质含量。

关键词 美国药典;新通则;元素杂质;重金属检查;仪器分析

New Standard and Method for Elemental Impurities Control in <232> and <233> New General Rules of USP and Effects of Them on Pharmaceutical Industry

ZHANG Hui-min, YU Ling-zhi, CHEN Xu, FENG Chang-qiang (Dept. of Pharmacy, Taizhou Hospital of Zhejiang Province, Zhejiang Linhai 317000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To introduce new standard and method for elemental impurities control in <232> and <233> new general rules of *United States Pharmacopoeia* (USP), and to analyze the effects of them on pharmaceutical industry. METHODS: The existing standard was compared with new standard and method for elemental impurities control and heavy metal tests in new general rules of USP. The characteristics and operating costs of quantitative detection methods for elemental impurities were analyzed to put forward the suggestions for relevant manufacturers. RESULTS & CONCLUSIONS: New general rules clearly demanded that the content of each elemental impurity rather than total content of elemental impurity should be determined, in another word, semi-quantitative control changed into quantitative control; provided daily exposure limits of 15 elemental impurities and the limits of elemental impurities in raw materials and excipients. ICP-AES and ICP-MS were recommended methods for the determination of heavy metals; the detection ability had been improved greatly but they were more costly. The manufacturers, which are making ready to enter the USA market or have sold raw material and preparations in the market, should upgrade, develop and validate the detection method of metal impurity in fields of software and hardware. The implementation of new rules can control the contents of elemental impurity better.

KEYWORDS *United States Pharmacopoeia*; New general rules; Elements impurities; Heavy metals test; Instrumental analysis

元素杂质包括可能存在于原料药、辅料或制剂中的催化剂和环境污染物质,主要是指药品生产或贮藏过程中生成、加入或无意引入的物质^[1]。由于某些元素杂质具有毒性,而且还可能对药品的稳定性、保质期产生不利影响,或可能引发有害的副作用,故美国FDA对药品元素杂质的控制越来越严格,《美国药典》(USP)也不断对此进行修订。

近期美国药典委员会正式批准了元素杂质新通则<232>“元素杂质-限度”^[2]和<233>“元素杂质-方法”^[3]的重大修订方

案,并收载于USP35-NF30第二增补版中。两项全新通则将取代现行通则USP<231>“重金属限量检测”,于2014年5月1日正式执行^[4]。现行药品元素杂质检测方法采用比色法,也称“重金属限度检查法”,该方法原理为金属离子与硫化物离子反应显色,再与标准铅溶液(浓度为10 ppm)进行目视比色^[5]。此方法缺乏特异性、灵敏性和准确性,存在主观目测颜色误差;且此方法所得结果只是样品中各元素杂质的总量值,不能对单个元素杂质进行定量分析,更无法检测具有遗传毒性的金属杂质残留量。遗传毒性杂质不同于药品的一般杂质,其极微量水平即能诱发DNA突变^[6]。FDA于2013年2月6日颁布的关于遗传毒性杂质的控制指南草案限定其残留量在ppb水平^[7],而现行重金属检查法不能检测出如此低的含量;再者,

*药师,硕士。研究方向:药物分析。电话:0576-87718638。E-mail:fwz0805@163.com

[#]通信作者:主管药师。研究方向:医院药学。E-mail:fcq-jiang001@126.com

此方法在样品制备时需高温灼烧样品(温度高达600℃),会造成挥发性物质的损失。这些问题的存在迫切需要寻找一种更可靠、准确和灵敏的杂质检测方法。因此,2008年USP开始启动新标准和方法的制订,并于2008年8月组建了由美国国家科学院医学研究所(IOM)专家组成的工作小组^[8]。自2008年起USP举办了多场相关论坛和药典教育,2009年召开了元素杂质研讨会。新标准是USP专家委员会根据制药行业、学术界、政府实验室、FDA、国际药品监管机构、毒理学专家委员会委员意见反馈等而制定的^[9]。

本文就新法规中元素杂质的限度和控制方法、各元素杂质定量检测方法的优缺点和运行成本以及法规升级对医药界产生的影响展开讨论,为制药厂家和医院制剂升级药品杂质检测方法提供参考。

1 法规对元素杂质控制的新要求

1.1 杂质限度控制要求

现行法规USP35只要求对各元素杂质总量值进行测定,而新法规则明确要求测定各元素杂质含量,并规定了15种金属元素杂质(Cd、Pb、As、Hg、Ir、Os、Pd、Pt、Rh、Ru、Cr、Mo、Ni、V和Cu)的每日允许接触限值(PDE),见表1。

表1 制剂中元素杂质限度

Tab 1 Limits of elemental impurities in preparations

元素	日口服剂量 PDE ^a , μg/d	日注射剂量 PDE, μg/d	日吸入剂量 PDE, μg/d	大容量注射剂(LVP) 组分限度, μg/g
镉(Cd)	2.5	2.5	1.5	0.25
铅(Pb)	5	5	5	0.5
无机砷(As) ^b	1.5	1.5	1.5	0.15
无机汞(Hg) ^b	15	1.5	1.5	0.15
铱(Ir)	100	10	1.5	1.0
锇(Os)	100	10	1.5	1.0
钯(Pd)	100	10	1.5	1.0
铂(Pt)	100	10	1.5	1.0
铑(Rh)	100	10	1.5	1.0
钌(Ru)	100	10	1.5	1.0
铬(Cr)	*	*	25	*
钼(Mo)	100	10	250	1.0
镍(Ni)	500	50	1.5	5.0
钒(V)	100	10	30	1.0
铜(Cu)	1000	100	70	25

注:a. PDE,体质量50 kg的人每日允许接触量;b. 见<232>元素杂质-形态描述;* . 无安全隐患

note: a. PDE, means daily exposure limits based on a 50 kg person; b. refer to morphological description in <232> elemental impurities; * . means no hidden danger

分析物列表和限度的制订依据长期接触毒理试验的数据,而不是方法性能,而且列表中第一次包含了催化剂元素(铂族元素Pt、Pd、Ru、Rh、Os和Ir)。新法规规定如果在生产加工过程中添加金属催化剂,就必须对其进行检测。随着科学技术的发展,分析内容和数据有可能发生变化。对于大容量注射液(注射剂量为10~100 ml),新法规规定必须对各杂质在各组分中的限度分别求和建立限度值,制剂中各元素杂质限度值(μg/g)用下列公式求和:

$$PDE \geq [\sum M(C_M \times W_M)] \times D_D$$

式中,M:制剂中各组分名称;C_M:1 g组分含有的金属元素质量(原料药或赋形剂)(μg/g);W_M:1个剂量单位中组分的质量(g/剂量单位);D_D:最大日剂量(剂量单位/d)。

新法规还提供了原料药和辅料(最大日剂量≤10 g/d)中元素杂质的限量值,可供原料药和辅料的生产商参考,见表2。

表2 原料药和辅料中元素杂质限度

Tab 2 The limits for elements impurities in raw material and excipients

元素	最大日剂量≤10 g/d的口 服制剂的限度值, μg/g	最大日剂量≤10 g/d的注 射剂的限度值, μg/g	最大日剂量≤10 g/d的吸入 剂的限度值, μg/g
镉(Cd)	2.5	0.25	0.15
铅(Pb)	0.5	0.5	0.5
无机砷(As)	0.15	0.15	0.15
无机汞(Hg)	1.5	0.15	0.15
铱(Ir)	10	1.0	0.15
锇(Os)	10	1.0	0.15
钯(Pd)	10	1.0	0.15
铂(Pt)	10	1.0	0.15
铑(Rh)	10	1.0	0.15
钌(Ru)	100	10	1.5
铬(Cr)	*	*	2.5
钼(Mo)	10	1.0	25
镍(Ni)	50	5.0	0.15
钒(V)	100	10	30
铜(Cu)	100	10	7

注:* . 无安全隐患

note: * . means no hidden danger

1.2 新的分析方法

USP新通则<233>提供了两种基于现代分析仪器的检测方法,并已由USP下属的分析开发部门验证。采用推荐的方法检测元素杂质被FDA批准的可能性较大,但FDA不强制要求使用新法规中的方法,也接受厂家自行开发的分析方法和样品配制方法。比如厂家可根据自身产品的特点,选择检测成本相对较低的火焰原子吸收光谱法(FAAS法)和石墨炉原子吸收光谱法(GFAAS法),但任何替代检测方法均需经过科学的验证。方法学的验证可以参考人用药物注册技术要求国际协调会议(ICH)指南Q2(R)^[10]或FDA发布的分析程序和方法验证指南^[11]。

新通则中所述两种方法分别是电感耦合等离子体原子发射光谱法(ICP-AES法或ICP-OES法)、电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS法),样品均采用封闭容器微波消解法。检测方法的选择包括样品的配制以及仪器参数的调整,且使用者可以在方法验证的基础上对其进行调整。新通则推荐的样品配制方法包括纯物质法、直接水溶解法、直接有机溶解法和非直接溶解法(密闭容器消化)。

2 新方法 with 现行重金属检测法的比较

多部现行药典如《欧洲药典》(EP7.0)^[12]、《日本药典》(JP16)^[13]、《中国药典》(CP2010)^[14]均对现行重金属限度检查法有描述,其原理是10种元素(Ag、As、Bi、Cd、Cu、Hg、Mo、Pb、Sb和Sn)与硫代乙酰胺反应生成硫化物沉淀,产生的有色沉淀物与10 ppm的Pb标准品进行颜色对比,以确定是否超出重金属限度。除存在主观目测颜色误差外,该方法是基于10种

表3 各金属元素检测分析方法的特点

Tab 3 The characteristics of analysis methods for metal elements

金属元素分析技术	优点	缺点
现行重金属检查法	<ul style="list-style-type: none"> ●方法简单,对操作人员的技能要求低 ●分析成本低 	<ul style="list-style-type: none"> ●回收率低 ●所用试剂有毒 ●不具备专属性,缺乏灵敏性,耗时长
FAAS法	<ul style="list-style-type: none"> ●适用于ppm级的被测组分 ●常用于Na、K、Ca、Mg、Fe、Zn、Li元素的分析 ●相对于等离子技术,费用便宜 ●仪器操作较容易 	<ul style="list-style-type: none"> ●多元素测定能力差 ●需要配备很多灯(单一元素测定) ●基体干扰严重 ●线性范围较窄 ●分析速度没有多元素快
GFAAS法	<ul style="list-style-type: none"> ●检测灵敏度较FAAS法高 ●适用于Pb、Au、Al以及催化剂的检测 ●分析所需样品量少,适合少量、贵重物品分析 ●分析操作简单,不需要进行药品配制 ●处理有机样品有优势 ●仪器价格不贵 	<ul style="list-style-type: none"> ●耗材比较贵 ●方法开发复杂耗时 ●仪器本身质量对测试影响大 ●存在污染以及方法转移问题
ICP-AES法	<ul style="list-style-type: none"> ●多元素快速分析能力 ●检测限水平低,能检出ppb级的残留物污染 ●线性范围宽 ●对溶解的高浓度固体样品的耐受性更好 ●与ICP-MS法相比,能测出更高浓度的元素 	<ul style="list-style-type: none"> ●所获得的发射谱线复杂 ●比ICP-MS有更复杂的干扰 ●由于严重的光谱干扰,分析测试能力降低 ●检测限没有ICP-MS低
ICP-MS法	<ul style="list-style-type: none"> ●多元素快速分析能力 ●低的检测限,能检出ppt级残留物 ●线性范围宽 ●光谱图较ICP-AES法简单 ●可用于同位素分析 	<ul style="list-style-type: none"> ●光谱干扰严重:双电荷离子(M²⁺)、氧化物与金属氢化物(MO⁻)以及氢的衍生物(Ar⁺, ArO⁺)等都能形成干扰 ●对溶解的高浓度样品耐受性低
XRF法	<ul style="list-style-type: none"> ●样品制备简单,样品无需精确称量、无需萃取和pH调节等 	<ul style="list-style-type: none"> ●检测时间更长 ●元素形态分析功能有限 ●不具备同位素检测能力

表4 仪器年运行成本(\$)

Tab 4 Annual operating costs(\$)

仪器分析技术	年气体成本	电力成本	耗材成本	总成本
FAAS法	3 700	150	1 750	5 600
GFAAS法	230	230	5 500	5 960
ICP-AES法	2 400	750	3 100	6 250
ICP-MS法	3 400	750	10 000	14 150
XRF法	2 200	150	1 000~5 000*	5 350*

注:*.成本主要取决于X射线管的花费,平均耗材花费为\$3 000

note: *. means the cost depends on the cost of X-ray tube, and average cost is \$3 000

经FDA批准,后续工作将非常烦琐。

5 结语

FDA要求对药品生产中所用原料、中间体和活性成分(API)、赋形剂(稳定剂、填充剂、黏结剂、着色剂、调味剂、糖衣等),以及最终药物产品中所含的有机和无机元素杂质进行监测和控制。对生产过程中可能引入的杂质,如催化剂和来自生产工艺设备的污染物,也必须进行监测。而现行的监测药品元素杂质的USP通则<231>“重金属限量检测”,在范围、准确性、灵敏度和专属性等方面均存在不足,将被新通则USP<232>“元素杂质-限度”和<233>“元素杂质-方法”所取代。新方法将克服现行方法的局限,特别是关于分析物列表、样品制备、挥发性分析物的保留以及密闭容器样品消解和现代仪器技术的应用,以实现单个分析物的精确回收和浓度测定。同

元素总和的限度检测方法,不能得到单个元素的含量,而且也不能测定许多感兴趣的元素,如Cr,以及生产中常用催化剂铂系元素(PGE)。现行重金属检查法还存在方法重现困难的问题,因供试溶液、标准溶液颜色会随时间发生变化,检测时间不同得到的结果也可能不同;同时,此方法的回收率也低,如文献^[15]报道研究者利用现行检测方法和ICP-MS法,对比了Pb、As、Se、Sn等14种元素的回收率,结果ICP-MS法的平均回收率均在80%以上,而现行检测方法的回收率较低,如Se、Sn和Sb回收率均低于20%,Hg的回收率甚至为0。

现行重金属检测方法所得结果只是样品中各元素杂质的总量值,为半定量分析;新方法则要求对各元素进行定量控制,其中4大毒性元素As、Cd、Pb和Hg为必检元素,且方法灵敏度高,能检出残留水平更低的元素杂质。各元素限度的制订均是基于各元素的毒性试验数据。如陈阳等^[16]采用新方法对药物格列齐特中的金属元素杂质进行检测,检测限低于1 μg/g,甚至达到0.01 μg/g水平,而且回收率高达76.6%~123.0%。

3 各仪器分析方法的比较

新通则推荐使用ICP-AES法(或ICP-OES法)和ICP-MS法两种仪器检测方法。目前,可用于金属元素分析的现代仪器方法包括原子吸收光谱法的FAAS法和GFAAS法、电感耦合等离子体光谱法如电感耦合等离子体(ICP)、ICP-AES法或ICP-OES法、ICP-MS法以及X射线荧光光谱法(XRF法)。

各仪器分析方法的优缺点都非常明显,例如ICP-AES法可以进行快速多元素分析,但因存在严重的光谱干扰,分析检测能力下降,因此厂家需结合本公司的产品特点选择合适的仪器。各种金属元素检测分析方法的特点见表3。

对比上述仪器分析方法日常检测运行成本(按每年运行1 000 h,每周运行20 h计),年运行成本最高的是ICP-MS法,年成本为14 150美元;最低为XRF法,年成本为5 350美元。运行成本的主要花费为耗材部分。各仪器的年运行成本(按每年运行1 000 h,每周运行20 h计)^[17]见表4。

4 对制药工业的影响

新通则<233>描述了元素杂质的两种检测方法(即ICP-AES法和ICP-MS法)、限度试验以及定量试验的验证,并为替代方法(厂家自行开发的药品元素杂质检测方法)的批准提供了标准。USP对上述两种推荐方法已进行充分地验证和利弊分析,故采用这两种方法能降低不被批准的风险,但厂家需购买昂贵的仪器(如Agilent7500A ICP-MS大约1百万人民币)。厂家也可采用替代方法如FAAS法和GFAAS法,检测仪器相对较便宜,但需按法规要求验证。

对于准备进入美国市场或已在该市场有销售的原料药或制剂厂家,必须在新法规执行之前做好充分的准备,提前对即将上市申报的产品进行金属元素杂质风险评估;同时需要做好硬件和软件上的升级,按照法规的要求,开发和验证适合自己公司产品的金属杂质检测方法,保证上市产品符合法规要求。否则,即使现在药品申请已被FDA批准,在2014年5月1日新法规正式执行生效后,还需对工艺中的各个阶段潜在的、加入的或不经意引入的金属元素杂质进行风险评估,并再次

时 USP<233> 推荐了两种基于现代分析仪器的检测方法,即 ICP-AES法(或 ICP-OES法)和 ICP-MS法,这两种方法都有较高的灵敏性和准确性,可以检测出药品中更低残留量的元素杂质。针对固体样品,新通则给出的首选消解技术是密闭容器微波消解。密闭容器避免了挥发性元素(如 Hg)的损失问题,这是 USP<231> 的一个遗留问题,已经通过了充分认证。

总之,现行 USP<231>重金属检查法将被替代,要求药品元素杂质的检测方法由现行的半定量法转为定量法(仪器检测),即将执行的 USP 新通则对元素杂质的限度和检测手段作了全新的定义,将极大提高药品中元素杂质检出能力。这对于患者来说是巨大的利好,但对于厂家或者说整个医药行业来说将面临一次广泛的产业升级,厂家将不得不投入巨资对其检测分析手段进行升级,以符合新法规的要求。

参考文献

- [1] European Medicines Agency. *Guideline on the specification limits for residues of metal catalysts or metal reagents* [EB/OL]. (2008-02-21) [2013-03-25]. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003586.pdf.
- [2] U.S. Pharmacopeial Convention. <232> *Elemental impurities-limits* [EB/OL]. (2013-02-01) [2013-03-25]. http://www.usp.org/sites/default/files/usp_pdf/EN/USPNF/key-issues/c232_final.pdf.
- [3] U.S. Pharmacopeial Convention. <233> *Elemental impurities-procedures* [EB/OL]. (2013-02-01) [2013-03-25]. http://www.usp.org/sites/default/files/usp_pdf/EN/USPNF/key-issues/c233_final.pdf.
- [4] U.S. Pharmacopeial Convention. *Postponed the official dates of <232> elemental impurities—limits and <233> elemental impurities—procedures* [EB/OL]. (2012-11-15) [2013-03-25]. <http://www.usp.org/usp-nf/official-text/revision-bulletins/elemental-impurities-limits-and-elemental-impurities-procedures>.
- [5] U.S. Pharmacopeial Convention. *USP 34-NF29* [S]. 34th revision, 29th Edition. Rockville: The United States Pharmacopeial Convention, 2010:135.
- [6] European Medicines Agency. *Guidelines on the limits of genotoxic impurities* [EB/OL]. (2006-06-28) [2013-03-25]. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC_500002903.pdf.
- [7] USA's Food and Drug Administration Agency. *M7 assessment and control of DNA reactive (mutagenic) impurities*

in pharmaceuticals to limit potential carcinogenic risk [EB/OL]. (2013-02-06) [2013-03-25]. [http://www.fda.gov/downloads/Drugs/Guidance Compliance Regulatory Information/ Guidances/UCM347725.pdf](http://www.fda.gov/downloads/Drugs/Guidance%20Compliance%20Regulatory%20Information/Guidances/UCM347725.pdf).

- [8] U.S. Pharmacopeial Convention. *USP heavy metals testing methodologies workshop* [EB/OL]. (2008-08) [2013-03-25]. http://www.usp.org/sites/default/files/usp_pdf/EN/USPNF/key-issues/2008-MetalsWorkshopSummary.pdf.
 - [9] U.S. Pharmacopeial Convention. *Workshop on metals in pharmaceuticals and dietary supplements* [EB/OL]. (2009-04) [2013-03-25]. http://www.usp.org/sites/default/files/usp_pdf/EN/meetings/workshops/2009-04-29-MetalImpuritiesSlides.pdf.
 - [10] The International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH). *Q2(R1) Validation of analytical procedures: text and methodology* [EB/OL]. (2005-11) [2013-03-26]. http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q2_R1/Step4/Q2_R1_Guideline.pdf.
 - [11] U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration. *Guidance for industry: analytical procedures and methods validation-chemistry, manufacturing, and controls documentation* [EB/OL]. (2000-08) [2013-03-26]. <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/Guidances/ucm122858.pdf>.
 - [12] European Pharmacopoeia Commission. *European Pharmacopoeia* [S]. 7.0 edition. Strasbourg: European Directorate for Quality Medicines, 2010:114-117.
 - [13] Pharmaceuticals and Medical Devices Agency of Japan. *The Japanese Pharmacopoeia* [S]. 16th edition. Tokyo: The Ministry of Health, Labor and Welfare, 2011:29-30.
 - [14] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:二部[S]. 2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:附录 58.
 - [15] Lewen N, Mathew S, Schenkenberger M, et al. A rapid ICP-MS screen for heavy metals in pharmaceutical compounds[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2004, 35(4):739.
 - [16] 陈阳, 阳永健. 化学原料药中 19 种金属杂质的检测研究[J]. *药物分析杂志*, 2012, 32(4):631.
 - [17] Thomas R. *Practical Guide to ICP-MS* [M]. 2nd ed. London: Taylor & Francis Group, LLC, 2008:252.
- (收稿日期:2013-07-24 修回日期:2013-09-25)

《中国药房》杂志——中国科技论文统计源期刊, 欢迎投稿、订阅