

采用 ICP-MS 分析 GLP-1 受体激动剂口服片剂中的元素杂质

对遵循 USP <232>/<233> 和 ICH Q3D(R2)/Q2(R2) 的 Agilent 7850 ICP-MS 方法进行评估



作者

Bian Yulan 和 Li Shuping,
安捷伦科技有限公司

前言

胰高血糖素样肽-1 (GLP-1) 受体激动剂是一类快速发展的治疗药物，用于 2 型糖尿病和慢性体重管理。虽然许多已获批的 GLP-1 受体激动剂通过皮下注射给药，但口服制剂正引起临床和商业领域的极大关注。然而，将肽类治疗药物配制成口服固体剂型增加了生产复杂性，包括需要使用渗透促进剂、辅料和包衣材料。这些组分都可能成为元素杂质污染的来源。国际或国家监管机构负责确保药品的有效性和安全性。药品中元素杂质的控制遵循国际人用药品注册技术协调会 (ICH) 《元素杂质指南》修订版 2 (Q3D(R2))^[1] 以及美国药典 (USP) <232>/<233> (元素杂质：限度和程序)^[2,3]，采用基于 ICP-OES 或 ICP-MS 的仪器方法。

USP 各章节根据毒性和出现概率将 24 种元素杂质分为三类，并根据给药途径定义每日允许暴露量 (PDE) 限值。分析方法验证遵循 ICH Q2(R2) (分析方法验证, 2023) [4] 和协调统一的 USP <1225> (药典方法验证) [5]，系统适用性标准在 USP <233> 中定义 [3]。ICH Q2(R2) 为分析方法的验证提供了更新指南，适用于生物制品和生物技术来源的产品。修订后的指南为复杂治疗药物（如基于肽的生物治疗药物，包括 GLP-1 受体激动剂）提供了更清晰的指导，而这一领域在早期 Q2(R1) 框架中未作具体说明。

本研究根据 USP <232>/<233> 和 ICH Q3D(R2)/Q2(R2) 开发并验证了一种分析方法。该方法使用 Agilent 7850 ICP-MS，可定量测定 GLP-1 受体激动剂口服片剂中全部 24 种受监管元素杂质。该仪器配备集成的第四代八极杆反应系统 (ORS⁴) 碰撞池，在氦气 (He) 模式下运行，能够可靠地抑制来自基质的多原子干扰对分析物的影响。采集数据用于评估漂移/稳定性、可检测性、精密度（重复性和中间精密度）、特异性、准确度和线性。

实验部分

系统适用性测试

采用 USP <233> 中定义的样品前处理和方法验证程序，对 7850 ICP-MS 方法进行系统适用性测试。

最终药品中元素杂质的最大含量，用最大 PDE 来表示。对于需要在分析前进行消解或稀释的材料，必须将 PDE 限值（以 µg/日表示）转化为制得样品中测得的浓度限值（以 µg/L 表示）。该目标浓度称为“J 值”，定义了样品溶液中分析物的最大允许浓度限值。计算公式如下：

$$J = PDE / (\text{总稀释倍数} \times \text{最大日剂量})$$

由于 GLP-1 药品通过口服给药，因此采用 ICH Q3D(R2) 和 USP <232> 中规定的口服 PDE 限值作为参考限值。表 1 显示了 24 种受监管元素的 J 值以及每种元素的仪器检出限 (IDL)。J 值至少比 IDL 高 500 倍，表明 7850 ICP-MS 为该应用提供了远超所需的灵敏度。

J 值定义了校准水平 (0.5–1.5 J)、可检测性加标（限度程序为 0.8 J）和加标回收浓度 (50%–150% J)。Agilent ICP-MS MassHunter 软件可根据最终剂型和稀释倍数自动计算每种分析物的 J 值，无需手动计算，使分析人员能够以极少的工作量从样品前处理推进到合规结果。

表 1. 24 种受监管元素的口服 PDEs、J 值和 IDLs（2500 倍稀释；最大日剂量 1 g/日）

ICH/USP 类别	元素	质量	口服 PDE (µg/日)	J 值 (µg/L, ppb)	7850 ICP-MS IDLs* (ng/L, ppt)
1 类	As	75	15	6	12.18
	Cd	111	5	2	0.28
	Hg	202	30	12	1.82
2A 类	Pb	208	5	2	1.81
	Co	59	50	20	0.72
	V	51	100	40	14.39
2B 类	Ni	60	200	80	0.65
	Tl	205	8	3.2	0.16
	Au	197	300	120	19.82
	Pd	105	100	40	0.72
	Ir	193	100	40	1.24
	Os	189	100	40	4.22
	Rh	103	100	40	0.46
	Ru	101	100	40	0.61
	Se	78	150	60	15.65
	Ag	107	150	60	1.51
	Pt	195	100	40	0.34
3 类	Li	7	550	220	23.14
	Sb	121	1200	480	22.89
	Ba	137	1400	560	5.79
	Mo	97	3000	1200	10.51
	Cu	63	3000	1200	8.38
	Sn	118	6000	2400	3.16
	Cr	52	11000	4400	3.52

* IDLs 由校准曲线计算得出（3 × 校准空白浓度的标准偏差 (SD)，n = 3）

样品前处理

USP <233> 定义了四种样品前处理方式：直接法、直接水溶液法、直接有机溶液法和间接溶液法。由于 GLP-1 口服片剂不能直接溶解，因此采用间接溶液法，使用浓酸进行密闭容器微波消解，使样品基质溶解。

在本研究中，使用管式研磨机将四片 GLP-1 口服片剂研磨成细而均匀的粉末。准确称取 0.2 g 样品置于消解管中，加入 6 mL 浓 HNO₃ 和 2 mL 浓 HCl。共处理六份独立配制的样品。然后使用 MARS 6 密闭容器微波消解系统 (CEM Corporation, USA) 对样品进行消解。升温程序如表 2 所示。3:1 的 HNO₃:HCl 比例可确保有机基质的有效分解，同时 HCl 可稳定溶液中的汞 (Hg) 和铂族元素 (PGEs)。冷却至 50 °C 以下后，用 3% HNO₃/1% HCl 稀释剂将澄清消解液定容至 500 mL，总稀释倍数为 2500。在与样品相同的条件下处理两个消解空白，以检查样品前处理过程中是否存在污染。

表 2. 用于配制 GLP-1 口服片剂的微波消解程序

阶段	温度 (°C)	时间 (min)	模式
1	200	15	升温
2	200	15	保持
3			排气冷却

对于每个样品，使用 Agilent ICH Q3D 和 USP 232 口服物质试剂盒_v2 配制包含全部 24 种受监管元素的混合标准品。根据口服 PDE 限值，在消解样品中配制适当加标浓度（0.5、0.8、1.0 和 1.5 J）的标准品。

仪器

使用配备 ORS⁴ 碰撞池的 Agilent 7850 ICP-MS 测量元素杂质^[6]，通过 Agilent ICP-MS MassHunter 软件控制。该仪器配备标准样品引入系统，包括 MicroMist 玻璃同心雾化器、石英雾化室、带 2.5 mm 内径 (ID) 中心管的石英炬管，以及镍采样锥和截取锥。采用 Agilent SPS 4 自动进样器进行样品引入。

在 ICP-MS MassHunter 软件中选择 ICH/USP 预置方法，该软件根据目标元素列表自动配置操作参数，并应用与口服 PDE 限值一致的 QC 标准。表 3 汇总了本研究使用的主要仪器参数。

所有元素均在 He 模式下测量，该模式利用动能歧视 (KED) 减少多原子干扰。这种方法对含氯基质尤其有利，ORS⁴ He KED 模式可抑制含氯物质（例如 ArCl⁺，会干扰 ⁷⁵As⁺），从而支持使用 HCl 稳定样品。HCl 可提高 Hg 和 PGEs 的化学稳定性，并增强钨 (Os) 等分析物在较高浓度下的长期稳定性。

由于 He KED 模式为多元素干扰控制提供了一种稳健的非特异性方法，因此还可以使用次级（定性）同位素确认分析物身份和结果准确度，符合 ICH Q2(R2)、USP <233> 和 USP <1225> 的要求。

表 3. Agilent 7850 ICP-MS 操作参数

参数	设置
等离子体模式	通用
RF 功率 (W)	1550
雾化室温度 (°C)	2
采样深度 (mm)	10
雾化气流量 (L/min)	1.03
透镜调谐	自动调谐
池模式	氦气
He 流量 (mL/min)	4.3
动能歧视 (V)	5

通过选择通用等离子体模式，对阴影参数进行预定义。

结果与讨论

在用于限度程序或定量程序之前，分析仪器和方法必须满足 ICH Q2(R2) 和 USP <233> 中规定的性能标准。系统适用性通过确认结果在整个分析运行过程中保持稳定（漂移 ≤ 20%）来验证，必须在分析当天完成。此外，USP <233> 要求进行方法验证以证明适用性：限度程序需验证可检测性、精密度和特异性；定量程序需验证准确度、精密度/重复性、中间精密度（耐用性）、特异性、定量限、线性和范围（在 0.5–1.5 J 范围内验证）。

漂移检查和 QC 稳定性

长期稳定性是系统适用性的关键要求。通过比较样品分析前后运行的 1.5 J 标准品的结果来评估信号漂移；当每种目标元素的漂移不超过 ±20% 时，即满足系统适用性要求。同一 1.5 J 标准品也用作 QC 检查，在整个八小时批次运行中每 15 个样品后分析一次。

如图 1 所示，1.5 J 漂移检查结果在八小时分析中保持在 90% 至 110% 之间，证明了 7850 ICP-MS 的长期稳定性。

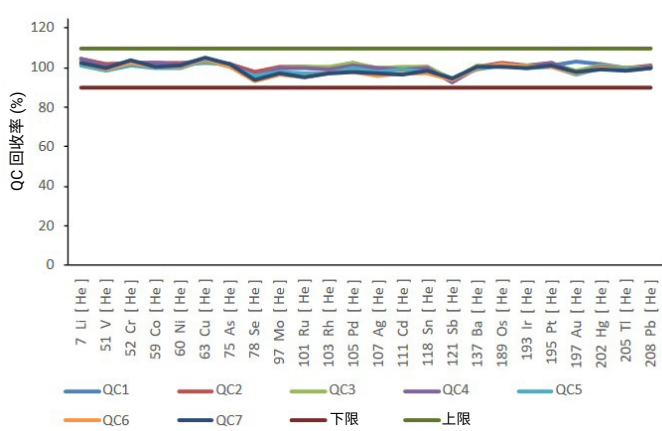


图 1. 八小时运行期间使用 1.5 J 标准品进行的系统适用性漂移和 QC 稳定性检查

七次 QC 检查中每种元素的相对标准偏差 (RSD) 均小于 2.6%，其中几种关键的 1 类和 2A 类元素（包括砷 (As)、汞 (Hg)、铅 (Pb) 和镍 (Ni)）的 RSD 低于 1%（表 4）。

漂移和 QC 稳定性结果共同证实了该系统在该应用中的出色适用性。

限度程序

可检测性

根据 USP <233>，可检测性通过测量 1 J 和 0.8 J 加标样品，并将结果与 1 J 标准品进行比较来验证。必须满足两个标准：(1) 三份独立制备的 1 J 加标样品的平均浓度必须在 1 J 标准品实测浓度的 ±15% 以内；(2) 0.8 J 加标样品的平均浓度必须低于 1 J 标准品的实测浓度。

所有 24 种元素均满足两项接受标准。1 J 加标样品相对于 1 J 标准品的回收率范围为 88.6%–105.0%，完全在 ±15% 容差范围内。0.8 J 加标/1 J 比值范围为 76.9%–81.0%，证实了在标准限值下的可检测性（表 5）。

表 4. 八小时批次运行期间所有受监管元素在 1.5 J 下的 QC 稳定性

元素	RSD (%) (n = 7)	元素	RSD (%) (n = 7)
Li	1.25	Ag	1.56
V	1.15	Cd	1.49
Cr	0.83	Sn	1.27
Co	1.02	Sb	0.86
Ni	0.75	Ba	0.69
Cu	0.96	Os	0.73
As	0.64	Ir	0.60
Se	1.86	Pt	0.68
Mo	1.62	Au	2.25
Ru	2.56	Hg	0.93
Rh	1.38	Tl	0.48
Pd	1.97	Pb	0.52

精密度（重复性）

USP <233> 要求六份独立配制的 1 J 加标样品 (n = 6) RSD 不得超过 20%。如表 5 所示，所有 24 种元素的精密度结果均 ≤ 2% RSD (n = 6)，远优于可接受标准。

中间精密度

中间精密度通过合并两组各六份独立配制的 1 J 加标样品 (n = 12) 来评估，两组样品由不同分析人员在不同日期配制。ICH Q2(R2) 将中间精密度定义为实验室内通过不同日期、分析人员和设备等因素评估的变异性。所有元素的中间精密度结果均 ≤ 3.2% RSD (n = 12)（表 5），证实了该方法的耐用性，并为药物生命周期性能监测提供了稳健的基线。

表 5. 可检测性、精密度和中间精密度结果

元素	质量	1 J 值 (µg/L)	1 J 标准品 (µg/L)	1 J 加标 (µg/L)	回收率 (%)	0.8 J 加标 (µg/L)	0.8 J/1 J %	RSD% (n = 6)	RSD% (n = 12)
Li	7	220	218	210	96.3	168	80.0	0.99	2.38
V	51	40	39.9	39.3	98.5	31.4	79.9	0.89	0.68
Cr	52	4400	4368	4344	99.5	3443	79.3	0.93	1.33
Co	59	20	19.9	19.5	98.0	15.4	79.0	0.76	0.64
Ni	60	80	79.8	77.7	97.4	61.5	79.2	0.68	0.66
Cu	63	1200	1194	1172	98.2	924	78.8	1.17	1.09
As	75	6	6.03	6.05	100.3	4.75	78.5	1.05	1.40
Se	78	60	61.9	62.1	100.3	48.9	78.7	1.66	1.70
Mo	97	1200	1218	1194	98.0	954	79.9	1.30	1.63
Ru	101	40	40.8	38.6	94.6	30.8	79.8	1.05	1.35
Rh	103	40	41.2	38.9	94.4	31.5	81.0	1.03	1.78
Pd	105	40	39.9	38.5	96.5	29.6	76.9	1.91	2.68
Ag	107	60	63.9	56.6	88.6	43.5	76.9	1.88	2.51
Cd	111	2	2.06	1.94	94.2	1.56	80.4	1.17	2.15
Sn	118	2400	2448	2391	97.7	1901	79.5	1.13	1.55
Sb	121	480	490	485	99.0	388	80.0	1.05	1.44
Ba	137	560	573	557	97.2	444	79.7	1.23	1.71
Os	189	40	39.9	40.3	101.0	31.7	78.7	1.32	1.16
Ir	193	40	40.0	40.9	102.3	32.0	78.2	0.35	1.91
Pt	195	40	39.2	39.2	100.0	31.0	79.1	0.70	3.15
Au	197	120	119	125	105.0	100	80.0	0.72	1.27
Hg	202	12	12.0	12.2	101.7	9.60	78.7	0.54	1.20
Tl	205	3.2	3.18	3.20	100.6	2.52	78.8	0.66	0.72
Pb	208*	2	1.99	2.04	102.5	1.63	79.9	0.53	1.01

* 铅 (Pb) 使用 ICP-MS MassHunter 内置校正方程进行定量, 该方程对 ²⁰⁶Pb、²⁰⁷Pb 和 ²⁰⁸Pb 的信号求和。这种方法可补偿这些同位素因放射成因来源而产生的 Pb 同位素丰度自然变化, 确保无论样品或标准品中铅的地质来源如何, 都能准确测定总 Pb

特异性

根据 ICH Q2(R2), 特异性 (也称为选择性) 是指分析方法在可能存在其他组分 (包括样品基质、降解产物和其他分析物) 的情况下, 能够明确评估目标分析物的能力。对于 ICP-MS 而言, 其特异性源自其检测原理: 每种元素基于其独特的同位素质量数进行检测, 不会与其他元素直接重叠。常见的多原子离子干扰, 如 ⁴⁰Ar³⁵Cl⁺ 对 ⁷⁵As 的干扰和 ⁴⁰Ar⁴⁰Ar⁺ 对 ⁸⁰Se 的干扰, 可通过 ORS⁴ 碰撞池使用 He 池气体和 KED 有效消除。

He 模式是一种通用池模式, 大多数元素均可使用次级或定性同位素。这些定性同位素可进一步确认分析物身份和浓度, 满足 USP <233> 和 ICH Q2(R2) 对明确分析物评估的要求。几种元素的主同位素与定性同位素结果吻合良好 (表 6)。

表 6. 1.0 J 加标样品中选定元素的主同位素和定性同位素结果对比

元素	主同位素	浓度 (µg/L)	定性同位素	浓度 (µg/L)	一致性 (%)
Cu	63	1172	65	1169	99.7
Cr	52	4344	53	4323	99.5
Ba	137	557	135	564	101.2
Ir	193	40.9	191	40.4	98.7
Hg	202	12.2	200	12.2	100
			201	12.2	100

定量程序

准确度

通过测量三份独立配制的样品在 0.5、1.0 和 1.5 J 加标水平下的结果来验证定量程序的准确度。USP <233> 要求扣除未加标样品中已有元素后，每个浓度水平的加标回收率应在 70%–150% 范围内。

如图 2 所示，每种元素在每个加标水平（0.5、1.0 和 1.5 J）的回收率均在 90%–110% 范围内，远优于可接受标准。这一较窄的回收率范围轻松满足更严格的统计接受标准，同时证实

了 7850 ICP-MS 方法在 GLP-1 口服片剂基质的验证范围内具有出色的准确度和线性。

准确度测试同时验证了检出限 (LODs)、分析范围和线性。图 3 展示了一些元素的代表性校准曲线，包括 1 类元素 (As、Cd、Hg 和 Pb)、低浓度 2A 类元素 (Co、V 和 Ni) 以及三种 2B 类元素 (Pd、Os 和 Pt)。所有元素均实现了出色的线性，线性回归系数 > 0.999。背景等效浓度 (BECs) 和 LODs 均处于 ppt 级。

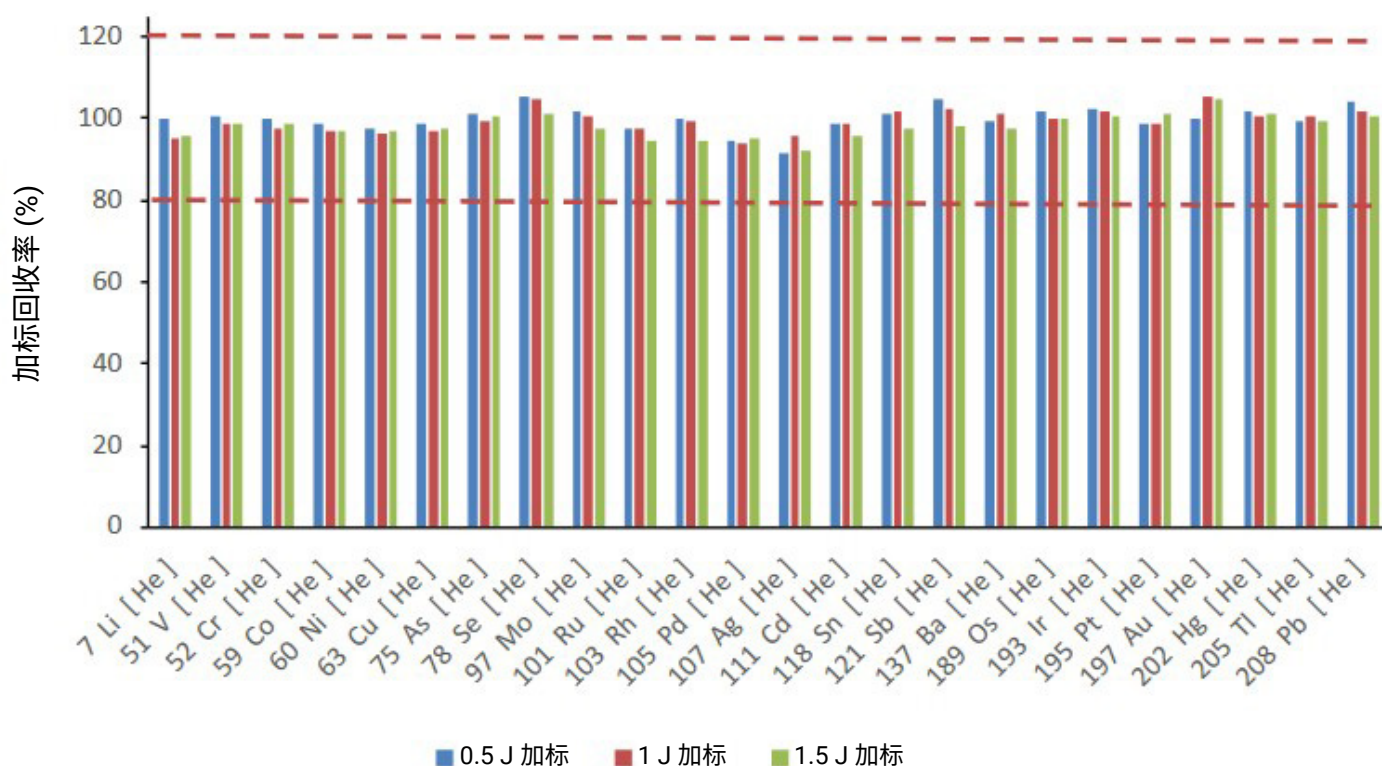


图 2. 三份独立样品中 0.5 J（蓝色）、1 J（红色）和 1.5 J（绿色）加标样品的回收率

As 和 Hg 的形态分析考虑因素

某些元素的毒性与其化学形态密切相关。在 ICH/USP 法规列出的分析物中，As 和 Hg 尤其值得关注。这两种元素的 PDE 限值均针对其无机形态，因为无机 As 毒性最强，而无机 Hg 被认为是药品材料中最可能存在的形态。

如果测得的总 As 浓度超过目标浓度，USP <232> 建议使用 LC-ICP-MS 进行形态分析，以独立定量无机 As。如果无机 As 低于限值，即使总 As 超过限值，该材料仍视为合规。如果测

试材料可能含有毒性更强的甲基汞（例如，原料来自海洋材料），则应确定 Hg 的形态。否则，通过测定总 Hg 来确认合规性。

在本研究中，样品空白中仅检出痕量 Li (0.23 ppb) 和 Ni (0.07 ppb)，其他所有元素均低于 IDLs。因此，无需对 As 和 Hg 进行形态分析。不过，如有需要，7850 ICP-MS 可轻松与安捷伦液相色谱系统联用，用于常规形态分析^[7]。

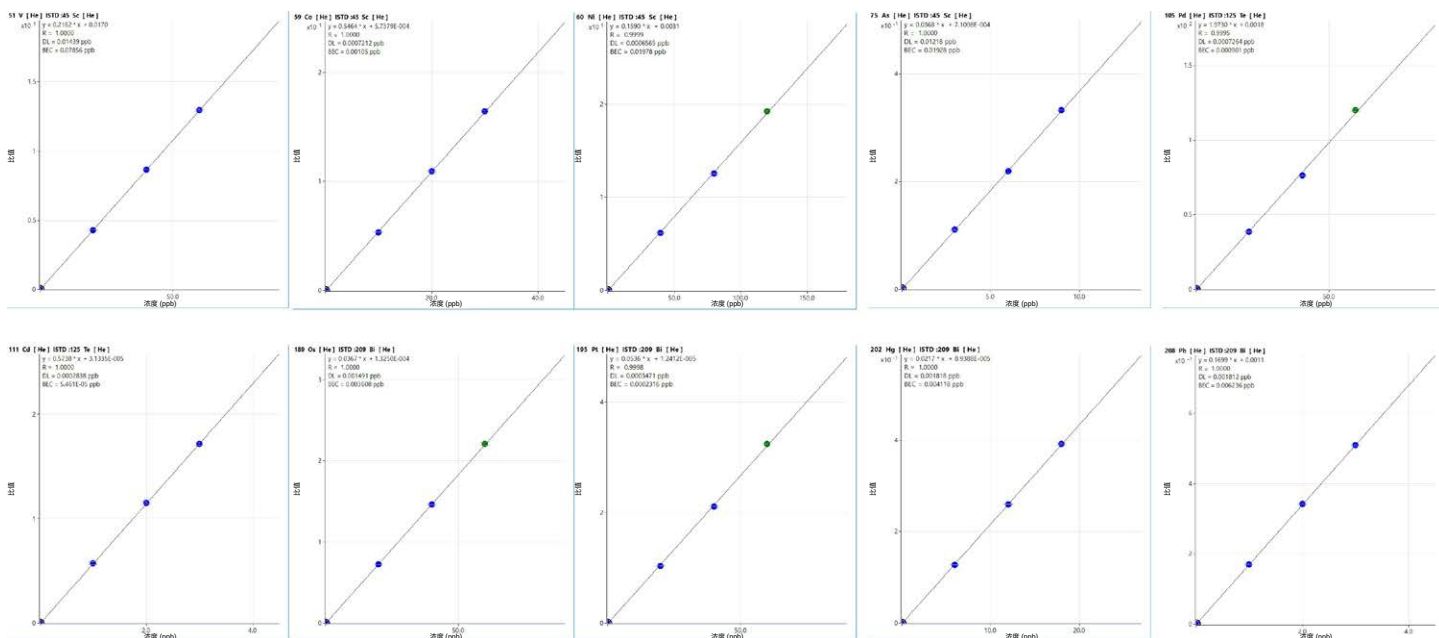


图 3. As、Cd、Hg、Pb、Co、Ni、Pd、Os 和 Pt 的校准曲线，展示了低定量限、良好的线性和宽定量范围

结论

本研究证明了 Agilent 7850 ICP-MS 适用于经微波消解法处理的 GLP-1 受体激动剂口服片剂样品中 24 种受监管元素杂质的鉴定和定量。仪器的 ORS⁴ 碰撞池在氦气模式下运行，可稳健、非特异性地减弱基质来源的多原子干扰。该方法成功满足 USP <232>/<233> 和 ICH Q3D(R2)/Q2(R2) 指南中规定的限度和准确度要求，无需针对特定元素优化方法，即可可靠地完成 GLP-1 片剂的多元素定量分析。

对于制药 QC 实验室，Agilent ICP-MS MassHunter 仪器控制软件有助于开发工作流程，减少建立合规分析方法所需的时间和精力。预置的 ICH/USP 方法模板、自动 J 值计算和内置系统适用性报告省去了手动配置步骤，使不同分析人员都能更轻松地使用该仪器。该软件还支持跨实验室方法转移。实验证实，7850 ICP-MS 可在八小时连续运行中保持信号稳定，可进一步支持常规生产 QC 环境中的高通量批次检测。

随着 ICH Q2(R2) 为肽类治疗药物（包括 GLP-1 受体激动剂）的分析方法验证提供了更清晰的指导，本应用简报提供了一种可随时用于监管申报的参考方法。该工作流程可直接采用或经调整后用于含活性肽成分的口服固体制剂型，有助于加快监管申报并缩短分析方法开发周期。

参考文献

1. International Council for Harmonisation (ICH). ICH Q3D(R2): Guideline for Elemental Impurities. Step 4, April 2022
2. United States Pharmacopeia General Chapter <232> Elemental Impurities—Limits. USP–NF. United States Pharmacopeial Convention, Rockville, MD, USA
3. United States Pharmacopeia Elemental Impurities — Procedures, General Chapter <233>, USP–NF. United States Pharmacopeial Convention, Rockville, MD, USA
4. International Council for Harmonisation. ICH Q2(R2): Validation of Analytical Procedures. Step 4, November 2023
5. United States Pharmacopeia Validation of Compendial Procedures, Chapter <1225>, USP–NF. United States Pharmacopeial Convention, Rockville, MD, USA
6. 八极杆碰撞/反应池和氦气模式，安捷伦出版物，[5994-1172ZHCN](#)
7. 满足不断增长的元素形态分析需求，安捷伦出版物，[5991-4269CHCN](#)

本应用中使用的产品

安捷伦产品

产品类型	描述	部件号
样品引入	MicroMist 玻璃同心雾化器 (U 系列)	G3266-80004
	石英炬管, 2.5 mm 中心管	G3280-80053
接口	标准 ICP-MS 采样锥, 镍尖, 带铜基座	G3280-67040
	标准镍截取锥	G3280-67041
管线工具包	蠕动泵管 (样品提升)	5005-0020
	蠕动泵管 (内标)	5005-0021
	废液泵管	5005-0022
标准品	ICH Q3D 和 USP 232 口服物质试剂盒_v2	5191-4553

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/chem/7850icpms

DE-015792

本文中的信息、说明和指标如有变更, 恕不另行通知。