

· 论著 ·

用电感耦合等离子体质谱法测定钆特酸葡胺注射液中游离 Gd^{3+} 的含量

王骐榕, 陈洁仪, 孙 渺, 陈玉平, 杨 峰 (海军军医大学药学院无机化学教研室, 上海 200433)

[摘要] 目的 建立测定钆特酸葡胺注射液中 Gd^{3+} 含量的方法。方法 电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)法。分离柱为金属螯合柱(1-ml Chelating Sepharose column), 柱温为常温, 流速为 1 ml/min, 进样量为 0.5 ml。ICP-MS 的相对分子质量为 157(Gd 的相对分子质量为 157), 载气为氩气。结果 回归方程为: $Y=0.001\ 635X+0.000\ 000E+000$ (经过原点), $r=1.000$ 。线性范围为 0~500 $\mu\text{g/L}$; 仪器精密度、稳定性、重复性、加样回收率试验结果均符合要求。结论 该方法操作简便、结果准确、重复性好, 可用于测定钆特酸葡胺注射液中 Gd^{3+} 的含量。

[关键词] 电感耦合等离子体质谱法; 钆特酸葡胺注射液; Gd^{3+} ; 含量测定

[中图分类号] R284.1

[文献标志码] A

[文章编号] 1006-0111(2020)02-0124-05

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.201908132

Determination of the content of Gd^{3+} in gadoteric acid meglumine salt injection by ICP-MS method

WANG Qirong, CHEN Jieyi, SUN Miao, CHEN Yuping, YANG Feng (Department of Inorganic Chemistry, School of Pharmacy, Naval Medical University, Shanghai 200433, China)

[Abstract] **Objective** To establish a method for determining the content of Gd^{3+} in gadoteric acid meglumine salt injection. **Methods** ICP-MS was used. The separation column was a metal chelate column (1-ml Chelating Sepharose column), column temperature was normal temperature. Flow rate was 1 ml/min. Injection volume was 500 μl . Atoms were measured by ICP-MS with a molecular weight of 157 (The molecular weight of Gd was 157). The carrier gas was argon. **Results** The linear range of Gd^{3+} mass concentration was 0-500 ng/ml ($r=1.000$); The precision, stability and repeatability of the sample recovery test were all in accordance with the requirements. **Conclusion** The method was simple in operation, accurate in results and good in repeatability, which could be used to determine the content of Gd^{3+} in gadoteric acid meglumine salt injection.

[Key words] ICP-MS; gadoteric acid meglumine salt injection; Gd^{3+} ; content determination

钆特酸葡胺注射液是一种临床上常用的含钆增强磁共振对比剂。钆对比剂按照钆离子结合配体的结构不同, 可将其分为线性类和大环类两类, 钆特酸葡胺注射液中钆属于大环类钆对比剂。钆对比剂具有很强的亲水性, 理论上不能进入细胞内, 且无特殊靶器官。通过静注后短时间内分布到全身血液系统, 并很快达到平衡期, 可在 1 d 内以原型的形式全部排出体外, 理论上在人体内无残留。近年来研究表明, 反复使用钆对比剂的患者, 其脑部会出现不同程度的钆对比剂沉积现象, 并且其脑深部核团的 MRI 扫描信号也会随之发生改

变^[1-3]。同时, 使用不同类型的钆对比剂所造成的钆对比剂脑沉积的程度也有所不同^[4-5]。曾经反复使用过线状钆对比剂的患者, 可在其头颅 MR 扫描中观察到明显的信号改变。而曾经多次使用过大环状钆对比剂的患者, 在脑中却未观察到明显的钆对比剂沉积现象^[6]。在此基础上, 美国食品药品监督管理局发布通告, 要求医疗人员重新评估使用钆对比剂的条件^[7]。同时, 欧洲药品管理局也停止了对几种线性钆对比剂的市场授权^[8]。2017年, 我国食品药品监督管理局也发布通告提示关注含钆对比剂反复使用引起脑部钆沉积的风险^[9-10]。研究表明, 钆对比剂中游离 Gd^{3+} 的含量与钆对比剂的脑沉积现象密切相关^[4-5], 但目前无论在体内或者体外环境中定量测定钆对比剂中游离 Gd^{3+} 含量的方法尚不成熟。因此, 笔者通过反复试验并查阅相关资料, 建立了一种新的体外环境测定钆对比剂中游离 Gd^{3+} 含量的方法。

[基金项目] 海军军医大学本科学员创新能力孵化基地项目 (FH2018078)

[作者简介] 王骐榕, 硕士研究生, Tel: 18616274302, Email: 356918956@qq.com

[通讯作者] 杨 峰, 博士, 教授, 研究方向: 控缓释及靶向药物制剂研究, Email: yangfeng1008@126.com

1 材料

1.1 仪器

AKTA 蛋白纯化仪、自动进样器(美国 GE 公司); ICP-MS 8800(Agilent technologies); 分离柱(1-ml Chelating Sepharose column GE)。

1.2 药品与试剂

钆特酸葡胺注射液 0.5 mol/L, 含钆特酸葡胺 377 g/L。(批号: 170923BC、170924BC、170925BC, 江苏恒瑞医药股份有限公司); Gd 标准对照品溶液(标准值 1 000 mg/L, 批号: GSB 04-1780-2004, 国家有色金属及电子材料分析测试中心); 六水合硝酸钆(浓度 99.99%); 去离子水(18.2 M Ω , 自制); 内标溶液: 20 mg/L 的⁶Li、⁴⁵Sc、⁸⁹Y、¹¹⁵In、²⁰⁹Pb 混合溶液(2% 硝酸介质, Accu Standard, USA)。其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 条件与系统适应性

2.1.1 分离条件

分离柱为金属螯合柱(1-ml Chelating Sepharose column), 常温下, A 液为 10 mmol/L 的双(2-羟乙基)氨基(三羟甲基)甲烷(BIS-TRIS)溶液, B 液为 50 mmol/L 的 EDTA 溶液。流速为 1 ml/min, 平衡系统后, 进样 500 μ l, 先用 100% 的 A 液冲洗 10 min (10 倍柱体积), 再用 100% 的 B 液冲洗 20 min (20 倍柱体积), 得到分离后的样品。

2.1.2 ICP-MS 条件

载气为氦气, 射频功率 1 350 W, 冷却气流量: 13 L/min; 辅助气流量: 0.80 L/min; 雾化器氦气流量: 0.88 L/min。采用内标法做定量分析, 将“2.1.1”项分离得到的样品稀释 10 倍后, 用过蠕动泵进样, 样品提升速度为 0.2 r/min, 时间 45 s, 样品平衡速度 0.1 r/min, 时间 35 s。ICP-MS 的相对分子质量为 157。

2.2 溶液的制备

2.2.1 标准钆对照品溶液

精密量取标准钆对照品 1 ml, 置 50 ml 容量瓶中, 加 0.5% 的稀硝酸稀释至刻度, 摇匀即得 20 mg/L 标准对照品储备液。

2.2.2 供试品溶液

精密量取钆特酸葡胺注射液 1 ml, 置于 50 ml 量瓶中, 加去离子水稀释至刻度, 摇匀, 即得 10 mmol/L 样品储备液。

2.2.3 pH 中性对照品溶液

取六水合硝酸钆(99.99%)0.45 g, 精密称量, 置于 1 000 ml 容量瓶中, 加去离子水稀释至刻度, 摇

匀得到 1 mmol/L 的中性对照品储备液。

2.2.4 混合对照溶液

精密吸取“2.2.3”项下对照品储备液 1.0 ml, 置于 10 ml 量瓶中, 再精密吸取“2.2.2”供试品储备液 1 ml, 用去离子水稀释至刻度, 摇匀。得到 1 mmol/L 供试品(Gd 配合物)+0.1 mmol/L 中性对照品混合溶液(Gd³⁺)。

2.3 方法专属性考察

精密吸取“2.2.3”中性对照品储备液 1.0 ml, 置于 10 ml 量瓶中, 用去离子水稀释至刻度, 摇匀, 得到 0.1 mmol/L 的中性对照品溶液(Gd³⁺)。精密吸取 1 ml 上述稀释后的中性对照品储备液得到样本 1。精密吸取“2.2.2”供试品储备液 1.0 ml, 置于 10 ml 量瓶中, 用去离子水稀释至刻度, 摇匀, 得到 1 mmol/L 的供试品溶液(Gd 配合物)。精密吸取 1 ml 上述稀释后的供试品储备液得到样本 2。取“2.2.4”项下溶液 1 ml, 作为样本 3。将样本 1、2、3 分别稀释 10 倍后, 照“2.1.1”项下分离条件分离供试品, 并间隔 2 min 收取 1 管分离后的供试品。得到 3 批、共 45 管分离后的供试品。将分离后的供试品按照“2.1.2”项下 ICP-MS 条件测量其浓度变化, 结果见图 1。混合对照品质谱中, 有两个保留时间的质谱峰, 分别对应对照品质谱和供试品质谱相应的位置上的质谱峰, 而两个质谱峰之间无干扰。

2.4 线性关系考察

精密吸取“2.2.1”项下标准对照品储备液 0.5、1.25、2.5 ml, 加入到 100 ml 容量瓶中。用 0.5% 的稀硝酸稀释至刻度线, 摇匀。得到理论浓度为 100、250、500 μ g/L 的标准对照品溶液。再分别取浓度为 500 和 250 μ g/L 的溶液 5 ml 置于 50 ml 容量瓶中, 用 0.5% 的稀硝酸稀释至刻度线, 摇匀。得到理论浓度为 25、50、100、250、500 μ g/L 的标准对照品溶液, 按上述 ICP-MS 条件进样测定, 以对照品浓度为横坐标(X , μ g/L), 对照品峰面积为纵坐标(Y), 绘制标准曲线。回归方程: $Y=0.001\ 635X+0.000\ 000E+000$ (经过原点), $r=1.000$ 。结果表明 Gd 元素浓度在 0~500 μ g/L 浓度范围内线性关系良好。

2.5 精密度试验

精密吸取“2.2.1”项下标准对照品储备液 0.2 ml, 用 0.5% 硝酸稀释至 40 ml, 摇匀。按上述 ICP-MS 条件进样测定, 连续操作 5 次, 测得钆浓度。结果表明, 观察峰面积的 RSD <10%($n=5$), 表明仪器精密度良好。结果见表 1。

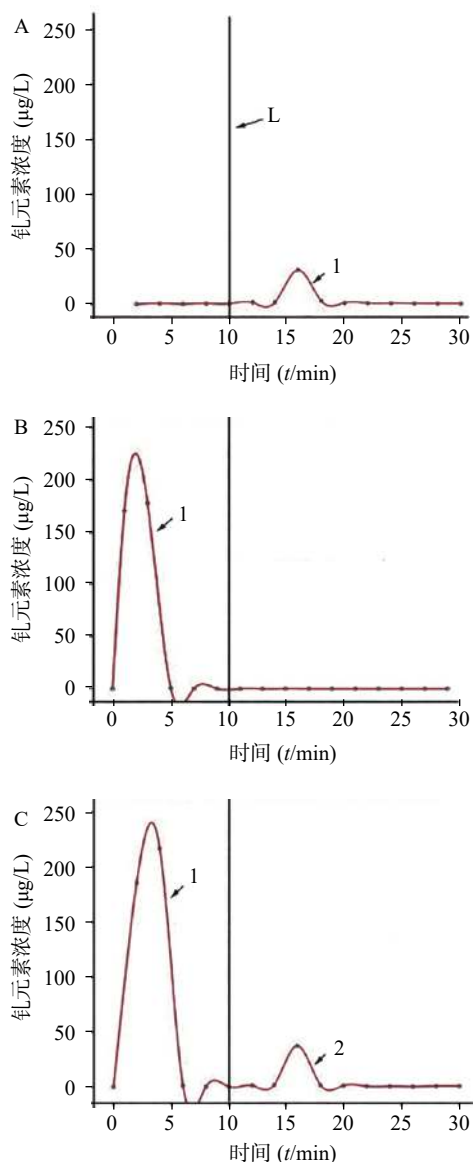


图1 方法专属性考察曲线

A.对照品; B.供试品; C.对照品供试品混合物; 1.配合物峰; 2.离子峰; L.10 min时流动性由A液转换为B液。

表1 钆特酸葡胺注射液精密度试验结果

样品编号	测得Gd浓度(µg/L)	峰面积RSD(%)
1	94.92	2.69
2	98.24	1.69
3	95.43	2.46
4	104.91	4.08
5	90.56	3.13

2.6 稳定性试验

取“2.2.4”项下同一供试品溶液适量,稀释10倍后,按“2.1.1”项下条件进行分离,分别取分离后前10 min和后20 min的溶液,编号为a液和b液。分别精密量取a液、b液各5份,于室温下放置0、2、4、6、12 h,按“2.1.2”项下的条件进样测

定。结果显示,a液的RSD为1.826%($n=5$), $RSD < 2\%$ 表明分离后的钆配合物12 h内稳定性良好。b液的RSD为1.911%($n=5$),表明分离后的钆与EDTA螯合物在12 h内稳定性良好(表2)。

表2 钆特酸葡胺注射液稳定性试验结果($n=5$)

室温下放置时间(t/h)	测得Gd浓度(µg/L)	
	a液	b液
0	81.18	4.08
2	83.14	4.17
4	81.05	4.11
6	80.41	3.97
12	79.05	4.02

2.7 重复性试验

取同一批样品(批号:170923BC),精密量取适量,按照“2.2.4”项下方法配成混合溶液适量,稀释10倍后,按“2.1.1”项下条件进行分离,分别取分离后前10 min和后20 min的溶液,编号为a液和b液。分别按“1.1.2”项下条件进样测定。计算混合溶液中 Gd^{3+} 的实际含量。同法操作重复5次。结果表明,混合溶液中 Gd^{3+} 的实测含量RSD为1.998%($n=5$), $RSD < 2\%$ ($n=5$)表明本方法重复性良好,结果见表3。

表3 钆特酸葡胺注射液重复性试验结果($n=5$, mmol/L)

样品编号	Gd^{3+} 的理论含量	Gd^{3+} 的实测含量
1	0.1	0.104
2	0.1	0.106
3	0.1	0.105
4	0.1	0.101
5	0.1	0.102

2.8 检测限测定

用空白对照溶液(去离子水),按“2.1.2”项下ICP-MS条件进样测定,连续操作8次,分别测得钆浓度。计算其平均浓度,检测限=测得空白对照的平均浓度 $\times 3$,测得结果为0.223 µg/L。

2.9 定量限测定

用空白对照溶液(0.5%的硝酸),按“2.1.2”项下ICP-MS条件进样测定,连续操作8次,分别测得钆浓度。计算其平均浓度,定量限=测得空白对照的平均浓度 $\times 10$,测得结果为:0.7443 µg/L。

2.10 加样回收率试验

精密量取已知含量的钆特酸葡胺注射液(批号:170923BC)4份,按照“2.2.2”方法配得10 mmol/L

的样品溶液,精密量取 1 ml 样品溶液置 10 ml 容量瓶中,用 0.5% 的硝酸定容,摇匀,得到 1 mmol/L 的样品溶液。精密量取 1 ml 稀释后的样品,用 0.5% 的硝酸再稀释到 30 ml。得到 5.23 mg/L 的样品溶液,称其为①液。精密量取 1 ml 对照品溶液 (1 g/L) 置 50 ml 容量瓶中,用 0.5% 的硝酸定容,摇匀。同样精密量取 5 ml 稀释后的对照品溶液,用 0.5% 的硝酸稀释至 20 ml,得到 5 mg/L 的对照品

溶液,称为②液。精密量取 2 ml ①液置 50 ml 容量瓶中,用 0.5% 的硝酸定容,摇匀,得到样品液 A。分别精密量取 1 ml ①液和 1 ml ②液置 50 ml 容量瓶中,用 0.5% 的硝酸定容,摇匀,得到样品液 B。得到的两份溶液分别按“2.1.2”项下条件,进样测定并计算加样回收率,反复 4 次上述步骤。加样回收率=(加样试样测定值-加样测定值)/加样量×100%。计算平均加样回收率,结果见表 4。

表 4 加样回收率试验结果 (n=4)

样品理论钆含量 (m/mg)	标准品理论钆含量 (m/mg)	样品钆含量 (m/mg)	混合溶液钆含量 (m/mg)	加样回收率 (%)	平均加样回收率 (%)	RSD (%)
104.7	100	209.23	197.74	93.13	93.19	1.9
104.7	100	215.99	199.24	91.24		
104.7	100	206.47	196.02	92.78		
104.7	100	220.80	206.01	95.61		

2.11 含量测定

取 3 批精密量取已知含量的钆特酸葡胺注射液,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下条件测定,通过回归方程计算,结果见表 5。

表 5 钆特酸葡胺注射液 Gd³⁺含量测定结果 (n=3)

批号	含量(mg/L)	RSD(%)
20160901	2.63	1.53
20160902	2.60	1.15
20160903	2.64	1.36

3 讨论

文献 [11] 报道,采用 HPLC-ICP-MS 联用,以硝酸作为洗脱液的方法测定钆特酸葡胺注射液中 Gd³⁺的含量。经查阅相关资料,其选用的金属螯合柱实际为低压柱,无法承受高效液相的压力,并且硝酸的洗脱效率较 EDTA 要低得多,还具有腐蚀性,对于 ICP-MS 仪器有一定的损害,因此,该文献所报道方法无法验证。根据配位化学原理,EDTA 对 Gd³⁺有很强的螯合性,能快速形成稳定配合物,故笔者选用 EDTA 作为洗脱流动相,结果表明,此法可迅速将螯合柱上的 Gd³⁺完全洗脱。因为自然界中 Gd 元素含量稀少,所以本实验运用 ICP-MS 时受外界干扰小,实验结果可靠。

本实验建立的测定钆特酸葡胺注射液中 Gd³⁺含量的方法操作简便、结果准确、重现性好。研究表明不同批次钆特酸葡胺注射液样品中 Gd³⁺含量变化较小,质量稳定可控。综上所述,此方法可作为测定钆特酸葡胺注射液中 Gd³⁺含量的

方法。

【参考文献】

- [1] KANDA T, ISHII K, KAWAGUCHI H, et al. High signal intensity in the dentate nucleus and globus pallidus on unenhanced T1-weighted MR images: relationship with increasing cumulative dose of a gadolinium-based contrast material[J]. *Radiology*, 2014, 270(3): 834-841.
- [2] ROBERTS D R, HOLDEN K R. Progressive increase of T1 signal intensity in the dentate nucleus and globus pallidus on unenhanced T1-weighted MR images in the pediatric brain exposed to multiple doses of gadolinium contrast[J]. *Brain Dev*, 2016, 38(3): 331-336.
- [3] RADBRUCH A, WEBERLING L D, KIESLICH P J, et al. Gadolinium retention in the dentate nucleus and globus pallidus is dependent on the class of contrast agent[J]. *Radiology*, 2015, 275(3): 783-791.
- [4] ROBERT P, LEHERICY S, GRAND S, et al. T1-weighted hypersignal in the deep cerebellar nuclei after repeated administrations of gadolinium-based contrast agents in healthy rats: difference between linear and macrocyclic agents[J]. *Invest Radiol*, 2015, 50(8): 473-480.
- [5] ROBERT P, VIOLAS X, GRAND S, et al. Linear gadolinium-based contrast agents are associated with brain gadolinium retention in healthy rats[J]. *Invest Radiol*, 2016, 51(2): 73-82.
- [6] LOHRKE J, FRISK A L, FRENZEL T, et al. Histology and gadolinium distribution in the rodent brain after the administration of cumulative high doses of linear and macrocyclic gadolinium-based contrast agents[J]. *Invest Radiol*, 2017, 52(6): 324-333.
- [7] FDA. Gadolinium-based contrast agents for magnetic resonance imaging (MRI): drug safety communication—FDA evaluating the risk of brain deposits with repeated use[EB/OL]. (2017-05-23)[2019-08-13] <https://www.fda.gov/safety/med->

[watch/safetyinformation/safetyalertsforhumanmedicalproducts/ucm456012.htm](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Press_release/2017/03/WC500223209).

- [8] E M Agency. PRAC concludes assessment of gadolinium agents used in body scans and recommends regulatory actions, including suspension for some marketing authorisations. pdf[EB/OL]. (2017-03-10)[2019-08-13] http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Press_release/2017/03/WC500223209.
- [9] 食药监总局. 总局提示关注含钆对比剂反复使用引起脑部钆沉积的风险[EB/OL].(2017-12-06)[2019-08-13].<http://samr.cfda.gov.cn/WS01/CL0050/218164.html>
- [10] 食药监总局. 药品不良反应信息通报(第76期) 关注含钆对比剂反复使用引起脑部钆沉积风险[EB/OL]. (2017-12-06) [2019-08-13]. <http://samr.cfda.gov.cn/WS01/CL1989/218163.html>
- [11] FRENZEL T, LENGSELD P, SCHIRMER H, et al. Stability of gadolinium-based magnetic resonance imaging contrast agents in human serum at 37 degrees C[J]. *Invest Radiol*, 2008, 43(12): 817-828.
[收稿日期] 2019-08-30 [修回日期] 2019-12-08
[本文编辑] 李睿旻
-
- (上接第 123 页)
- [8] 唐晓萌. 基于两步释放的术连微丸口服结肠靶向胶囊的研制及体内外评价[D]. 上海: 海军军医大学, 2019.
- [9] 王丹. 微透析液相色谱联用的构建及在经皮药动学研究的应用[D]. 上海: 第二军医大学, 2009.
- [10] UNGERSTEDT U, PYCOCK C. Functional correlates of dopamine neurotransmission[J]. *Bull Schweiz Akad Med Wiss*, 1974, 30(1-3): 44-55.
- [11] LÖNNROTH P, JANSSON P A, SMITH U. A microdialysis method allowing characterization of intercellular water space in humans[J]. *Am J Physiol*, 1987, 253(2 Pt 1): E228-E231.
- [12] MÜLLER M. Science, medicine, and the future: microdialysis[J]. *BMJ*, 2002, 324(7337): 588-591.
- [13] MÜLLER M. Monitoring tissue drug levels by clinical microdialysis[J]. *Altern Lab Anim*, 2009, 37(Suppl 1): 57-59.
- [14] MULLER M. Microdialysis in clinical drug delivery studies[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2000, 45(2-3): 255-269.
- [15] STAHL M, BOUW R, JACKSON A, et al. Human microdialysis[J]. *Curr Pharm Biotechnol*, 2002, 3(2): 165-178.
- [16] SCHMIDT S, BANKS R, KUMAR V, et al. Clinical microdialysis in skin and soft tissues: an update[J]. *J Clin Pharmacol*, 2008, 48(3): 351-364.
- [17] HÖCHT C, OPEZZO J A, BRAMUGLIA G F, et al. Application of microdialysis in clinical pharmacology[J]. *Curr Clin Pharmacol*, 2006, 1(2): 163-183.
- [18] FULMER B R, TURNER T T. A blood-prostate barrier restricts cell and molecular movement across the rat ventral prostate epithelium[J]. *J Urol*, 2000, 163(5): 1591-1594.
- [19] LIU Y L, YI S H, ZHANG J L, et al. Effect of microbubble-enhanced ultrasound on prostate permeability: a potential therapeutic method for prostate disease[J]. *Urology*, 2013, 81(4): 921.e1-921.e7.
- [20] SHANG Y, CUI D, YI S. Opening tight junctions may be key to opening the blood-prostate barrier[J]. *Med Sci Monit*, 2014, 20: 2504-2507.
- [21] PERLETTI G, WAGENLEHNER F M, NABER K G, et al. Enhanced distribution of fourth-generation fluoroquinolones in prostatic tissue[J]. *Int J Antimicrob Agents*, 2009, 33(3): 206-210.
- [22] LEIBOVITZ A, BAUMOEHL Y, SEGAL R. Increased incidence of pathological and clinical prostate cancer with age: age related alterations of local immune surveillance[J]. *J Urol*, 2004, 172(2): 435-437.
- [23] LIU Y L, LIU Z, LI T, et al. Ultrasonic sonoporation can enhance the prostate permeability[J]. *Med Hypotheses*, 2010, 74(3): 449-451.
- [24] 唐红艳. 基于微透析技术研究雪上一枝蒿不同制剂经皮药动学[D]. 贵阳: 贵阳中医学院, 2017.
[收稿日期] 2019-10-15 [修回日期] 2019-12-27
[本文编辑] 李睿旻