

辅酶 Q10 在正己烷溶液中的稳定性研究

王 维, 梅云云, 阎 柯, 周建仁, 何 州

杭州华东医药集团康润制药有限公司, 浙江 安吉 313301

摘 要: **目的** 考察辅酶 Q10 在其异构体检测配制的正己烷溶液中的稳定性情况。**方法** 参考《美国药典》、《欧洲药典》、《中国药典》2010 年版等法定标准要求的辅酶 Q10 原料异构体检测方法, 最终采用《中国药典》方法, 选取 5 批, 3 个不同来源的辅酶 Q10 产品, 分别将异构体检测溶液置于棕色量瓶和透明量瓶中, 放置 0、3、5 h, 对比异构体检测 HPLC 图谱各杂质峰面积归一化百分比的变化情况。**结果** 该研究通过一系列试验证实了异构体检测溶液在存放过程会发生降解, 从而导致检测结果的偏差。**结论** 辅酶 Q10 异构体检测样品溶液配制必须临用新配, 避光操作。

关键词: 辅酶 Q10; 异构体 (2Z)-异构体; HPLC; 稳定性

中图分类号: R917 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2014)05-0424-03

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2014.05.010

Study on stability of coenzyme Q10 in *n*-hexane solution

WANG Wei, MEI Yun-yun, YAN Ke, ZHOU Jian-ren, HE Zhou

Hangzhou Huadong Medicine Group Kangrun Pharmaceutical Co., Ltd., Anji 313301, China

Abstract: Objective To study the stability of coenzyme Q10 (CoQ10) in the isomer test solution. **Methods** Based on the CoQ10 isomer test method in USP, EP, and *Chinese Pharmacopoeia 2010* (ChP2010), the method in ChP2010 is finally used. Five batches of CoQ10 products from three different sources were selected. and the difference of chromatogram area percentage on different storage conditions (brown and transparent flasks) and different storage time (0, 3, and 5 h) were compared. **Conclusion** This study proves that CoQ10 is gradually decomposed in isomer test solution by testing campaign, which results in the deviation of detection. The test solution must be prepared before use and operated away from light.

Key words: coenzyme Q10 (CoQ10); isomer (2Z-isomer); HPLC; stability

辅酶是生物体内广泛存在的脂溶性醌类化合物,在人体呼吸链中质子移位及电子传递中起重要作用,可作为细胞代谢和细胞呼吸激活剂,并是重要的抗氧化剂和非特异性免疫增强剂,具有抗心肌缺血、抗心衰、抗心律失常、提高人体免疫力、增强抗氧化、延缓衰老和增强人体活力等功能。在欧美国家,辅酶 Q10 广泛应用在非处方药和保健食品中。在《美国药典》(USP)中辅酶 Q10 被收录为膳食补充剂类产品。辅酶 Q10 作为常规品种,分别被《欧洲药典》(EP)、《日本药典》(JP)、《英国药典》(BP)、《中国药典》2010 年版(ChP2010)等多国药典收录。除《日本药典》外,《美国药典》、《欧洲药典》、《英国药典》、《中国药典》2010 年版都收录了辅酶 Q10 异构体检测项目。《美国药典》检测项目为有关物质项下测试 2, 癸稀醌 (2Z)-异构体和相关杂质;《欧洲药典》和《英国药典》测试项目为有关物质项下,杂质 F 测试;《中国药典》2010 年版测试项目为检查项下,异构体

测试。各药典的关于异构体测试的色谱条件见表 1;样品处理方法各药典要求基本一致,即样品加正己烷溶解配置成约 1.0 mg/mL 的溶液,要求避光操作。各国药典均未提及样品溶液临用新配;关于辅酶 Q10 异构体检测过程溶液降解有关的文献报道也较少,本文通过一系列试验证实了异构体检测溶液在存放过程会发生降解,从而导致检测结果的偏差。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

辅酶 Q10 (杭州华东医药集团康润制药有限公司,生产批号 COQ-140367、COQ-140369;神舟生物科技有限公司,生产批号 SZFQ140201、SZFQ140202;新昌制药有限公司,生产批号 0908105);正己烷(色谱纯,默克公司);醋酸乙酯(色谱纯,默克公司);

Agilent 1200 高效液相色谱仪(四元泵,紫外检测器,自动进样器,柱温箱);Agilent 1260 高效液相色谱仪(四元泵,紫外检测器,自动进样器,柱

收稿日期: 2014-06-18

作者简介: 王 维(1980—),男,河南商城人,工程师,研究方向为天然产物提取分离,药物分析,质量管理。E-mail: anyk.wang@qq.com

表1 各药典关于异构体测试的色谱条件
Table 1 CoQ10 isomer test conditions from different pharmacopoeia

药典名称/测试项目	色谱条件			
	流动相	检测波长	色谱柱	体积流量
USP/2Z-异构体	正己烷-醋酸乙酯 (97:3)	275 nm	硅胶 (L3) 填料 250 mm×4.6 mm	2.0 mL/min
EP/杂质 F	正己烷-醋酸乙酯 (97:3)	275 nm	硅胶填料 250 mm×4.6 mm×7 μm	2.0 mL/min
BP/杂质 F	正己烷-醋酸乙酯 (97:3)	275 nm	硅胶填料 250 mm×4.6 mm×7 μm	2.0 mL/min
ChP2010/异构体	正己烷-醋酸乙酯 (97:3)	275 nm	硅胶填料 250 mm×4.6 mm×5 μm	2.0 mL/min

温箱); 100 mL 棕色量瓶, 100 mL 透明量瓶。

1.2 方法

1.2.1 供试品溶液的制备 精密称定辅酶 Q10 产品每批各 100 mg 分别置于棕色量瓶和透明量瓶中, 加正己烷约 50 mL 震荡溶解, 全溶后加正己烷定容至刻度。

用注射器分别抽取各批号新配好的棕色瓶和透明瓶溶液各 1.5 mL 左右注入棕色进样小瓶中, 记录为 0 h 供试品溶液。

将剩余的供试品溶液配制好的样品置于室温条件, 日光灯下放置 3 h, 用注射器分别抽取各批号新配好的棕色瓶和透明瓶溶液各 1.5 mL 左右注入棕色进样小瓶中, 记录为 3 h 供试品溶液。

剩余供试品溶液继续放置至 5 h, 用注射器分别抽取各批号新配好的棕色瓶和透明瓶溶液各 1.5 mL 左右注入棕色进样小瓶中, 记录为 5 h 供试品溶液。

1.2.2 色谱条件 参照《中国药典》2010 年版辅酶 Q10 产品项下异构体检测条件要求, 色谱柱为汉邦 Lichrospher™ Si 硅胶柱 (4.6 mm×250 mm, 5 μm), 流动相为正己烷-醋酸乙酯 (97:3), 体积流量 2.0 mL/min, 检测波长 275 nm, 进样量为 20 μL, 记录色谱图至主成分峰保留时间的约 4 倍 (40 min)。辅酶 Q10 异构体检测的 HPLC 色谱图见图 1。

2 结果与分析

2.1 不同来源的辅酶 Q10 异构体检测图谱和杂质情况比较

根据表 2 统计结果, 3 种不同来源的辅酶 Q10 产品相对保留时间 (RRT) 小于 1.0 的几个杂质均存在, 其主要差异在于 RRT 大于 1.0 处的几个杂质。根据《中国药典》2010 年版有关内容描述, 辅酶 Q10 保留时间约为 10 min, 异构体峰相对保留时间约为 0.9, 3 种不同来源的辅酶 Q10 产品中均存在 RRT=0.90 杂质, 即 3 种不同来源的辅酶 Q10 产品中均存在辅酶 Q10 异构体。

2.2 辅酶 Q10 正己烷溶液不同存放时间和不同存放条件的 HPLC 图谱变化情况

不同存放条件, 不同存放时间辅酶 Q10 正己烷

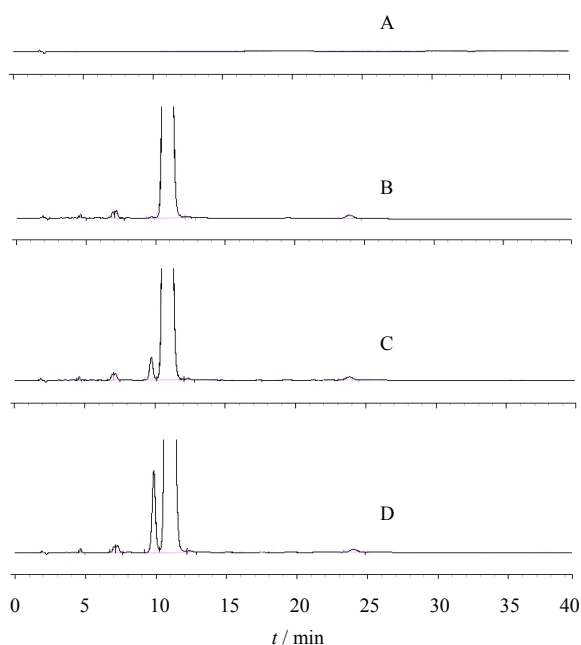


图1 空白溶剂和供试品溶液 (0、3、5 h) 色谱图
Fig. 1 Chromatogram of blank and test solution (0, 3, 5 h)

表2 不同来源辅酶 Q10 产品异构体杂质

Table 2 Isomer impurities in CoQ10 products from different sources

RRT	康润	神舟	新昌
0.42	*	*	*
0.64	*	*	*
0.66	*	*	*
0.90	*	*	*
1.00	*	*	*
1.14	*	—	—
1.18	—	*	*
1.25	—	—	*
2.17	*	—	—

“*” 标示存在该杂质; “—” 标示不存在该杂质

*- impurities exist; -- impurities not exist

溶液典型的 HPLC 图谱见图 1。

2.3 辅酶 Q10 正己烷溶液中异构体变化情况

不同来源的几批产品配制的异构体检测溶液分别存放于棕色量瓶和透明量瓶, 0、3、5 h 异构体峰面积归一化百分比变化情况见表 3。

2.4 辅酶 Q10 正己烷溶液中辅酶 Q10 主峰变化情况

不同来源的几批产品配制的异构体检测溶液分

别存放于棕色容量瓶和透明容量瓶, 0、3、5 h 主峰变化情况见图 2。

表 3 辅酶 Q10 的正己烷溶液不同时间和条件的 HPLC 峰面积归一化结果
Table 3 HPLC area percentage of CoQ10 in *n*-hexane from different time and conditions

产品批号	透明量瓶			棕色量瓶		$\bar{x}$	S
	0 h	3 h	5 h	3 h	5 h		
CQ-140367	0.018	0.86	1.183	0.331	0.449	0.568	0.457
CQ-140369	0.018	0.808	1.089	0.231	0.303	0.490	0.443
SZFQ140201	0.019	1.51	2.35	0.64	1.06	1.116	0.882
SZFQ140202	0.022	1.50	2.47	0.66	1.12	1.154	0.919
0908105	0.015	1.43	2.26	0.37	0.59	0.933	0.906

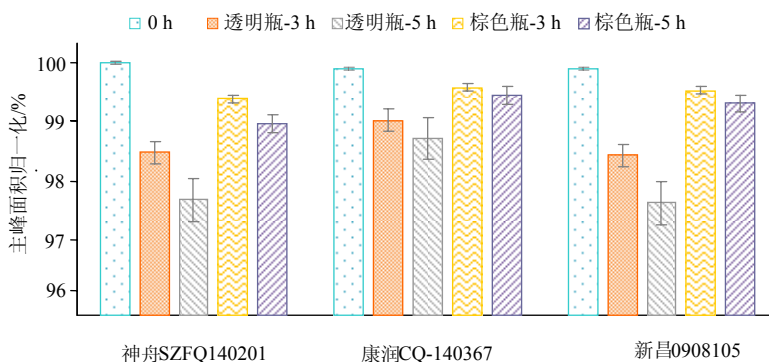


图 2 不同来源辅酶 Q10 主峰面积归一化百分比变化情况

Fig. 2 Changes of HPLC main peak area percentage of CoQ10 from different sources

2.5 避光条件下辅酶 Q10 在正己烷溶液中的稳定性

按上述 1.2 供试品制备方法分别用棕色量瓶和透明量瓶取制备 1 批 (CQ-140367) 供试品溶液, 并装在黑色塑料袋中, 置于室温条件下密闭的瓦楞纸箱中, 分别在 0、5 h 和放置过夜时间点取样, 按照 1.2.2 色谱条件 HPLC 检测。不同时间点 HPLC 图谱显示主峰面积归一化百分比和异构体峰面积归一化百分比未发生明显变化。

3 分析与讨论

综合上表 3 和图 2 统计结果, $RRT=0.90$ 杂质峰面积归一化百分比变化明显, 除 $RRT=0.90$ 杂质峰和主峰面积归一化百分比变化较大外, 其他杂质峰面积归一化百分比几乎未发生变化。在正己烷溶液中辅酶 Q10 主要降解产物是辅酶 Q10 异构体。辅酶 Q10 的正己烷溶液在棕色量瓶中转换为异构体的速度远低于在透明量瓶中的转换速度。辅酶 Q10 在正己烷溶液中转换为异构体的过程中, 棕色量瓶和透明量瓶的透光效果不同, 光线能加速了辅酶 Q10 转换为异构体, 因此, 《中国药典》中明确指出了异构体检测过程要避光操作。另外, 无论是棕色量瓶还是透明量瓶中不避光长时间的放置都会造成异构

体峰面积和归一化百分比的增加, 从而影响检测结果的准确性。

辅酶 Q10 异构体检测过程中, 样品的配置应在避光环境中进行, 应使用棕色容量瓶配制溶液, 配制好的溶液应尽快进样分析, 样品溶液的制备应坚持临用新配原则, 应避免长时间的放置造成辅酶 Q10 降解为异构体, 从而影响了检测结果的准确性。

参考文献

- [1] 中国药典 2010 年版 [S]. 二部.2010: 882-883.
- [2] 美国药典 32 版 [S]. USP32-NF27: 1079-1080.
- [3] 欧洲药典 6.0 版 [S]. EP 6. 0: P3163-3164.
- [4] 张劲松, 王 丹, 黄琴伟, 等. 国产辅酶 Q10 有关物质的评价研究 [J]. 西北药学杂志 2009, 24(6): 440-442.
- [5] 王 艳. 保健食品中辅酶 Q10 含量的测定 [J]. 公共卫生与防御医学, 2012, 23(4): 103-104.
- [6] 张 楠, 曹玉成. 辅酶 Q10 制备方法研究进展 [J]. 榆林学院学报, 2006, 16(6): 12-14.
- [7] 王 辛, 乔海鸥, 穆敏杰. 保健食品中辅酶 Q10 含量的测定及其提取条件的研究 [J]. 中国卫生检验杂志, 2008, 18(7): 1321-1323.
- [8] Fir M M, Smidovnik A, Milivojevic L, et al. Studies of CoQ10 and cyclodextrin complexes: solubility, thermo-and photo-stability [J]. J Incl Phenom Macrocycl Chem, 2009, 64(3/4): 225-232.