

## 研究报告

辅酶 Q<sub>10</sub> 在软胶囊中的存在形态和相应含量测定研究

陈志霞, 宋春花, 陈延蕾

(安利(中国)日用品有限公司, 广东 广州 510730)

**摘要:**目的 研究辅酶 Q<sub>10</sub> 在软胶囊中的存在形态从而确定合适的含量测定方法。方法 根据辅酶 Q<sub>10</sub> 的化学性质, 通过不同测试方法的色谱行为和测试结果, 确定辅酶 Q<sub>10</sub> 的存在形态, 从而选择和建立相应的测试方法对不同形态的 Q<sub>10</sub> 进行含量测定。结果 辅酶 Q<sub>10</sub> 同时以辅酶 Q<sub>10</sub> (氧化型) 和还原型辅酶 Q<sub>10</sub> 两种形态共存。国内主要测试方法包括国家标准 (GB)、中国药典 (ChP) 等仅对氧化型进行测定; 国外主要测试方法包括美国官方分析化学师协会 (AOAC)、美国药典 (USP) 等先用 FeCl<sub>3</sub> 将还原型辅酶 Q<sub>10</sub> 转化为辅酶 Q<sub>10</sub> 后再对总量进行测定。结论 软胶囊中辅酶 Q<sub>10</sub> 同时以辅酶 Q<sub>10</sub> (氧化型) 和还原型辅酶 Q<sub>10</sub> 两种形态共存, 并在一定条件下可互相转化。对辅酶 Q<sub>10</sub> 测定时, 需先确定待测物为氧化型还是氧化型和还原型的总量, 从而选择合适的含量测定方法。

**关键词:** 辅酶 Q<sub>10</sub>; 还原型辅酶 Q<sub>10</sub>; 软胶囊; 三氯化铁; 含量测定

中图分类号: R15; TS218 文献标志码: A 文章编号: 1004-8456 (2014)01-0027-03

The existing forms and related determination on coenzyme Q<sub>10</sub> in coenzyme Q<sub>10</sub> soft capsule

CHEN Zhi-xia, SONG Chun-hua, CHEN Yan-lei

(Amway (China) Co., Limited, Guangdong Guangzhou 510730, China)

**Abstract: Objective** To study on the form of coenzyme Q<sub>10</sub> (CoQ<sub>10</sub>) in soft capsule to select the suitable method.

**Methods** Based on the chemical property of CoQ<sub>10</sub>, the existing forms were determined in soft capsule through chromatography performance of different methods. And then the methods were selected for different forms of CoQ<sub>10</sub>.

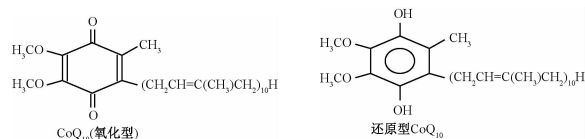
**Results** CoQ<sub>10</sub> (oxidized form) and reduced CoQ<sub>10</sub> co-exist. The methods in China including China National Standard (GB), Chinese Pharmacopoeia (ChP) are both aimed to the oxidized form. In the methods of Association of Official Analytical Chemists (AOAC) and United State Pharmacopoeia (USP), the reduced CoQ<sub>10</sub> is transformed to CoQ<sub>10</sub> first, and then the total amount is determined. **Conclusion** CoQ<sub>10</sub> (oxidized form) and reduced CoQ<sub>10</sub> co-exist in soft capsule and transform to each other under suitable conditions. When testing CoQ<sub>10</sub> in soft capsule, the method should consider if there is only the oxidized form or the two forms both.

**Key words:** CoQ<sub>10</sub>; reduced CoQ<sub>10</sub>; soft capsule; ferric chloride; determination

辅酶 Q<sub>10</sub> (ubiquinone-10, coenzyme Q<sub>10</sub>, CoQ<sub>10</sub>), 又称泛醌, 是天然抗氧化剂和细胞代谢激活剂<sup>[1]</sup>。CoQ<sub>10</sub> 在体内主要有两个作用: 一是在营养物质中线粒体内转化为能量的过程中起重要的作用, 临床上主要用于心脏病的治疗, 增加能量的供应。二是有明显的抗脂质过氧化作用, 能清除自由基, 减轻氧化损伤口<sup>[2-3]</sup>, 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<sup>[4-5]</sup>。由于 CoQ<sub>10</sub> 所具有的独特生理活性, 它不仅限于医药领域, 也广泛应用在非处方药和保健食品中<sup>[6]</sup>。当以辅酶 Q<sub>10</sub> 作为原料生产具有抗氧化、辅助降血脂、缓解体

力疲劳和增强免疫力等保健食品时, 常与天然维生素 E 配伍使用。

CoQ<sub>10</sub> 有两种存在形态, 即氧化型 CoQ<sub>10</sub> (ubiquinone) 和还原型 CoQ<sub>10</sub> (ubiquinol), 通常所说的 CoQ<sub>10</sub> 为氧化型 CoQ<sub>10</sub>, 两种形态在氧化剂 (如 FeCl<sub>3</sub>) 和还原剂 (如 Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) 的作用下可相互转换, 且这种转换是可逆的<sup>[7-8]</sup>。还原型具有较强的抗氧化作用<sup>[9]</sup>。分子结构分别如下:



由于 CoQ<sub>10</sub> 具有两种存在形态且可在一定条件下相互转换, 故本项目对软胶囊中其存在形态和相应含量测定进行了研究。

收稿日期: 2013-09-02

作者简介: 陈志霞 女 主管药师 研究方向为质量标准、分析测试方法开发 E-mail: grace.chen@amway.com

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 样品

某公司辅酶 Q<sub>10</sub> 软胶囊保健品, 主要成分为辅酶 Q<sub>10</sub> 和维生素 E, 标示量分别为 25 mg/粒, 14 mg/粒。

#### 1.1.2 仪器与试剂

Waters2695-2487 高效液相色谱仪、Waters C<sub>18</sub> 色谱柱(150 mm × 3.9 mm, 5 μm)、超纯水发生器、Mettler AT261 分析天平(感量 0.01 mg)。

CoQ<sub>10</sub> 对照品(氧化型, 中国药品生物制品检定所)、还原型 CoQ<sub>10</sub> 对照品(日本 KANEKA NUTRIENTS L. P. 公司), 充氮保护, 单次使用; 维生素 E 对照品(*d*-α-生育酚, 美国药典)。乙腈、甲醇、无水乙醇、四氢呋喃(均为色谱纯), 正己烷、FeCl<sub>3</sub>(均为分析纯)。

### 1.2 方法

国内较为通用的测试方法有两类: 一是用于保健食品中 CoQ<sub>10</sub> 的测定方法, GB 22252—2008<sup>[10]</sup> (以下简称 GB) 高效液相色谱法; 二是用于药品中 CoQ<sub>10</sub> 的测定方法, 中国药典 2010 版二部(以下简称 ChP)<sup>[11]</sup>。国外相关行业标准, 包括美国官方分析化学家协会<sup>[12]</sup> (以下简称 AOAC) 和美国药典 34 版—国家处方集 29 版<sup>[13]</sup> (以下简称 USP)。按以上 4 种方法对样品进行测试, 分析其结果和色谱图。

## 2 结果与分析

### 2.1 GB 或 ChP 测试方法

GB 和 ChP 测试方法简要见表 1, 市售 CoQ<sub>10</sub> 对照品(如中检所、SIGMA 等)均为氧化型, 还原型 CoQ<sub>10</sub> 对照品目前没有市售, 为确认样品中是否含还原型 CoQ<sub>10</sub>, 通过 CoQ<sub>10</sub> 的供应商(日本 KANEKA NUTRIENTS L. P. 公司)获取还原型 CoQ<sub>10</sub> 工作对照品。由于还原型 CoQ<sub>10</sub> 极易被氧化, 该工作对照品进行了充氮保护, 仅限单次使用。

还原型 CoQ<sub>10</sub> 工作对照品按 GB 方法配制成对

照品溶液, 由于该工作对照品溶液仅在 0.5 h 内稳定, 超过 0.5 h 还原型 CoQ<sub>10</sub> 逐步转化成 CoQ<sub>10</sub>, 配制好后, 需立即注入液相色谱仪。CoQ<sub>10</sub> 对照品和样品均按 GB 方法进行配制, 按 GB 方法进行测定, 考虑到样品中 CoQ<sub>10</sub> 的两种形态可能会相互转化, 样品制备好后, 立即进行测定, 色谱图见图 1。

表 1 GB 和 ChP 方法简要

Table 1 Brief summary of GB and ChP test methods

方法	前处理	色谱柱	流动相 (V/V)	检测波长 /nm
GB	正己烷-无水乙醇 1:9, 室温, 超声	C <sub>18</sub> (150 mm × 4.6 mm, 5 μm)	四氢呋喃-乙腈-水 40:55:5	280
ChP	无水乙醇, 50 °C, 振摇	C <sub>18</sub> (未列出)	甲醇-无水乙醇 1:1	275

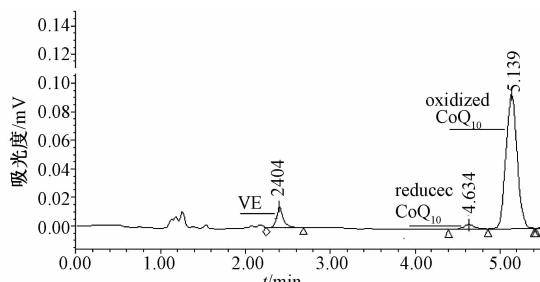


图 1 GB 方法的色谱图

Figure 1 Chromatography by GB method

由图 1 可知, 还原型 CoQ<sub>10</sub> 与 CoQ<sub>10</sub> 相邻出峰。在样品中, CoQ<sub>10</sub> 以氧化型和还原型两种形态共存。按 ChP 方法测试的色谱图与 GB 的接近。由于还原型 CoQ<sub>10</sub> 的不稳定性, 未对样品中还原型 CoQ<sub>10</sub> 进行计算, 仅对 CoQ<sub>10</sub> 的结果进行了计算, 约为标示值的 77% (19.34/25)。

### 2.2 USP 或 AOAC 测试方法

USP 和 AOAC 测试方法简要见表 2, 这两种测试方法在样品前处理中有一个重要的步骤: 加 FeCl<sub>3</sub> 进行处理后再进行定量。

表 2 USP 和 AOAC 方法简要

Table 2 Brief summary of USP and AOAC test methods

方法	前处理	色谱柱	流动相 (V/V)	检测波长 /nm
USP	正己烷-无水乙醇 5:2, 室温, 超声溶解后稀释并加 FeCl <sub>3</sub> 乙醇液处理	C <sub>18</sub> (100 mm × 8.0 mm)	四氢呋喃-乙腈-水 40:55:5	280
AOAC	四氢呋喃-乙腈-水 40:55:5, 室温, 超声溶解后稀释并加 FeCl <sub>3</sub> 乙醇液处理	C <sub>18</sub> (125 mm × 4.0 mm, 5 μm)	四氢呋喃-乙腈-水 40:55:5	275

还原型 CoQ<sub>10</sub> 工作对照品按 USP 方法配制成对照品溶液, 由于该工作对照品溶液仅在 0.5 h 内稳定, 超过 0.5 h 后还原型 CoQ<sub>10</sub> 逐步转化成 CoQ<sub>10</sub>, 配制好后, 需立即注入液相色谱仪。CoQ<sub>10</sub> 对照品和

样品均按 USP 方法进行配制, 按 USP 方法进行测定, 考虑到样品中 CoQ<sub>10</sub> 的两种形态可能会相互转化, 样品制备好后, 立即进行测定, 色谱图见图 2。

由图 2 可见, 未检测到还原型 CoQ<sub>10</sub> 峰, 仅

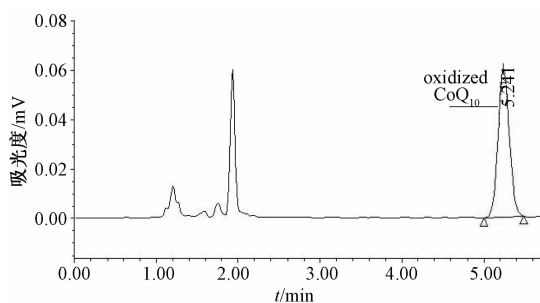


图2 USP方法的色谱图

Figure 2 Chromatography by USP method

CoQ<sub>10</sub>出峰。表明经 FeCl<sub>3</sub> 处理后,样品中的还原型 CoQ<sub>10</sub> 转化成氧化型 CoQ<sub>10</sub>。按 AOAC 方法测试的结果和色谱图与 USP 的接近。加 FeCl<sub>3</sub> 处理后,CoQ<sub>10</sub> 的测试结果由 19.34 mg/粒提高到 25.78 mg/粒,与标示值(25 mg/粒)接近。

### 2.3 FeCl<sub>3</sub> 对样品溶液稳定性的影响

考虑到 CoQ<sub>10</sub> 与还原型 CoQ<sub>10</sub> 之间的转换是可逆的,为考察加 FeCl<sub>3</sub> 对制备样品溶液中是否还存在这种可逆转换,放置时间长短是否会影响其相对含量,按“1.2”项的 4 种方法制备样品溶液后在不同的时间间隔进行测定,其不同时间的色谱图显示,随着放置时间的延长,还原型 CoQ<sub>10</sub> 峰面积逐步下降,CoQ<sub>10</sub> 峰面积逐步上升直至还原型 CoQ<sub>10</sub> 完全转化为 CoQ<sub>10</sub>,结果见表 3。

表3 样品放置不同时间 CoQ<sub>10</sub> 测试结果Table 3 Test results of CoQ<sub>10</sub> placed for different times

方法	放置时间/h							
	0	2	4	6	8	10	12	24
GB	19.34	20.48	22.33	23.04	23.46	24.60	25.48	25.83
ChP	22.30	23.39	23.79	24.36	25.63	25.60	25.96	25.85
AOAC	25.94	25.29	25.83	25.56	26.00	25.22	25.53	25.83
USP	25.78	25.19	25.85	25.55	25.98	25.53	25.90	25.73

按 ChP 和 GB 方法测试的结果虽然初始值较低,但随着放置时间的延长,样品中的还原型 CoQ<sub>10</sub> 不断转化为 CoQ<sub>10</sub>,并分别于 8 和 12 h 后逐渐趋近于标示值并稳定不变,ChP 法的初始值要高于 GB 且前者所需稳定的时间也短于后者,可能是由于前者是在 50 °C 条件下进行前处理,而后者是室温条件下进行前处理,较高温度可加速这种转换的稳定。按 AOAC 和 USP 方法测试的结果始终与标示值相

当且稳定,说明加入 FeCl<sub>3</sub> 后,还原型 CoQ<sub>10</sub> 可立即转换为 CoQ<sub>10</sub> 且保持稳定。

### 3 结论

在 CoQ<sub>10</sub> 软胶囊中,CoQ<sub>10</sub> 同时以 CoQ<sub>10</sub> 和还原型 CoQ<sub>10</sub> 两种形态共存且在一定的条件下互相转换。如果需对氧化型进行测定,可选择样品前处理中不加 FeCl<sub>3</sub> 且立即测定的方法,如 GB 或 ChP;如果需对氧化型和还原型的总量进行测定,可选择样品前处理中加 FeCl<sub>3</sub> 的测定方法,如 USP 或 AOAC。

### 参考文献

- [1] 桑艳双,魏敏吉. 辅酶 Q<sub>10</sub> 的生化作用机理和药物临床应用进展[J]. 中国医药导刊,2005,7(5): 371-373.
- [2] 祝青哲,夏书芹,许时婴. 辅酶 Q<sub>10</sub> 前脂质体的研制及其特征研究[J]. 食品工业科技,2008,29(1):114-118.
- [3] 白宇宁,徐彩菊,丁刚强,等. 水溶性辅酶 Q<sub>10</sub> 与维生素 E 协同抗氧化作用研究[J]. 现代预防医学,2007,34(20):3840-3841.
- [4] 牟永新,安天祥,陈坚. 对改善细胞代谢的营养素辅酶 Q<sub>10</sub> 的评价[J]. 安徽医药,2011,15(7):905-908.
- [5] 李洁. 辅酶 Q 及其与运动关系的研究进展[J]. 西北师范大学学报:自然科学版,2007,23(1):102-106.
- [6] 高原,高鹏,周亚林. 改善细胞代谢的营养素辅酶 Q<sub>10</sub> 及其临床应用[J]. 安徽医药,2003,7(5):337-338.
- [7] Detlef M, Yoh U, Trevor G. Redgrave, et al. Antioxidant defenses in rat intestine and mesenteric lymph[J]. Redox Report, 1999, 4(3):79-87.
- [8] Aberg F, Appelkvist E L, Dallner G, et al. Distribution and Redox State of Ubiquinones in Rat and Human Tissues[J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 1992, 295(2):230-234.
- [9] 薛一雪. 辅酶 Q(还原型)的抗氧化作用[J]. 日本医学介绍, 1991, 12(10):469.
- [10] 中华人民共和国卫生部,中国国家标准化管理委员会. GB/T 22252—2008 保健食品中辅酶 Q<sub>10</sub> 的测定[S]. 北京:中国标准出版社,2008.
- [11] 国家药典委员会编. 中华人民共和国药典 2010 年版(二部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2010:882-883.
- [12] Lunetta S, Roman M. Determination of coenzyme Q<sub>10</sub> content in raw materials and dietary supplements by high-performance liquid chromatography-UV: Collaborative study [J]. J Aoac Int, 2008, 91(4):702-708.
- [13] USP USP34-NF29 Dietary supplements: ubiquinone capsules [S]. UPS 2011.