

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КАДМИЯ В ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ СУБСТАНЦИЯХ МЕТОДОМ АТОМНО-АБСОРБЦИОННОЙ СПЕКТРОМЕТРИИ С ЭЛЕКТРОТЕРМИЧЕСКОЙ АТОМИЗАЦИЕЙ

А. Н. Новоселов

Испытательная лаборатория ФГБУ РМНПЦ «Росплазма» ФМБА России

Поступила в редакцию 15.04.11

Аннотация. Методом атомно-абсорбционной спектроскопии с электротермической атомизацией были проанализированы 50 фармацевтических субстанций на содержание кадмия. Для пробоподготовки субстанций использовали методы прямого разведения в растворителях и микроволновой минерализации. Содержание кадмия в большинстве исследуемых субстанций составило менее 0.01 мкг/г.

Ключевые слова: атомно-абсорбционная спектроскопия, кадмий, фармацевтические субстанции, электротермическая атомизация.

Abstract. 50 pharmaceutical substances using electrothermal atomic absorption spectrometry were testing on the cadmium content. For sample preparation of substances the direct dissolution in solvents and microwave digestion methods were used. Content of cadmium in most tested substances is less than 0.01 µg/g.

Keywords: atomic absorption spectrometry, cadmium, pharmaceutical substances, electrothermal atomization.

ВВЕДЕНИЕ

Кадмий является одним из наиболее известных токсичных элементов и признан Национальным исследовательским институтом техники безопасности и охраны труда (National Institute of Occupational Safety and Health) США канцерогенным [1]. В Государственной Фармакопее (ГФ) РФ и в ряде зарубежных фармакопей (Американской, Европейской, Японской, Китайской и др.) нет отдельной статьи на определение кадмия в фармацевтической продукции, [2—5], а фармакопейный метод определения содержания тяжелых металлов имеет ряд существенных недостатков (например, потери при проведении высокотемпературного озоления), и в последнее время подвергается критической переоценке [6—10].

Целью настоящего исследования является определение содержания кадмия в фармацевтических субстанциях с использованием высокочувствительного метода атомно-абсорбционной спектроскопии с электротермической атомизацией и нового метода пробоподготовки в качестве альтернативы фармакопейному методу.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Измерения проводили на атомно-абсорбционном спектрометре novAA 400 фирмы Analytik Jena

(Германия) с дейтериевым корректором неселективного (фонового) поглощения при следующих параметрах прибора: аналитическая длина волны кадмия $\lambda = 228.8$ нм, ширина щели 0.8 нм, ток лампы 3 мА, дейтериевая коррекция фона.

Для приготовления анализируемых растворов субстанций был использован способ прямого растворения образца («dilute-and-shoot») в деионизированной воде, подкисленных водных растворах или органических растворителях (метанол, ацетон, хлороформ, метиленхлорид и др.) в зависимости от его растворимости в конкретном растворителе. В том случае, если субстанция была мало растворима или не растворима ни в водном, ни в органическом растворителе (например, субстанции аденин, панкреатин), то проводили микроволновую минерализацию в закрытом сосуде.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

ВЫБОР ПАРАМЕТРОВ СТАДИИ СУШКИ

При проведении стадии сушки необходимо было подобрать такую температуру, чтобы весь растворитель испарился с поверхности платформы графитовой печи перед началом стадии пиролиза. Температуру сушки выбирали в зависимости от температуры кипения используемого для растворения субстанции растворителя. Например, для низкокипящих органических растворителей (метанол, ацетон, метиленхлорид, хлороформ) достаточ-

Температурно-временная программа

Стадия	Температура, °С	Скорость нагрева, °С/с	Выдержка, с
Сушка 1*	60—95	5	20
Сушка 2	105	2	10
Сушка 3*	110—170	3	5
Пиролиз	800	250	10
Атомизация	1800	1000	4
Отжиг	2300	500	4

* — температуры варьировались в зависимости от используемого растворителя.

на температура сушки 60 °С, для высококипящих (диметилформамид, диметилсульфоксид) необходима температура 150—170 °С, для водных растворов — 95—100 °С. При этом с помощью специального зеркала наблюдали за процессом высушивания, подбирая оптимальную температуру и время высушивания, а также следя за тем, чтобы не происходило возможного разбрызгивания капель растворителя.

ВЫБОР ОПТИМАЛЬНОГО ХИМИЧЕСКОГО МОДИФИКАТОРА

Для устранения матричного эффекта, который может повлиять на результаты анализа, необходимо использование оптимального химического модификатора. Последний позволяет повысить тем-

пературу пиролиза и тем самым привести к более полному разрушению органической матрицы. Для этой цели были исследованы зависимости величины аналитического сигнала от температуры пиролиза для различных модификаторов.

Результаты измерений по температуре пиролиза представлены на рис. 1. По графику видно, что без добавления модификатора максимальная температура пиролиза составила 500 °С, при добавлении раствора модификатора нитрата палладия максимальная температура пиролиза достигла 800 °С, нитрата магния — 700 °С, смеси нитрата палладия и нитрата магния — 700 °С, нитрата никеля (II) — 600 °С, дигидрофосфата аммония — 800 °С.

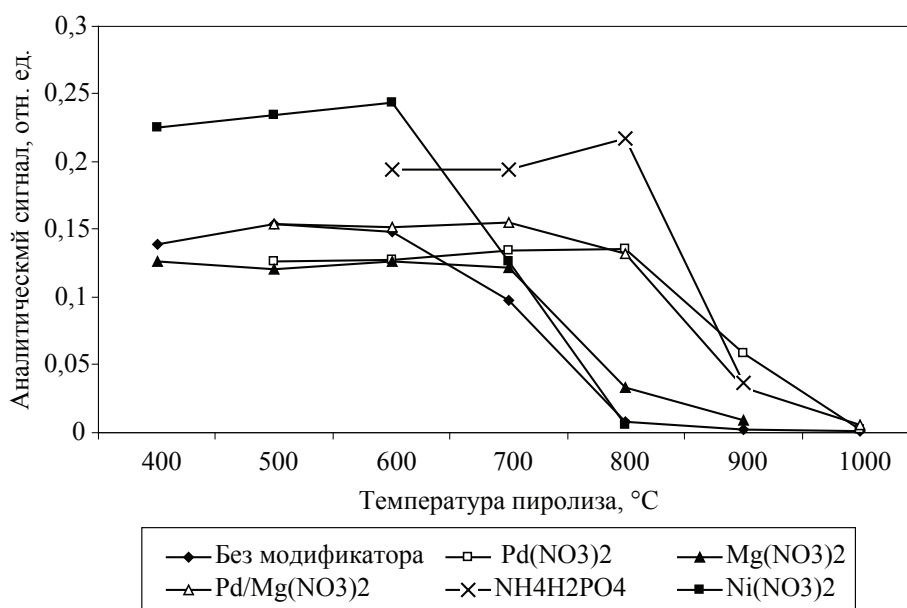


Рис. 1. Зависимость значений аналитического сигнала от температуры пиролиза с использованием различных модификаторов

Таким образом, для определения кадмия был выбран модификатор нитрат палладия, так как он, помимо того, что позволяет повысить температуру пиролиза, относится к группе каталитических модификаторов, окисляет органическую матрицу, снижая тем самым концентрацию органических веществ в газовой фазе в процессе атомизации [11]. Модификатор дигидрофосфат аммония может образовать с остатками органической матрицы соединения, которые дают фоновый сигнал, поэтому было отдано предпочтение палладиевому модификатору.

ВЫБОР ТЕМПЕРАТУРЫ ОПТИМАЛЬНОЙ ПИРОЛИЗА.

Недостаточная температура пиролиза может привести к неполному разрушению органической матрицы, а слишком завышенная — к потере определяемого элемента. Как видно из рис. 1, максимально допустимая температура пиролиза с использованием модификатора нитрата палладия равна 800 °С, что на 300 °С выше, чем без модификатора. Поэтому эта температура и была включена в температурно-временную программу процесса.

ВЫБОР ОПТИМАЛЬНОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ АТОМИЗАЦИИ

Для выбора температуры атомизации исследовали зависимость аналитического сигнала от температуры атомизации при постоянной температуре пиролиза (рис. 2). При увеличении температуры происходило увеличение значения аналитического сигнала до выхода на температурное «плато». Тем-

пература выхода на данное «плато» и принималась как температура атомизации. На основе полученных данных была выбрана температура атомизации 1800 °С.

Очевидно, что растворы субстанций и стандартные растворы отличаются по своим физическим и химическим свойствам. Следовательно, поведение их во время сушки, пиролиза и атомизации не будет идентичным, природа субстанции и используемого растворителя могут повлиять на величину, форму аналитического сигнала, и могут иметь место аналитические ошибки. Поэтому в качестве метода калибровки был выбран метод добавок для каждой анализируемой субстанции, что позволило минимизировать различие в свойствах растворов [12].

Предел обнаружения (ПО) и предел количественного определения (ПКО) были рассчитаны по следующим формулам [13]:

$$ПО = \frac{3 \cdot S_b \cdot C_{\text{хар}} \cdot t_{0,954;10}}{0,0044}, \quad (1)$$

$$ПКО = \frac{10 \cdot S_b \cdot C_{\text{хар}} \cdot t_{0,954;10}}{0,0044}, \quad (2)$$

где S_b — величина стандартного отклонения, полученная при 10-кратном измерении оптической плотности фонового раствора; $t_{0,954;10}$ — коэффициент Стьюдента для доверительной вероятности 95.4 % и 10 произведенных измерений, равный 2.37; $C_{\text{хар}}$ — характеристическая концентрация, равная 0.057 (при количестве измерений $n = 27$) мкг/дм³ и рассчитанная по формуле:

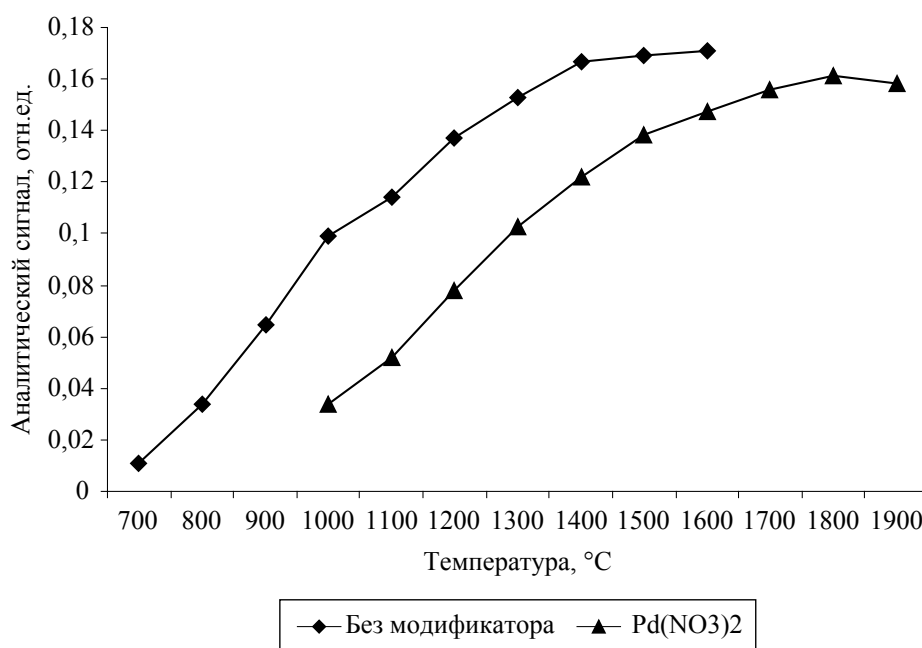


Рис. 2. Зависимость значений аналитического сигнала от температуры атомизации с модификатором и без него

$$C_{\text{хар}} = \frac{\bar{C} \cdot 0.0044}{\bar{D}}, \quad (3)$$

где \bar{C} — среднее значение концентраций, полученное при анализе модельного образца с содержанием кадмия в области линейности градуировочного графика, мкг/дм³; \bar{D} — среднее значение оптической плотности при данной концентрации.

Предел обнаружения равен ПО = 0.01 мкг/г, а предел количественного определения ПКО = 0.033 мкг/г. Эти значения меньше предельно допустимого содержания кадмия в субстанциях,

равного 0.5 мкг/г, согласно проекту статьи <232> «Elemental Impurities — Limits», разработанного для замены существующей в Американской фармакопее статьи на тяжелые металлы <231> «Heavy metals» [14].

Результаты по определению содержания кадмия в фармацевтических субстанциях представлены в таблице 2.

Как видно из таблицы 2, содержание кадмия в большинстве субстанций меньше предела обнаружения — 0.01 мкг/г, и для всех субстанций меньше предельно допустимого содержания — 0.5 мкг/г.

Таблица 2

Содержание кадмия (в мкг/г) в некоторых фармацевтических субстанциях

№	Наименование субстанции, серия	Содержание кадмия, $C_{\text{ср}} \pm SD$, мкг/г, $n = 3$
1	2	3
1	N-метилглюкамин, 340209/4430509	< 0.01
2	Аденин, с. 306QS08	< 0.01
3	Аминокапроновая кислота, 440509	< 0.01
4	Амоксициллина тригидрат, 08032901	< 0.01
5	Ампициллин натрия, 0808907	< 0.01
6	Аскорбиновая кислота, 07047115	< 0.01
7	Аспартам, с. 090533	< 0.01
8	Аторвастатин, 080401	0.0162±0.0024
9	Ацетилсалициловая кислота, 08101782	< 0.01
10	Ацикловир, A080112	< 0.01
11	Винпоцетин, АЕТ 41809003	< 0.01
12	Глюкоза, 07030965	< 0.01
13	Декстран 40, 060643	< 0.01
14	Декстроза, EDH05	< 0.01
15	Диклофенак натрия, 070224-1	< 0.01
16	Димедрол, 040708	< 0.01
17	Дисульфирам, 2010011202	< 0.01
18	Диэтиламид кислоты никотиновой, 7022008	< 0.01
19	Домперидон, DOM/1004071	< 0.01
20	Ибупрофен, С 607127	< 0.01
21	Индапамид, IPM 8009	< 0.01

1	2	3
22	Панкреатин, с. 30309	0.0607±0.0119
23	Калия хлорид, 010208	< 0.01
24	Карбамазепин, 08112240	< 0.01
25	Карведилол, 40808	< 0.01
26	Кеторолака трометамин, 10708	< 0.01
27	Ксилометазолина гидрохлорид, 010109	< 0.01
28	Левифлоксацин, КУ-LFA-M20081209	< 0.01
29	Лидокаина гидрохлорид, ВК-LH-050	< 0.01
30	Линкомицина гидрохлорид, 090822	< 0.01
31	Магний хлористый 6-водный, партия № 11	< 0.01
32	Метамизол натрия (анальгин), СО1-W 0809703	< 0.01
33	Метилэтилпиридинола гидрохлорид, 071208	< 0.01
34	Метоклопрамида гидрохлорид, М 070502	< 0.01
35	Метронидазол, С04-W0807235	0.0120±0,0109
36	Натрий уксуснокислый 3-водный, с. 7	< 0.01
37	Натрия гидрокарбонат, 010109	< 0.01
38	Натрия хлорид, с. 081008	< 0.01
39	Натрия цитрат (двузамещенный), 331108	< 0.01
40	Пенициллина G натриевая соль, NAE200805-6	< 0.01
41	Пирацетам, 20080816	< 0.01
42	Поливинилпирролидон низкомолекулярный медицинский 8000±2000, 0390307	< 0.01
43	Прокаина гидрохлорид, 070244	< 0.01
44	Сульфаметоксазол	< 0.01
45	Тимолола малеат, 080901	< 0.01
46	Триметоприм, 07320	< 0.01
47	Цефазолин натрия, А 12120090204	< 0.01
48	Цефотаксим натрия, 304901103	< 0.01
49	Ципрофлоксацина гидрохлорид, 080914-8	< 0.01
50	Янтарная кислота, 381108/3410409	< 0.01

C_{cp} — среднее значение концентраций, SD — стандартное отклонение, n — количество измерений.

Также была проведена оценка возможных потерь определяемого элемента при проведении микроволновой минерализации в герметично закрытом контейнере методом стандартных добавок с известной концентрацией кадмия. Данные по выходу кадмия (отношения полученного значения концентрации к теоретическому) представлены в таблице 3.

Таблица 3

Выход кадмия после проведения микроволновой минерализации

Выход, %			
Образец 1	Образец 2	Образец 3	Среднее
100.84	106.20	98.36	101.80

Как видно из табл. 3, микроволновая минерализация субстанций в герметично закрытом контейнере предотвращает потери кадмия, которые могут возникнуть при проведении фармакопейного способа пробоподготовки методом озоления при повышенных температурах. Кроме того, при использовании данного метода минерализации значительно сокращается время пробоподготовки, увеличивается воспроизводимость анализа.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Для определения кадмия в фармацевтических субстанциях был использован метод атомно-абсорбционной спектроскопии с электротермической атомизацией. Универсальный метод пробоподготовки (прямое растворение субстанций в растворителях, микроволновая минерализация в закрытом сосуде) позволил сократить время анализа и устранить возможные потери кадмия, что может быть использовано в качестве альтернативы существующему фармакопейному методу пробоподготовки. Было проанализировано 50 субстанций, различных по своему химическому составу. Содержание кадмия в исследованных субстанциях удовлетворяют нормам, представленным в проекте статьи <232> «Elemental Impurities — Limits» Американской фармакопеи, для тех субстанций, где

содержание кадмия должно быть не более 0.5 мкг/г [14]. Предлагаемая методика определения может применяться в дальнейшем при определении содержания кадмия и других тяжелых металлов при контроле качества фармацевтических субстанций и лекарственных средств.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. www.hc-sc.gc.ca/cps-spc/legislation/consultation/_cosmet/metal-metiaux-consult-eng.php#ref2.
2. Государственная Фармакопея Российской Федерации. — 12-е изд. — М.: ФГУ НЦЭСМП, 2007. — Ч. 1.
3. European Pharmacopoeia. — 6th Edition, 2007.
4. United States Pharmacopoeia. — 32 / NF 27, 2009.
5. Pharmacopoeia of the People's Republic of China. — 2005. — V. 1.
6. The Use of Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectroscopy in the Determination of Heavy Metals in Crospovidone and Povidone as a Replacement for the Concomitant Visual Comparison Test / Sergio Lira [et al.] // Pharm. Forum. — 2008. — № 6(34). — P. 1613—1618.
7. Determination of trace metals — a critical review of the pharmacopoeial heavy metals test / D. Ciciarelli [et al.] // Pharm. Forum. — 1995. — № 6(21). — P. 1638—1640.
8. Blake K. Harmonization of the USP, EP, and JP heavy metals testing procedures / K. Blake // Pharm. Forum. — 1995. — № 6(21). — P. 1632—1637.
9. Изучение фармакопейных тестов на примеси тяжелых металлов / Н. В. Петров [и др.] // Фармация. — 1990. — № 2. — С. 51—55.
10. A multi-element ICP-MS survey method as an alternative to the heavy metals limit test for pharmaceutical materials / T. Wang [et al.] // J. Pharm. Biomed. Anal. — 2000. — № 23. — P. 867—890.
11. Иваненко Н. Б. Атомно-абсорбционное определение селена в крови, сыворотке крови и моче / Н. Б. Иваненко // Экологическая химия. — 2006. — № 15 (2). — С. 124—129.
12. Ермаченко Л. А. Атомно-абсорбционный анализ с графитовой печью: Методическое пособие для практического использования в санитарно-гигиенических исследованиях / Л. А. Ермаченко, В. М. Ермаченко. — М.: ПАИМС, 1999. — 220 с.
13. Методика поверки спектрофотометров атомно-абсорбционных моделей novAA 300, novAA 400 фирмы «Analytik Jena» (Германия).
14. <232> Elemental impurities — limits // Pharm. Forum. — 2010. — № 1(36). — P. 1—4.

Новоселов Артем Николаевич — инженер-лаборант Испытательной лаборатории Федерального государственного бюджетного учреждения «Российский медицинский научно-производственный центр «Росплазма» Федерального медико-биологического агентства»; e-mail: rosplasma@mail.ru

Novoselov Artem N. — laboratorial engineer, Expertise laboratory of Federal state budgetary institution «Russian medical scientific and production center «Rosplasma» of Federal Medical-Biological Agency»; e-mail: rosplasma@mail.ru