



ICP – Spektrometria mas

Autor:

Ewa Pruszkowski, Ph.D.

PerkinElmer, Inc.
Shelton, CT, USA

Jak suma toksycznych pierwiastków, które mogą zostać spożyte każdego dnia, ma się do nowych wytycznych USP?

Nowe wymagania zostały opisane w Rozdziałach Ogólnych <232>, <233> i <2232>,¹⁻³, aktualnie poddawanych ostatnim poprawkom i proponowanych do wdrożenia w roku 2018. Rozdziały <232> i <2232> zawierają listę pierwiastków oraz ich dopuszczalne graniczne wartości dobowej ekspozycji (PDE) w zależności od sposobu podania. Dostępne jest szczegółowe podsumowanie metody,⁴ dlatego też w niniejszym dokumencie zostanie przedstawiony jedynie skrócony jej opis.

Wprowadzenie

W 2012 roku Farmakopea USA (USP) zaproponowała zastąpienie rozdziału <231> dwoma nowymi rozdziałami opisującymi procedury oznaczania technikami ICP-OES i ICP-MS grupy pierwiastków, które mogą występować jako zanieczyszczenie w produktach farmaceutycznych.

W tabeli 1 przedstawiono różne drogi narażenia ludzi oraz przykładowe sposoby ekspozycji na każdej z tych dróg. Maksymalna wartość PDE dla każdego pierwiastka jest różna i zależy od sposobu podawania. Tabela 2 podaje wartości dla osoby o masie ciała 50 kg. Pierwiastki w Tabeli 2 podzielono na 2 kategorie: te, które muszą być analizowane we wszystkich produktach leczniczych (Cd, Pb, As, Hg) oraz te, które muszą być analizowane tylko w przypadku ich dodawania/stosowania w procesie produkcyjnym lub ich obecności w surowcach.

Dane z opartych o nową metodologię USP analiz pojedynczych leków lub suplementów diety przedstawiono w licznych artykułach i publikacjach.⁴ Często jednak pacjenci przyjmują dziennie po kilka leków i suplementów, w związku z czym należy wziąć pod uwagę całkowitą ekspozycję dobową wszystkich przyjmowanych produktów farmaceutycznych.

W niniejszej pracy normy USP <232>/<2232> zastosowano do analizy hipotetycznej mieszanki często spożywanych leków i suplementów doustnych.

Tabela 1. Drogi podawania farmaceutyków wraz z odpowiednimi przykładami.

Droga podania	Przykłady
Doustna	Ciecze, substancje stałe
Pozajelitowa	Zastrzyki, implanty, preparaty okulistyczne
Miejscowa, naskórna	Kremy
Dośluzówkowa	Preparaty donosowe, docewkowe
Wziewna	Aerozole, inhalatory, gazy

Tabela 2. Graniczne wartości dopuszczalnej dobowej ekspozycji (PDE) określone w USP <232>/<2232>.

Pierwiastek	PDE dla dobowej dawki doustnej (µg/dobę)	PDE dla dobowej dawki pozajelitowej (µg/dobę)	PDE dla dobowej dawki wziewnej (µg/dobę)
Kadm (Cd)	5	2	2
Ołów (Pb)	5	5	5
Arsen (As)*	15	15	2
Rtęć (Hg)*	30	3	1
Iryd (Ir)	100	10	1
Osm (Os)	100	10	1
Pallad (Pd)	100	10	1
Platyna (Pt)	100	10	1
Rod (Rh)	100	10	1
Ruten (Ru)	100	1100	3
Chrom (Cr)	11000	1100	3
Molibden (Mo)	3000	1500	10
Nikiel (Ni)	200	20	5
Wanad (V)	100	10	1
Miedź (Cu)	3000	300	30

* = Formy nieorganiczne

Część doświadczalna

Próbki i ich przygotowywanie

W Tabeli 3 przedstawiono użyte w analizie doustne leki i suplementy diety reprezentujące mieszankę leków, jaką mógłby przyjąć w ciągu dnia hipotetyczny pacjent.

Wszystkie próbki były mineralizowane w piecu mikrofalowym Titan MPS™ ze standardowymi naczyniami PTFE o pojemności 75 ml. Zakres mas tabletek i pigułek użytych w badaniu wynosił 0,12-5,6 g. Do każdego naczynia do wytrawiania dodawano

około 0,25 g każdej próbki oraz 5 ml kwasu azotowego (70%), 1 ml kwasu solnego (35%) i 2 ml nadtlenu wodoru (30%). (Tabletki ważące więcej niż 0,25 g rozgniatano, a do trawienia pobierano próbki 0,25 g) Próbki mineralizowano zgodnie z programem opisanym w Tabeli 4. Po zakończeniu mineralizacji wszystkie próbki rozcieńczono wodą dejonizowaną do końcowej objętości 50 ml. W celu stabilizacji rtęci do każdej próbki, wzorca i próbki ślepej dodawano po 200 ppb Au.

Aparatura

Wszystkie analizy wykonywano za pomocą spektrometru ICP-MS NexION® 350 ICP-MS firmy PerkinElmer w trybie komory kolizyjnej przy użyciu standardowych parametrów systemu i standardowego systemu wprowadzania próbek; pierwiastki i ich masy przedstawiono w Tabeli 5. (Doustne wartości graniczne dla chromu normy <232> zostały wdrożone niedawno i nie były zdefiniowane w momencie wykonywania analiz.) Choć większość mierzonych pierwiastków nie ulega interferencjom powodowanym przez cząsteczki wieloatomowe to w celu uzyskania wysokiej szybkości analiz (80 s między próbkami) i ochrony przed nieoczekiwanymi interferencjami zastosowano tryb komory kolizyjnej.

Tabela 3. Analizowane próbki.

Leki doustne	Nadciśnienie tętnicze
	Czynność tarczycy
	Czynność serca (aspiryna mała dawka)
	Niestrawność
Preparaty wziewne	Kapsułki z olejem rybim
	Kapsułki z olejem z kryla
	Wapń i błonnik, tabletki do żucia
	Wapń, żelki
	Multiwitamina, żelki
	Błonnik, żelki
	Wyciąg roślinny (cholesterol)

Tabela 4. Program mineralizacji w piecu Titan.

Krok	Temperatura docelowa (° C)	Ciśnienie maks. (bar)	Czas narostu (min)	Czas utrzymania (min)	Moc (%)
1	150	30	5	5	60
2	200	30	5	20	90
3	50	30	1	10	0

Tabela 5. Izotopy analizowane przy użyciu spektrometru NexION 350 ICP-MS.

Pierwiastek	Masa
Arsen (As)	75
Kadm (Cd)	111
Miedź (Cu)	63
Iryd (Ir)	193
Ołów (Pb)	208
Rtęć (Hg)	202
Molibden (Mo)	98
Nikiel (Ni)	60
Osm (Os)	192
Pallad (Pd)	105
Platyna (Pt)	194
Rod (Rh)	103
Ruten (Ru)	101
Wanad (V)	51

Wyniki i omówienie

Metodologie USP określają maksymalną ekspozycję dobową w oparciu o masę ciała pacjenta, przyjmując za wzorzec masę 50 kg. Maksymalne dopuszczalne wartości analityczne określa wartość „J” obliczona wg następującego wzoru:

$$J = \frac{PDE}{(\text{maksymalna dawka dobowa} \times \text{współczynnik rozcieńczenia})}$$

PDE = dopuszczalna dobową ekspozycja

Współczynnik rozcieńczenia = krotność rozcieńczenia analizowanej próbki

Dokładniejsze opisy wartości J dostępne są w innych publikacjach.^{1,2,4} Na potrzeby niniejszej pracy wartość J obliczono przyjmując jako maksymalną dawkę dobową 10 g a jako współczynnik rozcieńczenia wartość 200.

Granice wykrywalności metody (MDL) wyznaczono jako pięć odchyłeń standardowych dla mineralizowanej próbki ślepej. W tabeli 6 przedstawiono wartości MDL dla każdego pierwiastka wraz z wartościami J w badanych roztworach. Wartości J opierają się na maksymalnej wartości PDE obliczonej przy założeniu wysokiej dobowej dawki 10 g leków i suplementów i 200-krotnego rozcieńczenia.

W tabelach 7 i 8 przedstawiono wyniki dla poszczególnych leków i suplementów. Porównanie sumy wszystkich leków z maksymalną doustną dawką przedstawiono w Tabeli 9. Przedstawione porównanie pokazuje, że całkowita ilość zanieczyszczeń w jedenastu badanych lekach i suplementach jest znacznie niższa niż dopuszczalna wartość graniczna dla doustnej drogi podawania, z wyjątkiem As i Mo, dla których wartość PDE została nieznacznie przekroczona. Jak widać w Tabelach 7 i 8, As pochodzi głównie z suplementów Ca, zaś Mo jest składnikiem dodawanym w do preparatów witaminowych.

Tabela 6. Wartości J i MDL.

Pierwiastek	Wartość J (µg/l w roztworze)	MDL (µg/l w roztworze)
Cd	2,5	0,005
Pb	2,5	0,002
As	7,5	0,038
Hg	15	0,003
Ir	50	0,001
Os	50	0,029
Pd	50	0,002
Pt	50	0,001
Rh	50	0,001
Ru	50	0,001
Mo	1500	0,019
Ni	100	0,006
V	50	0,011
Cu	1500	0,052

Tabela 7. Zanieczyszczenia w lekach doustnych (wszystkie wartości w µg/dobę).

Pierwiastek	Ciepłota krwi	Tarczycy	Aspiryna w małej dawce	Niestrawność
Cd	0,14	0,01	BD	BD
Pb	0,24	0,07	0,41	0,03
As	1,95	0,32	0,17	0,07
Hg	BD	0,01	BD	BD
Ir	0,04	0,94	0,11	BD
Os	BD	BD	BD	BD
Pd	0,01	BD	BD	BD
Pt	0,01	BD	BD	BD
Rh	BD	0,04	0,01	BD
Ru	0,01	BD	0,01	BD
Mo	13,9	0,07	0,02	0,02
Ni	3,46	0,31	0,71	0,22
V	6,50	0,64	1,34	0,49
Cu	0,05	0,20	0,04	0,03

Tabela 8. Zanieczyszczenia w lekach doustnych (wszystkie wartości w µg/dobę).

Pierwiastek	Kapsułki z olejem rybim	Kapsułki z olejem z kryla	Tabletki do żucia Ca+błonnik	Ca, żelki	Multiwitamina, żelki	Błonnik, żelki	Cholesterol, homeopatyczny
Cd	BD	BD	3,55	0,61	0,10	0,02	BD
Pb	0,06	0,09	0,37	1,28	0,11	0,11	0,08
As	0,29	1,77	4,32	4,85	0,24	0,77	0,71
Hg	0,01	0,01	BD	BD	BD	BD	BD
Ir	0,07	0,04	BD	BD	BD	BD	0,18
Os	BD	BD	BD	BD	BD	BD	BD
Pd	0,02	0,01	0,01	0,09	0,09	0,16	BD
Pt	0,01	BD	BD	BD	BD	BD	BD
Rh	0,01	0,01	BD	BD	BD	BD	0,01
Ru	BD	BD	BD	BD	BD	BD	BD
Mo	0,04	0,01	0,16	6,10	167	0,53	0,71
Ni	0,30	0,36	19,3	3,29	0,95	1,03	2,67
V	0,30	0,36	10,8	13,8	1,00	1,60	0,38
Cu	0,47	0,81	2,24	6,86	0,88	7,59	0,38

Tabela 9. Suma leków i suplementów (wszystkie wartości w µg/dobę).

Pierwiastek	Dobowa dawka doustna	Suma leków i suplementów
Cd	5	4,43
Pb	5	2,85
As	15	15,5
Hg	30	0,03
Ir	100	1,38
Os	100	BD
Pd	100	0,39
Pt	100	0,02
Rh	100	0,08
Ru	100	0,02
Mo	3000	189
Ni	200	32,6
V	100	37,2
Cu	3000	19,6

Wnioski

Analizując pierwiastki i ich maksymalne dobowe wartości graniczne ekspozycji określone normami USP <232>/<2232> konieczne jest uwzględnienie wszystkich leków spożywanych przez pacjenta każdego dnia. Mineralizacji w piecu mikrofalowym Titan poddano szereg próbek leków i suplementów, które następnie analizowano za pomocą spektrometru ICP-MS NexION 350 z wykorzystaniem komory w trybie kolizyjnym. Uzyskane wyniki wskazują, że suma wszystkich pierwiastków we wszystkich próbkach była znacznie niższa niż maksymalna wartość graniczna ekspozycji dobowej, z wyjątkiem molibdenu (Mo), który był składnikiem dodanym do preparatu multiwitaminowego. W pracy wykazano, że prosta, oparta wyłącznie na trybie kolizyjnym metoda oznaczania jest łatwą i niezawodną techniką pomiaru zanieczyszczeń zgodnie z USP <232>/<2232>.

Literatura

1. General Chapter <232> *Elemental Impurities – Limits*: Apr. 2015.
2. General Chapter <233> *Elemental Impurities – Procedures*: Apr. 2015.
3. General Chapter USP <2232> *Elemental Contamination in Dietary Supplement*: March 2012.
4. "Implementation of USP New Chapters <232> and <233> of Elemental Impurities in Pharmaceutical Products", PerkinElmer Inc., 2013.

Użyte materiały eksploatacyjne

Element	Opis	Nr kat.
Wąż do pompy perystaltycznej doprowadzający próbkę	śr. wewn. 0,38 mm (klipsy zielony/pomarańczowy), PCW, rozszerzany na końcach, dwa klipsy	N0777042
Wąż do pompy perystaltycznej odprowadzający ścieki	śr. wewn. 1,30 mm (klipsy szary/szary), Santoprene, dwa klipsy	N0777444
Złączka T do dodawania wzorca wewnętrznego	Złączka T do ciągłego podawania wzorca wewnętrznego	N0777295
Wąż do pompy perystaltycznej doprowadzający wzorec wewnętrzny	śr. wewn. 0,25 mm (klipsy czerwony/pomarańczowy), PCW, rozszerzany na końcach, dwa klipsy	N0773111
Wzorec - zanieczyszczenia pierwiastkowe USP dla drogi doustnej („Wielka 4”)	Cd (25 mg/kg), Hg (15 mg/kg), Pb (5 mg/kg), As (1.5 mg/kg); 125 ml	N9304150
Wzorec - zanieczyszczenia metalami szlachetnymi USP B (z Os)	Ir, Pd, Pt, Rh, Ru, Os (100 mg/kg); 125 ml	N9304151
Wzorec - zanieczyszczenia pierwiastkowe USP dla drogi doustnej/pozajelitowej	Cu (1000 mg/kg), Ni (500 mg/kg), Mo, V (100 mg/kg)	N9304153
Czysty wzorec Au	1000 mg/l	N9303728 (125 ml)
Probówki do podajnika automatycznego	Stożkowe, niezawierające metali, jałowe	N0776118 (15 ml) N0776116 (50 ml)



Pro-Environment Polska Sp. z o.o.
ul. Żwirki i Wigury 101
02-089 Warszawa (CENT III)
P: +48 22 310 88 00
M: kontakt@pepolska.pl
www.pepolska.pl

Authorized Distributor for Poland



Pełen wykaz oddziałów na całym świecie znajduje się pod adresem www.perkinelmer.com/ContactUs

Copyright ©2014-2015, PerkinElmer, Inc. Wszelkie prawa zastrzeżone. PerkinElmer® jest zastrzeżonym znakiem towarowym firmy PerkinElmer, Inc. wszelkie pozostałe znaki towarowe są własnością ich prawowitych właścicieli