

ОБЗОРЫ

А.К. Жерносек, И.В. Аваряскина

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ТЕСТ-МЕТОДОВ В ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОМ АНАЛИЗЕ (обзор литературы)

Витебский государственный
медицинский университет

Представлен обзор литературных данных об использовании тест-методов в фармацевтическом анализе. Рассмотрены методики с визуальной и инструментальной индикацией аналитического сигнала. Показаны возможные пути применения тест-методов в фармацевтическом анализе.

ВВЕДЕНИЕ

Тест-методы (экспресс-методы, spot tests) представляют собой упрощённые приёмы и приспособления для быстрого обнаружения и оценки содержания химических веществ в различных объектах. Они дают возможность простого и недорогого анализа – качественного, полуколичественного и количественного [1].

Преимуществами тест-методов являются экспрессность, возможность проведения анализа в режиме реального времени, экономичность, возможность использования персоналом, не имеющим специальной подготовки [2].

Классификация тест-методов основана на следующих критериях:

- по форме использования реагентов, ответственных за получение аналитического сигнала: "готовые" растворы и иммобилизованные "сухие" реагенты;
- по способу иммобилизации реагентов: физическая иммобилизация и химическая иммобилизация;
- по природе процессов, лежащих в основе получения аналитического сигнала: физические, химические, биохимические и биологические;

- по используемым средствам и приемам: индикаторная бумага, индикаторные порошки, трубки и таблетки, обычные ампулы и капельницы, самонаполняющиеся ампулы, карандаши и ручки для тестирования;

- по способу регистрации аналитического сигнала и определению концентрации:

- визуально: оценка тона или интенсивность окраски жидкости, оценка тона или интенсивность окраски реактивной матрицы, оценка интенсивности окраски носителя после пропускания через него определенного объема исследуемой жидкости, измерение длины окрашенной или обесцвеченной зон бумажных тест-полос, измерение скорости реакции, тест-титрование;

- инструментально: колористические, рефлектометрические, флуоресцентные методы [1 – 4].

В качестве тест-систем могут быть использованы как реагенты, полученные в химической лаборатории, так и системы промышленного изготовления. Например, в России тест-системы изготавливаются следующими фирмами-изготовителями: НПП «Кримас» (г. Санкт-Петербург), НПО «Эконис» (г. Москва), лаборатория химических методов идентификации и экспресс-анализа кафедры химии Владимирского государственного университета (г. Владимир), НПФ «Сервек», ООО «ЛБМ», НПО «Вилар» (комплект принадлежностей «Токси-Лаб») [5].

Тест-методы являются современным и быстро развивающимся направлением аналитической химии [6, 7].

Данная группа методов используется для анализа различных объектов, но в первую очередь – при химико-экологических исследованиях, например, при определении различных токсикантов в объектах окружающей среды [8].

Перспективным является применение тест-методов и в фармацевтическом анализе.

Цель данного обзора – обобщение и систематизация литературных данных по

применению тест-методов для определения лекарственных веществ.

Тест-методы с визуальной индикацией

Разработано много методик определения неорганических ионов (главным образом в объектах окружающей среды) с помощью различных тест-систем: индикаторных трубок, порошков, полосок, колонок, которые могли бы быть использованы и для определения лекарственных веществ-солей по их анионам. Например, предложен способ тест-определения хлорид-ионов с помощью индикаторных трубок (определяемые содержания 2–200 мг/л) и индикаторных порошков (определяемые содержания 1–30 мг/л). Определение проводилось в системе: нековалентно иммобилизованный на ксерогеле кремниевой кислоты дифенилкарбазон – ртуть (II) [9].

В работе [10] описаны методики определения галогенидов, основанные на измерении длины окрашенной или обесцвеченной зоны индикаторной бумаги, заклеенной в полимерную плёнку и контактирующей одним концом с исследуемой жидкостью. При этом для определения фторидов использовалась фильтровальная бумага, импрегнированная комплексом циркония с ализариновым красным С; для определения хлоридов – хроматом и гексацианоферратом (III) серебра; бромидов и иодидов – хроматом, гексацианоферратом (II, III) или хлоридом серебра. Диапазон определяемых содержаний составил 0,2–200 мг/л для фторидов, 0,1–1000 мг/л для хлоридов и 0,2–1000 мг/л для бромидов и иодидов. Продолжительность анализа – 15–40 мин.

Разработан способ визуального определения нитратов и нитритов в воде, основанный на образовании окрашенного азосоединения. Концентрацию нитратов и нитритов определяли по длине окрашенной зоны в колонке, заполненной поливинилхлоридом и пропитанной бензилцетилдиметиламмонния хлоридом и дифенилом. Линейная зависимость наблюдалась в диапазоне 4–20 мг/л [11].

Предложено визуальное экспресс-определение нитрат-ионов в диапазоне концентраций 40–2000 мг/л в объёме бли-

стерной ячейки, содержащей смесь сухих реагентов в виде таблеток. Таблетки включали в себя азо- и диазосоставляющие, органическую кислоту, порошкообразный цинк, силикагель и наполнитель.

Тестирование заключалось в снятии герметизирующей фольги с блистерной ячейки, нанесении 1–2 капель анализируемого раствора на хранящуюся в ней таблетку, наблюдении интенсивности окраски и оценки содержания нитрат-ионов по шкале с известными содержаниями нитрат-ионов [12].

Для определения лекарственных веществ органического происхождения чаще всего используется индикаторная бумага.

Предложена индикаторная бумага с химически иммобилизованным 1-нафтиламином для тест-определения нитритов, нитратов, ароматических аминов, в том числе таких лекарственных средств, как анестезин и новокаин. Определение концентрации проводилось тремя способами: по длине окрашенной зоны тест-полосы, заклеенной в полимерную плёнку; по интенсивности окраски индикаторной бумаги после пропускания через неё с помощью тест-устройства исследуемого раствора; по диаметру окрашенной зоны, полученной на бумаге, заклеенной в полимерную плёнку и контактирующей с анализируемым раствором через отверстие в плёнке. Диапазон определяемых содержаний для нитритов – 0,001–100 мг/л, нитратов – 0,05–1000 мг/л, ароматических аминов – 0,5–1000 мг/л [13].

Разработано несколько способов экспресс-определения дипирона (анальгина) [14–16]. Авторами [14] также предложены тест-плёнки с визуальной индикацией для определения некоторых других органических лекарственных средств (аскорбиновой кислоты, новокаина, стрептоцида). В качестве иммобилизованных реагентов для определения первичных ароматических аминов использованы ванилин и *n*-диметиламинобензальдегид, для восстановителей – комплексы железа (III) с дипиридиллом и фенантролином.

Описана методика спектрофотометрического и визуального тест-определения аскорбиновой кислоты с использованием в

качестве индикаторного порошка ксерогеля кремниевой кислоты, одновременно модифицированного реактивом Вавеле и медью (II). Присутствие меди уменьшает время взаимодействия до 10–15 мин [17].

Для определения аскорбиновой кислоты предложены индикаторные трубки, заполненные индикаторным порошком силикагеля с сульфогруппами, последовательно модифицированным додецилсульфонатом натрия и зелёным Биншедлера. Количественное определение проводили по длине окрашенной зоны. Диапазон определяемых содержаний 20–1000 мг/л, предел обнаружения – 7 мг/л. Определение аскорбиновой кислоты с помощью предложенной индикаторной трубки достаточно селективно. Определению не мешает ионная сила до 0,5 М, 1000-кратные количества сульфата, фосфата, хлорида, нитрата, 100 - железа (II), 10 – меди (II). В реакцию не вступают сульфит, тиосульфат, гидрохинон, 4-аминофенол, *n*-диамины [18].

Разработаны экспрессные методики с использованием индикаторных трубок для определения Sn(II) в реагентах для приготовления радиофармацевтических лекарственных средств: «Альбумин, ^{99m}Tc», «ОЭДФ, ^{99m}Tc». Аналитическим сигналом является длина окрашенной зоны, возникающей в индикаторной трубке после контакта определяемого вещества с индикаторным порошком и зависящей от концентрации определяемого вещества. В качестве индикаторных порошков использовали ксерогели кремниевой кислоты, модифицированные реактивом Вавеле. Данные, полученные методом индикаторных трубок, хорошо согласуются с результатами спектрофотометрического анализа тех же серий реагента. Методика может быть использована в радиологических клиниках для проверки качества реагента перед приготовлением радиофармацевтического лекарственного средства или для проверки качества готового радиофармацевтического лекарственного средства [19–21].

Для тест-определения селена (IV) предложен твердофазный реагент на основе кремнезема, последовательно модифицированного четвертичной аммониевой солью и индигокармином в виде тест-трубок. Пре-

дел обнаружения селена при использовании в качестве индикаторной каталитической реакции восстановления иммобилизованного индигокармина сульфид-ионом составляет 10 мкг/л. Определению не мешают катионы щелочных и щелочноземельных металлов; ионы NH_4^+ , Cl^- , NO_3^- , SO_4^{2-} . Влияние тяжелых металлов устраняют введением ЭДТА. Метод апробирован при определении селена в витаминах и биологически активных добавках к пище [22].

Тест-методы с визуальной индикацией используются также в химикотоксикологическом анализе, наркологическом и судебно-химическом анализе [23, 24]. В монографии [1] описаны наборы для обнаружения героина, кокаина, гашиша, марихуаны и других наркотиков. В работе [25] предложена методика быстрого определения ряда лекарственных веществ, которые могут присутствовать в сыворотке крови пациентов с передозировкой.

Тест-методы с визуальной индикацией рекомендуются как предварительные, окончательное количественное определение проводится с помощью различных инструментальных методов [26].

Тест-методы с инструментальной индикацией

Наиболее часто для инструментального измерения аналитического сигнала в тест-методах используют спектроскопию диффузного отражения (рефлектометрию). Подобный приём широко применяется в клинической биохимии для быстрого определения различных веществ в биологических жидкостях и известен как «метод сухой химии» [27]. В последние годы данный метод начал использоваться и в фармацевтическом анализе. Рефлектометрические определения характеризуются простотой, экспрессностью, малым расходом реагентов. Результаты определения веществ с помощью минирефлектометров соответствуют фармакопейным требованиям.

В качестве реагента для рефлектометрического определения дипирона, фуросемида, гидрохлортиазида и ранитидина был использован *n*-диметиламиноциннамальдегид [16, 28–30]. Определение

дипирона проводили при длине волны 510 нм, фуросемида и гидрохлортиазида дипирона – при 585 нм, ранитидина – при 590 нм. Диапазон линейной зависимости для дипирона составил $1,20 \cdot 10^{-5}$ – $4,00 \cdot 10^{-5}$ моль/л, фуросемида – $7,56 \cdot 10^{-3}$ – $6,05 \cdot 10^{-2}$ моль/л, гидрохлортиазида – $3,36 \cdot 10^{-2}$ – $1,01 \cdot 10^{-1}$ моль/л, ранитидина – $1,42 \cdot 10^{-3}$ – $3,42 \cdot 10^{-2}$ моль/л. Предел обнаружения ранитидина – $1,09 \cdot 10^{-3}$ моль/л, гидрохлортиазида – $1,32 \cdot 10^{-2}$ моль/л.

Предложена методика определения атенолола в лекарственных средствах с помощью спектроскопии диффузного отражения, основанная на реакции между лекарственным веществом и *n* – хлоранилом, осуществляемой на бумаге. Определение проводилось при 550 нм. Диапазон линейной зависимости – от $1,13 \cdot 10^{-2}$ до $7,88 \cdot 10^{-2}$ моль/л. Предел обнаружения – $2,8 \cdot 10^{-3}$ моль/л [31].

Методика определения пропранолола основана на реакции образования окрашенного продукта взаимодействия с 2,6-дихлорхинон-4-хлоримидом на фильтровальной бумаге. Аналитическая длина волны – 500 нм. Диапазон линейной зависимости – от $8,45 \cdot 10^{-4}$ – $8,45 \cdot 10^{-2}$ моль/л, предел обнаружения – $1,01 \cdot 10^{-4}$ моль/л [32].

Описана методика рефлектометрического определения диклофенака натрия и диклофенака калия [33]. Границы определяемых содержаний составили 1,0–18 мг/мл ($3,0 \cdot 10^{-3}$ – $5,5 \cdot 10^{-2}$ моль/л), предел обнаружения – 0,7 мг/мл ($2 \cdot 10^{-3}$ моль/л). Авторами [24] разработана методика определения ацетилсалициловой кислоты, основанная на реакции между салициловой кислотой, полученной в результате гидролиза ацетилсалициловой кислоты, и ионом железа (III). Предел обнаружения лекарственного вещества с использованием тест-метода составил 0,6 мг.

Описана методика изготовления и применения реагентной индикаторной подложки (РИП-Пероксид-Тест) в форме трёхслойной полосы с зоной из реагентной индикаторной бумаги на полимерной подложке для определения пероксида водорода в лекарственных средствах с помощью мини-рефлектометра со светодиодом 625 нм.

Время определения составляет 1–10 мин, границы определяемых содержаний – 0,5–20 мг/л, относительное стандартное отклонение не превышают 0,25. Концентрацию пероксида водорода определяют по предварительно построенному градуировочному графику зависимости коэффициента отражения зоны реагентной индикаторной подложки (РИП) после погружения в дистиллированную воду и коэффициента отражения зоны второй РИП после погружения в раствор пероксида водорода, а также по отношению первого коэффициента ко второму [35]. Альтернативным по отношению к рефлектометрии и более доступным методом измерения аналитического сигнала в тест-методах являются сканер-технологии. Такие определения основаны на сканировании окрашенных образцов с помощью обычного настольного сканера, обработке цветных изображений в стандартных или специализированных графических редакторах и построении градуировочных зависимостей в координатах «светлота одного из выбранных каналов (R, G или B) – содержание аналита в пробе» [36–39].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Тест-методы – это быстроразвивающееся направление современной аналитической химии. В настоящее время данная группа методов ещё недостаточно широко используется для определения лекарственных веществ, поэтому исследования в данной области являются актуальными.

Возможными областями применения тест-методов в фармацевтическом анализе являются скрининг, проводимый для выявления фальсифицированных лекарственных средств [40], а также внутриаптечный контроль качества лекарственных средств.

SUMMARY

A.K. Zhernosek, I.V. Avaryaskina UTILIZATION OF TEST METHODS IN PHARMACEUTICAL ANALYSIS (A REVIEW)

A review of the use of test methods in pharmaceutical analysis is presented. Procedures with visual and instrumental detection of analytical signal are described. Possible ways

for the use of test methods in pharmaceutical analysis are shown.

ЛИТЕРАТУРА

1. Золотов, Ю.А. Химические тест-методы анализа / Ю.А. Золотов, В.М. Иванов, В.Г. Амелин. – 2-е изд. – М: Едиториал УРСС, 2006. – 304 с.
2. Евгеньев, М.И. Тест-методы и экология / М.И. Евгеньев // Соросовский образовательный журнал. – 1999. – № 11. – С. 29–34.
3. Zolotov, Yu.A. Test methods for extra-laboratory analysis / Yu.A. Zolotov, V.M. Ivanov, V.G. Amelin // Trends in Anal. Chem. – 2002. – Vol.21, № 4. – P. 302 – 319.
4. Rapid detection assays for food and water / ed by S.A. Clark [et al.]. – Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 2001. – P. 73 – 9.
5. Муравьев, А.Г. Унификация потребительских форм аналитических систем как основа для расширения области применения экспресс-методов химического анализа / А.Г. Муравьев // Экспресс-методы химического анализа: достоинства и недостатки, области применения. Часть 1: материалы конференции, Москва, 21 апреля 2005 г.
6. Амелин, В.Г. Химические тест-методы определения компонентов жидких сред / В.Г. Амелин // Журн. аналит. химии. – 2000. – Т.55, № 9. – С. 902 – 932.
7. Jungreis, E. Spot Test Analysis / E. Jungreis. – Jerusalem: John Wiley & Sons, Ltd, 2000. – 377 p.
8. Тест-методы определения некоторых органических токсикантов в водных средах (обзор) / Р.К. Чернова [и др.] // Известия Саратовского университета. – 2008. – Т. 8. Сер. Химия. Биология. Экология, вып. 2. – С. 15 – 22.
9. Индикаторные порошки и индикаторные трубки для определения фторид- и хлорид-ионов / Е.И. Моросанова [и др.] // Журн. аналит. химии. – 2001. – Т. 56, № 3. – С. 320 – 326.
10. Амелин, В.Г. Тест-системы для определения галогенидов / В.Г. Амелин // Журн. аналит. химии. – 1998. – Т.53, № 8. – С. 868 – 874.
11. Visual determination of nitrite and nitrate in waters by color band formation method / Y. Kiso [et al.] // Chemosphere. – 2006. – Vol. 64, № 11. – P. 1049 – 1054.
12. Блистерные капельно-таблетные тесты на нитраты и нитриты / Д.А. Князев [и др.] // Журн. аналит. химии. – 2002. – Т. 57, № 1. – С. 85 – 92.
13. Амелин, В.Г. Целлюлозная бумага с химически иммобилизованным 1-нафтиламином для экспрессного тест-определения нитритов, нитратов и других аминов / В.Г. Амелин, И.С. Колодкин // Журн. аналит. химии. – 2001. – Т. 56, № 2. – С. 206 – 212.
14. Loginova, L.P. Test films for test-determinations on the base of reagents, immobilized in gelatinous gel / L.P. Loginova, O.Yu. Konovalova // Talanta. – 2008. – Vol. 77, № 2. – P. 915 – 923.
15. Rapid spot test analysis for the detection of dipyrone in pharmaceutical preparations / L. Pezza [et al.] // Anal. Sci. – 2000. – Vol. 16, № 3. – P. 313 – 315.
16. Weinert, P.L. A Simplified reflectometric method for the rapid determination of dipyrone in pharmaceutical formulations / P.L. Weinert, L. Pezza, H.R. Pezza // J. Braz. Chem. Soc. – 2007. – Vol. 18, № 4. – P. 846 – 854.
17. Моросанова, Е.И. Индикаторные порошки на основе модифицированных ксерогелей для твёрдофазно-спектрофотометрического и тест-определения аскорбиновой кислоты и гидразинов / Е. И. Моросанова, Е.А. Резникова, А.А. Великородный // Журн. аналит. химии. – 2001. – Т.56, № 2. – С. 195 – 200.
18. Моросанова, Е.И. Тест-определение восстановителей с использованием нековалентно иммобилизованных хинониминных индикаторов / Е.И. Моросанова, Д. Ю. Марченко, Ю.А. Золотов // Журн. аналит. химии. – 2000. – Т. 55, № 1. – С. 86 – 92.
19. Анализ радиофармацевтических препаратов с технецием-99м / Н.Б. Эпштейн [и др.] // Международный форум «Аналитика и аналитики». – Воронеж, 2003. – Т. 2. – С. 383.
20. Аналитический контроль качества радиофармпрепарата «^{99m}Tc –ОЭДФ» для радионуклидной диагностики костной патологии / Н.Б. Эпштейн [и др.] // Хим. – фарм. журнал. – 2008. – Т. 42, № 5. – С. 50 – 56.
21. Определение олова в реагентах для приготовления радиофармацевтических препара-

- ратов с технецием-99м / Н.Б. Эпштейн [и др.] // Фармация. – 2007. – № 1. – С.8 – 10.
22. Запорожец, О.А. Визуальный тест-метод определения селена (4+) иммобилизованным на кремнезёме индигокармином / О.А. Запорожец, С.Л. Билоконь // Журн. аналит. химии. – 2007. – № 2. – С. 208 – 212.
23. Masoud, A.N. Systematic identification of drugs of abuse II: TLC / Masoud A.N. // J. Pharm. Sci. – 1976. – Vol. 65. № 11. – P. 1585 – 1589.
24. O'Neal, C.L. Validation of twelve chemical spot tests for the detection of drugs of abuse / C.L. O'Neal, D.J. Crouch, A.A. Fatah // J. Forensic Sci. – 2000. – Vol. 109, № 3. – P. 189 – 201.
25. Hackett, L.P. Rapid identification of drugs in the overdosed patient / L.P. Hackett, L.J. Dusci // Clin Toxicol. – 1977. – Vol. 11. № 3. – P. 341 – 352.
26. Rapid screening of marketed paracetamol tablets: use of thin-layer chromatography and a semiquantitative spot test. / J. Roy [et al.] // Bull World Health Organ. – 1997. – Vol. 75, № 1. – P. 19 – 22.
27. Sonntag, O. Dry chemistry: Analysis with carrier-bound reagents / O.Sonntag. – Netherlands: Elsevier Science Publishers B.V., 1993. – 641 p.
28. Determination of furosemide in pharmaceutical formulations by diffuse reflectance spectroscopy / M. A. Gotardo [et al.] // Talanta. – 2004. – Vol. 64, № 2. – P. 361 – 365.
29. Gotardo, M.A. Determination of hydrochlorothiazide in pharmaceutical formulations by diffuse reflectance spectroscopy / M.A. Gotardo, L. Pezza, H.R. Pezza // Ecl. Quím., São Paulo. – 2005. – Vol. 30, № 2. – P. 17 – 24.
30. An environmentally friendly reflectometric method for ranitidine determination in pharmaceuticals and human urine / L.S. Lima [et al.] // Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. – 2009. – Vol. 71, № 5. – P. 1999 – 2004.
31. Determination of atenolol in pharmaceutical formulations by diffuse reflectance spectroscopy / M. A. Gotardo [et al.] // Ecl. Quím., São Paulo. – 2008. – Vol. 33, № 4. – P. 7 – 12.
32. Detection of propranolol in pharmaceutical formulations by diffuse reflectance spectroscopy / M.A. Gotardo [et al.] // Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. – 2008. – Vol. 69, № 4. – P. 1103 – 1109.
33. Matthieu, T. Determination of diclofenac in pharmaceutical preparations by diffuse reflectance photometry / T. Matthieu, R.L. Souza // Talanta. – 2006. – Vol. 68, № 15. – P. 776 – 780.
34. Matias, F.A.A. Quantitative reflectance spot test for the determination of acetylsalicylic acid in pharmaceutical preparations / F.A.A Matias, M.M.D.C. Vila, M. Tubino // J. Braz. Chem. Soc. – 2004. - Vol. 15, № 2. – P. 327 – 330.
35. Островская, В.М. Экспрессное тест-определение пероксида водорода реagentными индикаторными полосами / В.М. Островская, Ю. А. Золотов, А. В. Давыдов // Журн. аналит. химии. – 1999. – Т.54, № 8. – С. 860 – 868.
36. Использование реакций диазотирования и азосочетания с участием пенополиуретана для определения нитрит-ионов с помощью спектроскопии диффузного отражения и цветометрических сканер-технологий / С.Г. Дмитриенко [и др.] // Вестн. Моск. Унта. Сер.2. Химия. – 2004. – Т.45, № 2. – С.131 – 138.
37. Kompany-Zareh, M. Simple method for colorimetric spot-test quantitative analysis of Fe(III) using a computer controlled hand-scanner // M. Kompany-Zareh, M. Mansourianb, F. Ravaeab // Anal. Chim. Acta. – 2002. – Vol. 471, № 1. – P. 97 – 104.
38. Paciornik, S. Scanner Image Analysis in the Quantification of Mercury using Spot-Tests / S. Paciornik // J. Braz. Chem. Soc. – 2006. – Vol. 17, № 1. – P. 156 – 161.
39. Ёршик, О.А. Применение сканера и компьютерных программ цифровой обработки изображений для количественного определения фенольных соединений корневищ с корнями сабельника болотного / О.А. Ёршик, Г.Н. Бузук // Вестник фармации. – 2008. – № 4. – С.6 – 12.
40. Выявление фальсифицированных лекарственных средств с использованием современных аналитических методов / А.П. Арзамасцев [и др.] // Хим.- фарм. журн.- 2004. – Т. 38, № 3. – С. 48 – 51.

Поступила 05.05.2009 г.
