

ИЗМЕНЕНИЕ ВО ВРЕМЕНИ СПЕКТРАЛЬНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК ЛЕКАРСТВЕННЫХ СУБСТАНЦИЙ (БИК-область)

Т.Е. Елизарова

Контрольно аналитическая лаборатория «Фарманализ»
ул. Чермянская, 2, Москва, Россия, 127282

М.А. Морозова, Т.В. Плетенева

Кафедра фармацевтической и токсикологической химии
Российский университет дружбы народов
ул. Миклухо-Макляя, 6, Москва, Россия, 117198

Исследованы изменения спектров в ближней инфракрасной области (БИК) лекарственных субстанций при естественном старении. Для статистической оценки различий между группами спектров исходных образцов и субстанций, хранившихся в течение срока годности, применен метод дискриминантного анализа.

Ключевые слова: ближняя ИК-спектметрия, стабильность лекарственной субстанции, срок годности, спектральная библиотека.

Производители лекарственных средств (ЛС) стремятся активно использовать метод БИК-спектрии во внутренней системе контроля качества для стандартизации серийного производства. Кроме того, БИК-спектральные библиотеки выпускаемой продукции обеспечивают производителям возможность при максимально репрезентативной выборке образцов осуществлять незамедлительное выявление контрафактных ЛС [1].

Качественные и количественные изменения при старении ЛС находят отражение на БИК-спектрах, являющихся совокупной характеристикой физико-химических свойств вещества. Возможные изменения свойств субстанции, в том числе и в ходе старения, должны быть учтены в калибровочном наборе спектральной библиотеки [2, 3].

Цель работы: оценить величины спектральных различий в ближней ИК-области, возникающих в процессе старения лекарственных субстанций.

Материалы и методы. В работе были исследованы субстанции лекарств различных фармакологических и химических классов (табл. 1).

Таблица 1

Характеристики исследованных субстанций

№ п/п	Наименование субстанции	Производитель	Количество исследованных серий	Дата	
				выпуска	окончания срока годности
1	Ацетилсалициловая кислота	Shandong Xinhua Pharmaceutical Factory,	4	3.2007	3.2012
2	Бромгексин	WIPetro-Chem&Pharma Pvt.Ltd, Индия	2	10.2007	10.2012
3	Левомецетин	Northeast Pharmaceutical Corporation, КНР	4	2.2008	2.2013
4	Пирацетам	Northeast Pharmaceutical Corporation, КНР	5	7.2008	7.2013
5	Рутин	Merck KGaA, Германия	2	3.2012	3.2012

Для получения спектров использовали Фурье БИК-спектрометр Antaris II (Thermo Scientific, США). Все измерения проводили в режиме диффузного от-

ражения. Специальная кювета с плоским основанием из кварцевого стекла (высота 16 мм, диаметр 11 мм) заполнялась порошком субстанции на 4—5 мм и помещалась на окно интегрирующей сферы.

Оптимальные условия записи спектров подбирали с учетом соотношения сигнал-шум и минимального времени записи одного спектра. Число сканов равнялось 16, разрешение — 4 см^{-1} . На получение одного спектра требовалось в среднем около 20 сек. Периодически проводилось автоматическое измерение фонового спектра воздуха.

Для генерирования стандартного спектра каждой серии субстанции снимали по 9 спектров. Таким образом, конечная спектральная библиотека включала две группы по 153 спектра — для первичных субстанций и после хранения в течение двух лет.

Оценка спектральных различий проводилась методом дискриминантного анализа, описание данных строилось по 10 главным компонентам. В процессе калибровки для каждой сравниваемой группы/класса получали усредненный спектр и модель распределения путем оценки отклонений на каждой частоте диапазона (программное обеспечение «TQAnalyst™»).

Усредненный спектр группы вычитается из каждого отдельного спектра, что и создает спектр дисперсии. При анализе следующей группы определяется основная компонента на каждом отдельном спектре и спектре дисперсии, что позволяет оценить величину вклада. Графически величины вклада представляют в виде спектральных расстояний в единицах Mahalanobis'a [4]. Эти данные используют для ранжирования исследуемых классов: чем ближе значение расстояния к нулю, тем выше спектральное соответствие.

Результаты исследования. На первом этапе работы были получены БИК-спектры субстанций, прошедших испытания в контрольно-аналитической лаборатории. Далее образцы субстанций были отправлены на хранение с соблюдением всех требований нормативной документации по обеспечению надлежащего температурно-влажностного режима.

По истечении двухлетнего срока были повторно сняты БИК-спектры тех же субстанций. Методом дискриминантного анализа была проведена статистическая оценка различий между спектрами — первичными и после хранения. Результаты представлены в табл. 2.

Таблица 2

Результаты сравнения БИК-спектров субстанций, исходных и хранившихся в течение двух лет, в программном методе дискриминантного анализа

Название субстанции	Максимальное спектральное расстояние в единицах Mahalanobis между двумя группами
Ацетилсалициловая кислота	4,0
Бромгексина гидрохлорид	4,3
Левомецетин	4,4
Пирацетам	4,3
Рутин	7,1

Практически для всех исследованных субстанций обнаружены значимые спектральные отличия в группах, исходных и хранившихся образцов (см. табл. 2). Наибольшее различие выявлено между образцами субстанции рутина (рис. 1).

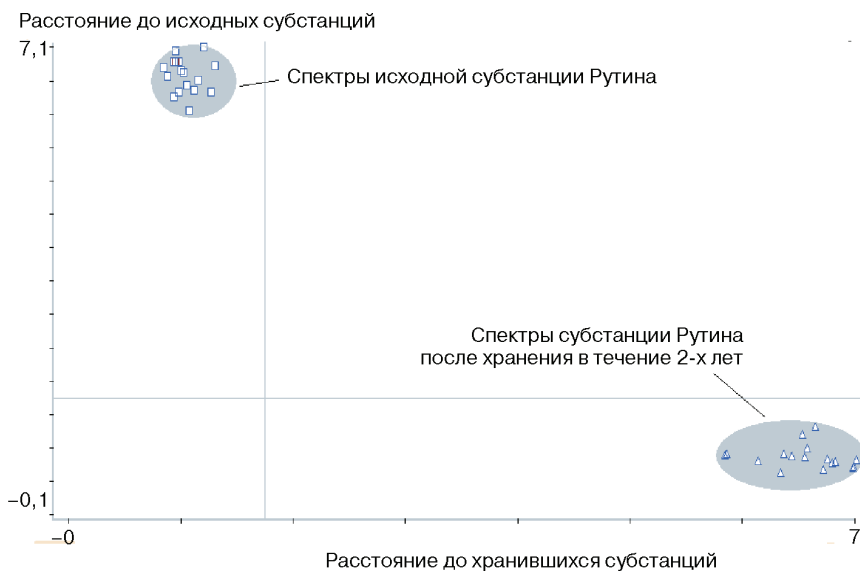


Рис. 1. Результаты дискриминантного анализа исходных субстанций рутин до и после двухлетнего хранения

Статистическое разделение БИК-спектров лекарственных субстанций свидетельствует о возможности обнаружения качественных и количественных различий, возникающих при хранении образцов в условиях, соответствующих нормативной документации. В то же время заявленный производителем срок годности, установленный при изучении стабильности ЛС, является гарантией отсутствия изменений, выходящих за рамки требований НД.

При подозрении на контрафакт обращающейся на рынке субстанции контролирующие органы используют БИК-спектральную библиотеку производителя, включающую спектры, снятые сразу после выпуска продукции. Поэтому был проведен модельный эксперимент по определению статистических различий между образцом, хранившимся в течение двух лет, и спектральной библиотекой, содержащей спектры «молодых» субстанций. Статистическая значимость различий между спектрами исходных субстанций (спектральная библиотека) и спектрами одной из хранившихся серий, выбранной случайным образом, оценивалась классификационным методом дискриминантного анализа (табл. 3).

Таблица 3

Результаты дискриминантного анализа двух групп спектров: библиотеки спектров исходных субстанций и спектров одной из серий образца, хранившегося в течение двух лет

Название субстанции	Максимальное спектральное расстояние в единицах Mahalanobis между двумя группами	
	без коррекции толщины слоя образца	мультипликативная коррекция рассеяния (MSC)
Ацетилсалициловая кислота	4,60	3,89
Бромгексина гидрохлорид	3,07	3,23
Левомецетин	4,70	3,00
Пирацетам	3,10	3,40
Рутин	20,00	5,50

Для компенсации влияний, вызванных непостоянной толщиной слоя, изменениями плотности образцов и размеров частиц, их рассеивающей способностью, была использована функция мультипликативной коррекции рассеяния (MSC), что помогло значительно скорректировать результаты (см. табл. 3). Так, например, спектральные различия между хранившимся образцом и спектральной библиотекой, выраженные в единицах Mahalanobis, для субстанции рутина уменьшились с 20 ед. до 5,5 ед. (рис. 2, 3).

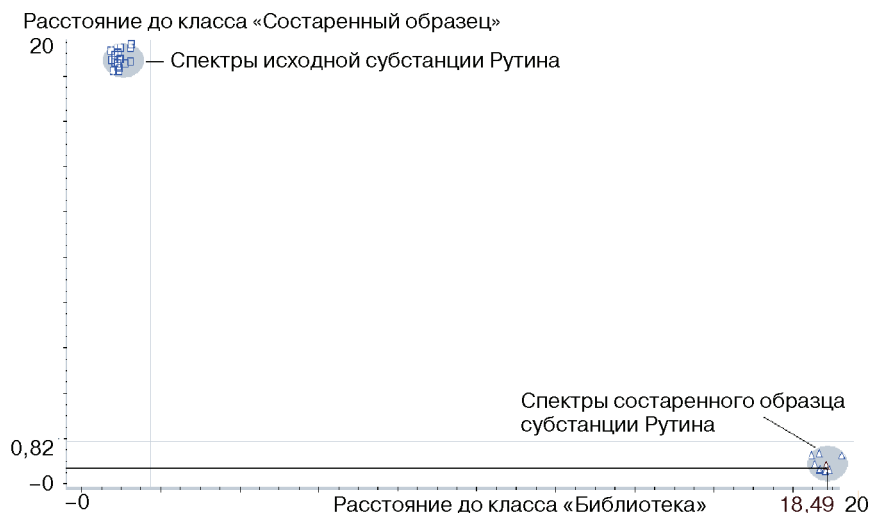


Рис. 2. Результаты дискриминантного анализа: сравнение спектров образца, хранившегося в течение двух лет, и библиотеки спектров исходной субстанции рутина



Рис. 3. Результаты дискриминантного анализа с мультипликативной коррекцией рассеяния: сравнение спектров образца, хранившегося в течение двух лет, и библиотеки спектров исходной субстанции рутина

Исследование изменения БИК-спектров в течение срока годности является важной характеристикой и такой же значимой как дисперсия при серийном вы-

пуске. Диапазон спектральных изменений при естественном старении должен учитываться при использовании классификационных методов статистической обработки результатов, особенно при выявлении контрафактной продукции.

Полученная в результате исследований информация об изменениях в БИК-спектрах при естественном старении ЛС в течение срока годности дает основание рекомендовать формирование библиотек образцов одной серии лекарственной субстанции с разным сроком хранения. Это позволит наиболее полно описать диапазон спектральных изменений и избежать ошибок при идентификации ЛС.

Заключение. Методические указания по валидации и применению метода БИК-спектрометрии в фармацевтической промышленности [2] носят общий характер и не включают требования по созданию спектральных баз данных для образцов ЛС разного срока старения. В то же время такой спектральный банк данных обеспечил бы безошибочный результат скрининга лекарств на контрафакт и позволил бы усовершенствовать критерии качества ЛС с учетом изменений БИК-спектров. Различия между субстанциями в единицах спектрального расстояния могут быть использованы производителем для установления предела допустимой дисперсии образцов при естественном старении.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] *Olsen B.A., Borer M.W., Perry F.M. et al.* Screening for counterfeit drugs using near-infrared spectroscopy // *Pharmaceutical Technology*. — 2002. — Vol. 6. — P. 62—69.
- [2] *Broad N., Graham P., Hailey P. et al.* Guidelines for the Development and Validation of Near-infrared Spectroscopic Methods in the Pharmaceutical Industry. — Chichester: John Wiley & Sons Ltd, 2002. — P. 21.
- [3] *The United States Pharmacopoeia 30-th ed.* — Toronto, 2007. — P. 3539.
- [4] *Richard G. Brereton.* Applied Chemometrics for scientists. — Chichester: John Wiley & Sons Ltd, 2007. — P. 379.

CHANGE IN TIME OF SPECTRAL CHARACTERISTICS OF DRUG SUBSTANCES (NIR Region)

Т.Е. Елизарова

Analytical laboratory "Farmanalis"
Chermyansky str., 2, Moscow, Russia, 1272822

М.А. Морозова, Т.В. Плетенева

Department of Pharmaceutical and Toxicological Chemistry
Peoples' Friendship University of Russia
Miklukho-Maklay str., 6, Moscow, Russia, 117198

The changes in NIR spectra of substances resulting from the processes of natural aging were investigated. The method of discriminant analysis was used for statistical evaluation of differences between two groups of spectra — for initial and aged substances. The values obtained for the spectral range of each substance can limit the possible dispersion of the samples arisen during their aging.

Key words: near-infrared spectrometry, stability, shelf life, the spectral library.