

А. Г. Гуржиева¹, Т. Е. Елизарова², М. А. Морозова¹

ВЛИЯНИЕ ОБОЛОЧКИ НА РЕЗУЛЬТАТЫ АНАЛИЗА ПРИ ИДЕНТИФИКАЦИИ ТВЕРДЫХ ДОЗИРОВАННЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ МЕТОДОМ СПЕКТРОСКОПИИ В БЛИЖНЕЙ ИК-ОБЛАСТИ

¹ Российский университет дружбы народов, Россия, 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 8, к. 2

² ООО КоАЛ "Фарманализ", Россия, 127282, Москва, ул. Чермянская, д. 2

Обсуждаются некоторые практические вопросы, касающиеся необходимости пробоподготовки твердых дозированных лекарственных форм при их идентификации методом БИК-спектроскопии. С применением классификационного метода — дискриминантного анализа — показано, что пленочная оболочка таблеток вне зависимости от своей толщины не влияет на точность результатов анализа, однако при идентификации по спектрам диффузного отражения твердых желатиновых капсул возможна ошибка калибровки, связанная с влиянием непрозрачной оболочки. Доказано, что удаление твердой желатиновой оболочки и запись БИК-спектров непосредственно содержимого капсул позволяет избежать ошибок при отнесении образца к той или иной группе и, следовательно, его экспресс-идентификации.

Ключевые слова: контроль качества; таблетки; капсулы; оболочка; спектроскопия в ближней ИК-области.

Представляя реальную угрозу общественному здоровью, фальсификация лекарственных средств (ЛС) по-прежнему остается проблемой мирового масштаба [1]. В РФ одним из направлений совершенствования системы государственного контроля качества лекарственных средств является развитие и внедрение неразрушающих методов исследования, в частности спектрометрии в ближнем инфракрасном диапазоне (БИК). Выбор данного метода для применения в передвижных экспресс-лабораториях обусловлен его высокой специфичностью и возможностью анализа ЛС непосредственно в блистерной упаковке [2]. На сегодняшний день во всех федеральных округах РФ передвижными лабораториями проводится скрининг качества находящихся в обороте ЛС. Стоит отметить, что 70 % ЛС аптечного ассортимента — это твердые дозированные формы — таблетки и желатиновые капсулы. И если многие методические вопросы, касающиеся проведения БИК-спектрального анализа таблетированных форм, уже не раз обсуждались в научной периодике и имеют общие подходы [3, 4], то в отношении анализа твердых желатиновых капсул однозначного мнения о необходимости проведения дополнительной пробоподготовки среди аналитиков нет. Встречающиеся в литературе практические рекомендации по записи БИК-спектров твердых капсул диаметрально противоположны: одни авторы говорят об отсутствии влияния оболочки и возможности работы без нарушения целостности капсул [5], другие, наоборот, предполагают работу исключительно с содержимым после удаления оболочки [1, 6].

Настоящее исследование посвящено изучению влияния оболочки твердых дозированных лекарственных форм на точность их идентификации методом БИК-спектроскопии.

Экспериментальная часть

Объекты исследования — таблетки, покрытые оболочкой, твердые и мягкие желатиновые капсулы, всего 19 наименований лекарственных препаратов (ЛП) разных производителей. Таблетки, покрытые оболочкой: вазонит 600 мг, кетилепт 100 мг, новинет 0,02 мг + 0,15 мг, парлазин 10 мг, регулон 0,03 мг + 0,15 мг, ридонекс 2 мг, хофитол 200 мг, нормодипин 10 мг, сонирид дуо 5 мг, кордипин хл 40 мг. Капсулы мягкие: метеоспазмил 100 мг, простамолуно 320 мг. Капсулы твердые: анвимакс капсулы П 360 мг и капсулы Р 300 мг, верошпирон 50 мг, микосист 100 мг, сонирид дуо 0,4 мг, тулозин 0,4 мг, флуоксетин ланнахер 20 мг, фурамаг 25 мг. Каждое наименование ЛП представлено на анализ 3 производственными сериями, которые предварительно прошли в установленном порядке процедуру контроля, подтвердившую их надлежащее качество.

На ИК-Фурье спектрометре AntarisII (Thermo Scientific, США) при помощи интегрирующей сферы были записаны спектры диффузного отражения как цельных (интактных), так и подвергшихся пробоподготовке образцов: область измерений 4000–10000 см⁻¹, разрешение 4 см⁻¹, число сканов 16. Из серии для анализа отбирали по 6 таблеток/капсул, для каждого образца спектр отражения записывали 6 раз — по 3 раза с каждой стороны образца. Затем, в соответствии с планом исследования, высыпали содержимое капсул в специальную кювету из кварцевого стекла с плоским дном и крышкой, обеспечивающей равномерное распределение порошка, и записывали спектры содержимого капсул. С таблеток при помощи скальпеля снимали пленочную оболочку, после чего проводили измерения. Таким образом, была сформирована библиотека, включающая для каждого ЛП по 108 БИК-спектров, записанных при разных условиях про-

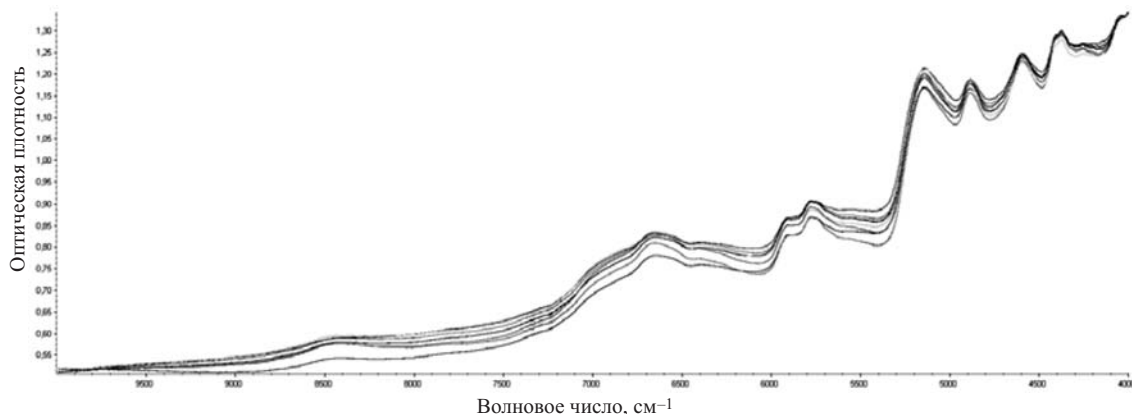


Рис. 1. БИК-спектры оболочек твердых капсул 8 наименований исследуемых ЛП.

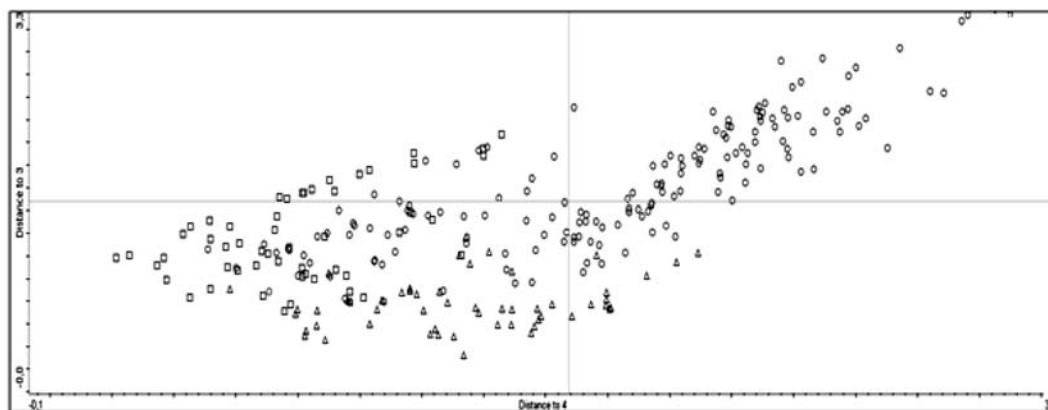


Рис. 2. Графическое представление результатов дискриминантного анализа БИК-спектров оболочек твердых капсул различных наименований ЛП: квадраты — спектры оболочек капсул ЛП микосист, треугольники — спектры оболочек капсул ЛП верошпирон, окружности — спектры оболочек капсул ЛП флуоксетин Ланнахер.

боподготовки. Полученные данные обрабатывали с применением программного обеспечения спектрометра TQAnalyst (метод Discriminant analysis и метод Distance Match) и Omnic.

Результаты и их обсуждение

Методом дискриминантного анализа провели исследование следующих групп спектральных данных: сравнили спектры интактных капсул со спектрами содержимого капсул; а также спектры таблеток, покрытых оболочкой, со спектрами тех же образцов таблеток без оболочки. Полученные результаты представлены в табл. 1.

Среди капсулированных препаратов наибольшее расстояние между центрами сравниваемых групп обнаружено для мягких капсул метеоспазмил (25,31 MD) и мягких капсул простамол Уно (24,86 MD), вероятно, в связи с тем, что их содержимое представлено не порошком, а суспензией и жидким спиртовым экстрактом соответственно. Наименьшее спектральное различие между капсулами и их содержимым выявлено для ЛП тулозин (5,76 MD), что объясняется прозрачностью оболочки капсулы.

Почти все таблетированные ЛП покрыты тонкой пленочной оболочкой, за исключением ЛП хофитол, таблетки которого покрыты толстой, коричневого цве-

та оболочкой и содержат экстракт сока листьев артишока (15,48 MD). Вследствие этого, при сравнении таблеток до и после пробоподготовки спектральное расстояние в единицах MD оказалось меньше ($6,63 \pm 0,71$) MD, чем при сравнении БИК-спектров твердых капсул и их содержимого ($10,60 \pm 1,27$) MD.

В ходе работы выявлено, что спектры оболочек твердых капсул всех 8 наименований ЛП визуально очень схожи. Из рис. 1 видно, что различия между

Таблица 1
Результаты дискриминантного анализа — спектральное расстояние в единицах Махаланобиса (MD) — при сравнении БИК-спектров интактных образцов со спектрами образцов без оболочки

Капсулы		Таблетки	
наименование	MD	наименование	MD
Анвимакс П	11,23	Вазонит	9,09
Анвимакс Р	11,22	Кетилепт	3,98
Верошпирон	7,80	Новинет	5,25
Метеоспазмил	25,31	Парлазин	7,00
Микосист	7,94	Регулон	5,00
ПростамолУно	24,86	Ридонекс	8,10
Сонирид Дуо	17,47	Хофитол	15,48
Тулозин	5,76	Нормодипин	4,43
ФлуоксетинЛаннахер	12,83	Сонирид Дуо	6,91
Фурамаг	10,54	Кордипин ХЛ	9,95

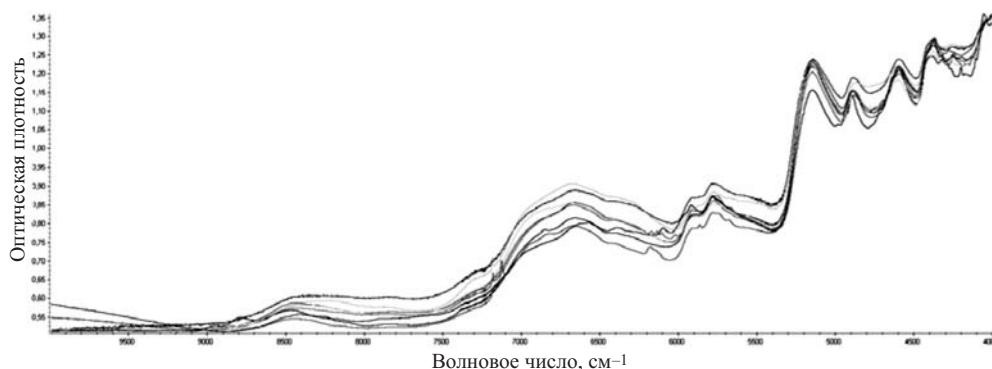


Рис. 3. БИК-спектры intact капсул 8 наименований исследуемых ЛП.

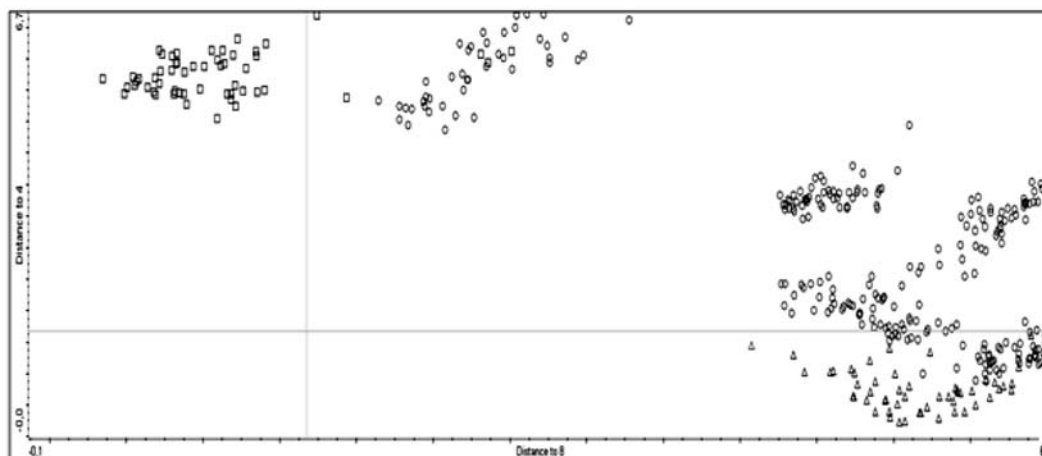


Рис. 4. Графическое представление результатов дискриминантного анализа БИК-спектров твердых капсул различных наименований ЛП: квадраты — спектры капсул фурамаг, треугольники — спектры капсул микосист, окружности — спектры капсул сонирид Дуо.

БИК-спектрами оболочек твердых капсул практически отсутствуют, спектры идентичны по взаимному расположению и интенсивности полос поглощения.

Такие незначительные спектральные различия между оболочками твердых желатиновых капсул связаны с тем, что их химический состав для всех 8 наименований ЛП очень схож и включает желатин, диоксид титана и красители. Именно наличие разных красителей даёт основные различия в спектрах.

В ходе дискриминантного анализа по методике, предложенной в [7], выявить различия между группа-

ми спектров, соответствующих оболочкам капсул различных ЛП, также оказалось невозможно (рис. 2). На приведенном примере спектры сливаются в одно общее облако точек, спектральное расстояние между группами не превышает 3 MD, что говорит о высокой степени схожести анализируемых образцов.

Аналогичным образом — визуальная оценка, а затем дискриминантный анализ — было проведено сравнение БИК-спектров intact капсул и БИК-спектров содержимого капсул всех испытуемых ЛП.

Результат, полученный при исследовании спектров intact капсул, схож с результатом оценки спектров оболочек. Из рис. 3 видно, что спектры твердых желатиновых капсул, содержащих активные фармацевтические субстанции разных химических классов, очень схожи, полосы поглощения слабо различаются по своей интенсивности и практически совпадают по взаимному расположению.

При дискриминантном анализе (рис. 4) диапазон максимальных спектральных расстояний между классами, каждый из которых соответствует определенному наименованию капсулированного ЛП, оказался несколько выше, чем при сравнении оболочек и составил 2,29 – 7,67 MD.

Из рис. 4 видно, что полученная калибровка не исключает ошибки идентификации. Так спектры ЛП Сонирид-Дуо (окружности) на плоскости главных компо-

Таблица 2
Результаты анализа intact капсул методом Distance Match при сравнении с 2 видами стандартов (оболочка и содержимое капсул)

Наименование ЛП	Коэффициент различия, %	
	спектр оболочек капсул	спектр содержимого капсул
Анвимакс, красные	5,29	36,77
Анвимакс, синие	6,07	45,71
Верошпирон	7,04	40,37
Микосист	8,28	34,95
Сонирид Дуо	4,08	38,03
Тулозин	6,31	19,28
ФлуоксетинЛаннахер	5,23	31,52
Фурамаг	6,35	40,91

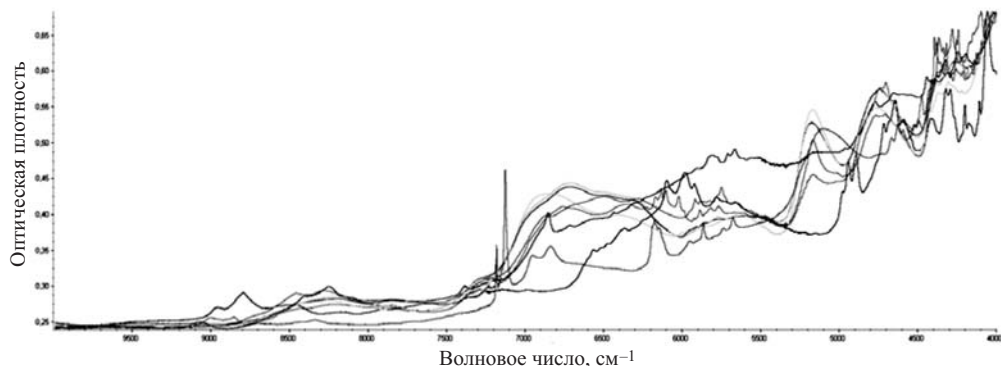


Рис. 5. БИК-спектры содержимого капсул 8 наименований исследуемых ЛП.

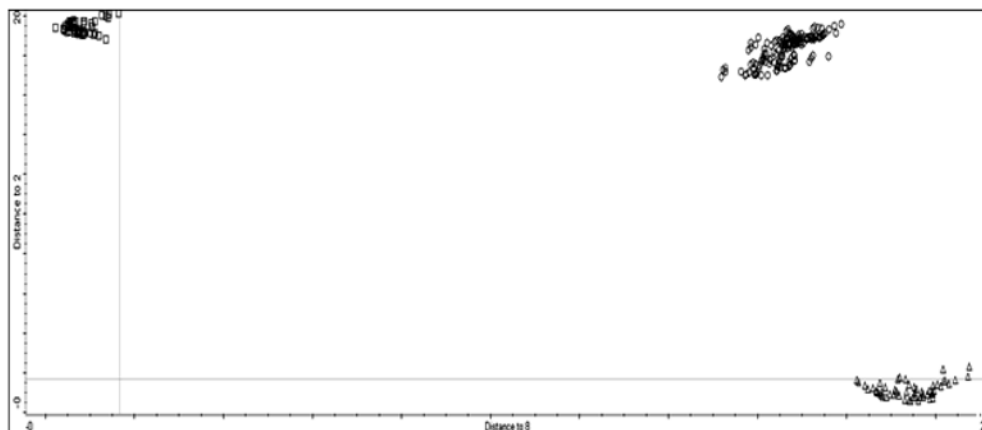


Рис. 6. Графическое представление результатов дискриминантного анализа БИК-спектров содержимого капсул различных наименований ЛП: квадраты — спектры содержимого капсул фурамаг, треугольники — спектры содержимого капсул анвимаксП, окружности — спектры содержимого капсул микосист.



Рис. 7. БИК-спектры интактной капсулы, оболочки и содержимого капсулы и результат их вычитания для ЛП верошпирон.

мент разделены на 2 области, одна из которых перекрывается со спектрами ЛП микосист (треугольники), а вторая формирует отдельно расположенную группу скопления точек.

Различия между БИК-спектрами содержимого капсул очевидны при наложении спектров друг на друга в одной системе координат (рис. 5). Характерные максимумы поглощения, например, для талька (7200 см^{-1}), содержащегося в одном из порошков, позволяют однозначно идентифицировать ЛП.

Результаты дискриминантного анализа спектров содержимого капсул, отраженные на рис. 6, иллюстрируют высокую точность созданной калибровочной модели.

Различия между классами ЛП статистически значимы, поскольку диапазон максимального спектрального расстояния между группами находится в пределах от 10 до 30 MD. Исключение составляют 2 класса, соответствующие ЛП сонирид Дуо и тулозин; спектральное расстояние между ними не превышает $3,86 \text{ MD}$. Оба ЛП содержат одно и то же действующее вещество — тамсулозин. Таким образом, в данном случае спектральное сходство содержимого капсул обусловлено химической идентичностью субстанций.

Обработка спектров капсул в программе Omnic послужила источником новых показательных данных — вычитанием спектра оболочки из спектра интактной

капсулы получен остаточный спектр. Учитывая глубину проникновения БИК излучения в образец, ожидаемым было предположение, что рассчитанный остаточный спектр должен соответствовать по наличию и расположению полос поглощения БИК-спектру содержимого капсул. Однако остаточный спектр представляет собой практически прямую линию без явных максимумов поглощения (рис. 7). Полученные результаты говорят о том, что при записи БИК-спектров интактных капсул фактически записывается спектр желатиновой оболочки. Очевидно, что контроль качества твердых капсул методом БИК-спектроскопии требует разрушения лекарственной формы и анализа непосредственно ее порошкообразного содержимого.

Далее был проведен ряд модельных экспериментов по идентификации интактных капсул при помощи программного метода Distance Match. Принцип данного классификационного метода — оценка доли частот на БИК-спектре испытуемого образца, отличающихся по величине функции от среднего спектра стандарта больше чем на допустимое число единиц поглощения/пропускания/отражения. Таким образом, метод Distance Match позволяет идентифицировать испытуемый образец и отнести его к наиболее близкому классу стандартов. Результат сравнения называется коэффициентом различия, диапазон значений которого составляет от 0 до 100 %, где 0 — это полное соответствие. В первом исследовании Distance Match в качестве испытуемых образцов выступали интактные капсулы, за стандарты приняты спектры оболочек и спектры содержимого капсул. Сравнение интактных капсул с 2 видами стандартов проводили отдельно для каждого наименования ЛП. Полученные результаты представлены в табл. 2.

Значения коэффициентов различия между группами “интактная капсула — содержимое” составляют в среднем от 30 до 45 %, следовательно, интактные капсулы нельзя однозначно идентифицировать с их содержимым. Коэффициенты различия между спектрами капсул и оболочек не превышают 10 %, что говорит о высоком спектральном сходстве 2 сравниваемых классов — оболочек и соответствующих им интактных капсул.

Задача второй калибровки Distance Match — выбрать из 8 классов именно тот, который соответствует

данному ЛП. Калибровочные стандарты — в первом случае спектры содержимого капсул, во втором — интактных капсул. Валидационные стандарты — спектры содержимого или интактных капсул серии, которая не вошла в построение калибровочной модели. При попытке идентифицировать образцы по спектрам содержимого капсул доля верных результатов определения составила 75 %, а количество ошибочных определений не превысило 9 %. При идентификации серии ЛП по спектрам интактных капсул было получено 87,5 % верных результатов, однако вследствие схожести спектров доля ложноположительных оценок достигла 70 %.

В заключение кратко отразим многократно подтвержденные в эксперименте методические рекомендации по идентификации твердых дозированных форм с использованием БИК-спектроскопии. Тонкое пленочное покрытие таблеток сглаживает спектры, но не изменяет присутствующие характерные пики, тем самым обеспечивая возможность неструктивного анализа таблеток методом ближней ИК-спектроскопии. При идентификации капсулированных лекарственных форм с непрозрачной оболочкой необходимо анализировать содержимое капсул, а не интактные капсулы. Это позволяет избежать ложно положительных результатов и тем самым повышает точность определения.

ЛИТЕРАТУРА

1. T. Moffat, R. Watt, S. Assi, *Spectroscopy Europe*, **22**(5), 6 – 10 (2010).
2. В. В. Косенко, А. А. Трапкова, С. А. Тарасова, *Вестник Росздравнадзора*, № 6, 17 – 27 (2012).
3. Т. Е. Elizarova, М. А. Morozova, Т. V. Pleteneva, *Pharm. Chem. J.*, **45**(5), 302 – 305 (2011); *Хим.-фарм. журн.*, **45**(5), 46 – 49 (2011).
4. Е. В. Степанова, А. П. Арзамасцев, А. В. Титова, *Хим.-фарм. журн.*, **43**(7), 51 – 53 (2009); *Pharm. Chem. J.*, **43**(7), 425 – 427 (2009).
5. E. E. Udoh, R. D. Jee, A. C. Moffat, *AAPS Pharm. Sci.*, **5**(4), (2003).
6. Д. В. Долбнев, В. Л. Дорофеев, А. П. Арзамасцев и др., *Вопросы биол., мед. и фарм. химии*, № 4, 7 – 9 (2008).
7. М. А. Morozova, Т. Е. Elizarova, Т. V. Pleteneva, *Eur. Sci. J.*, **9**(27), 8 – 25 (2013).

Поступила 28.05.15

NEAR-INFRARED SPECTROSCOPY FOR THE ANALYSIS OF SOLID DOSAGE FORMS: DOES THE COATING SHELL INFLUENCES RESULTS OF DRUG IDENTIFICATION

A. G. Gurzhieva¹, T. E. Elizarova², and M. A. Morozova¹

¹ Department of Pharmaceutical and Toxicological Chemistry, Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, 117198 Russia

² Farmanaliz Company, Moscow, 127282 Russia

* e-mail: anytkagu18@gmail.com

Some practical issues related to the need for sample preparation of solid dosage forms for their identification by near-infrared (NIR) spectroscopy is discussed. Using the classification method of discriminant analysis, it is shown that IR-transparent film coating of tablets, regardless of its thickness, does not affect the accuracy of analysis. At the same time, the identification of capsules by NIR diffuse reflection technique can lead to errors caused by opaque solid gelatin shells. Removal of the shell and analysis of the content eliminates errors in allocating samples to drug groups during rapid drug identification by the NIR spectroscopy.

Keywords: drug quality control; tablets; capsules; coating; NIR spectroscopy.