

Б. Н. Бойко¹, И. М. Колпаков^{1, 2}

ИССЛЕДОВАНИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СТАБИЛЬНОСТИ КОНЦЕНТРАЦИИ СУБСТАНЦИИ ПИРАЦЕТАМА В ПРОЦЕССЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ХРАНЕНИЯ МЕТОДАМИ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ СКАНИРУЮЩЕЙ КАЛОРИМЕТРИИ (ДСК)

¹ Институт биологического приборостроения РАН, Пущино, Россия;

² Пущинский государственный университет, Пущино, Россия.

Проблемы, связанные с контролем сроков годности лекарственных препаратов (ЛП), являются актуальными в настоящее время и могут быть решены с помощью методов дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК). Настоящая работа посвящена исследованию изменения концентрации субстанции пирacetama в процессе хранения. Анализ полученных ДСК данных показал возможность создания методики объективного определения ресурса срока годности ЛП. Применение методов ДСК позволяет объективно определить ресурс срока годности, независимо от условий хранения.

Ключевые слова: субстанция пирacetama, стабильность, метод ДСК.

Проблемы, связанные с контролем сроков годности лекарственных препаратов (ЛП) являются одними из наиболее актуальных в настоящее время [1, 2]. Однако какие-либо средства или методы, позволяющие оперативно и объективно определить ресурс срока годности готовых форм ЛП и субстанций, находящихся в сфере применения, независимых от условий их хранения, в фармакопейных статьях полностью отсутствуют. Проблема может быть решена применением методов дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК).

Методы ДСК начинают применяться в фармацевтике, эффективно дополняя арсенал существующих средств [3 – 8]. Однако используются далеко не все возможности применения этих методов, в частности, практически отсутствуют работы в области количественного анализа. Прямое измерение удельной энергии плавления исследуемого вещества и температуры плавления позволяет не только идентифицировать это вещество, но и определить его концентрацию, по отклонению которой можно оценить потери активного вещества в процессе хранения и его ресурс срока годности. Изменения, происходящие, как и в субстанции, так и в готовых формах ЛП, в процессе хранения, сопровождаются изменением их состава и соответствующим изменением теплофизических свойств [9].

Целью данной работы было исследование связи параметров ДСК термограммы субстанции пирacetama, отражающих изменение концентрации вещества в процессе хранения, и на основании полученных данных создание методики объективного определения ресурса срока годности.

Экспериментальная часть

В качестве объекта исследования использовали образец субстанции пирacetama, представленный отделом медицинской химии Государственного научного центра по антибиотикам, принятый в качестве стандартного образца (СО). Для экспериментального измерения ресурса срока годности СО использовалась вре-

менная инструкция по проведению работ с целью определения сроков годности лекарственных средств на основе метода “ускоренного старения” при повышенной температуре (И-42-2-82).

Образец для исследования герметично закупоривался в темную стеклянную тару, и хранился в термощкафу при температуре экспериментального хранения $60 \pm 0,5$ °С в течение 91 сут. Срок экспериментального хранения при этом согласно инструкции составил 4 года, при рекомендуемой температуре 20 ± 2 °С и сроке годности 3 года. Периодичность контроля показателей качества составила 11,5 сут, что соответствовало 6 мес хранения. В ходе эксперимента контролировались существенные показатели качества образца: концентрация содержания, температура и удельная энергия плавления.

Пробы по $5 \pm 0,5$ мг помещали в стандартные алюминевые кюветы, которые запечатывались с помощью пресса. Взвешивание проводилось на весах модели Sartorius R200D, которые имеют максимальную чувствительность 0,2 мкг.

Термограммы получены на отечественном микрокалориметре ДСМ-10МА производства ИБП РАН (Пущино). Температурная шкала микрокалориметра калибровалась по стандартам температур и энергии плавления нафталина ($80,28 \pm 0,2$ °С, 150 Дж/г), индия ($156,45 \pm 0,2$ °С, 28,44 Дж/г) и олова ($231,75 \pm 0,3$ °С, 60,67 Дж/г), согласно методическим указаниям МИ 496-84. За температуру плавления, в соответствии с монографией [10], принималась температура начала пика плавления, определяемая как точка пересечения экстраполированной прямой базовой линии и экстраполированного отрезком прямой переднего склона пика плавления. Термограммы, для калибровки микрокалориметра и образов регистрировали при скорости сканирования 8 К/мин и 1 диапазоне чувствительности по тепловому потоку в температурном диапазоне от 20 до 200 °С, использовалась термоэлектрическая система охлаждения ячеек калориметрического

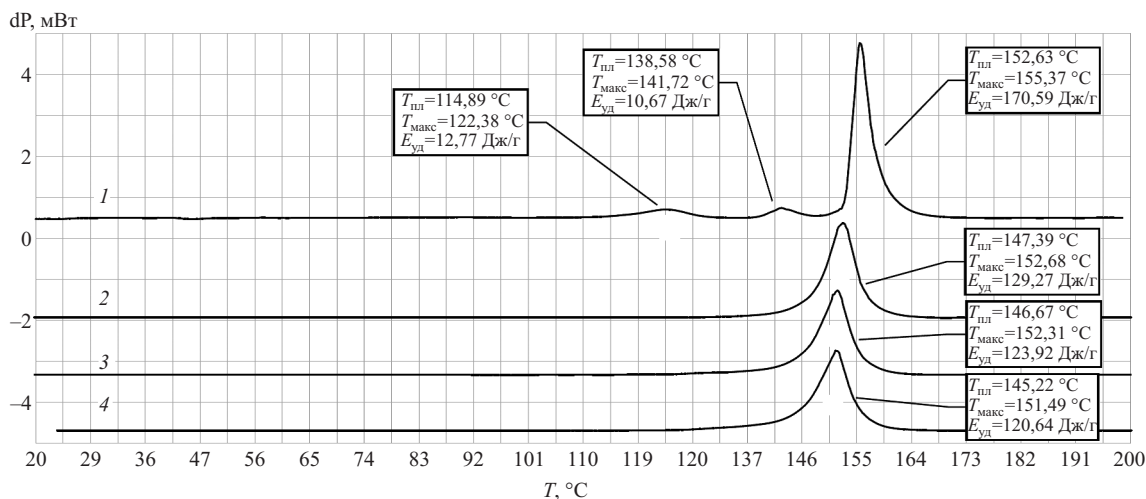


Рис. 1. ДСК термограммы многократного плавления СО парацетама одного и того же образца.

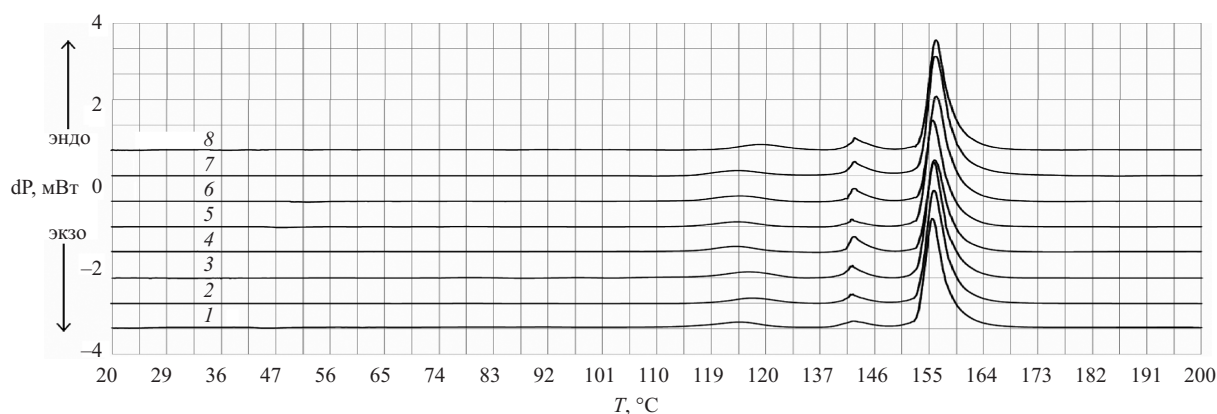


Рис. 2. ДСК термограммы плавления СО парацетама в процессе экспериментального хранения; 1 — исх., 2 – 6, 3 – 12, 4 – 18, 5 – 24, 6 – 30, 7 – 36, 8 – 42 мес.

блока. Для достоверности результатов измерений каждого исследуемого образца (для каждой точки экспериментального хранения), получали не менее 10 термограмм.

Статистическую обработку результатов исследования проводили с помощью прикладных программ пакета Microsoft Office XP — Excel согласно ФС: “Статистическая обработка результатов химического эксперимента и биологических испытаний” (ГФ XI).

Экспериментальная часть

Для изучения полиморфной принадлежности исследуемой субстанции парацетама пробу нагревали в диапазоне температур от 20 до 200 °С, охлаждали и, аналогично, многократно нагревали. Результатом измерений является ряд термограмм многократного плавления, приведенных на рис. 1, которые отражают поведение полиморфизма.

Параметры качества СО парацетама в процессе хранения

Экспериментальное хранение, мес	пик А				пик В				пик С			
	$T_{пл}$, °C	$T_{макс}$, °C	q , Дж/г	c , %	$T_{пл}$, °C	$T_{макс}$, °C	q , Дж/г	c , %	$T_{пл}$, °C	$T_{макс}$, °C	q , Дж/г	c , %
0	114,89	122,38	12,77	100	138,58	141,72	10,67	100	152,13	154,97	170,59	100
6	115,01	122,63	12,51	97,96	139,03	142,36	10,02	93,91	152,43	155,16	162,36	95,18
12	114,93	123,54	12,16	95,22	139,11	141,19	9,86	92,41	152,66	155,26	157,51	92,33
18	118,71	122,67	12,03	94,21	139,65	142,15	9,74	91,28	153,04	155,81	155,62	91,22
24	115,82	122,41	11,92	93,34	139,82	142,29	9,61	90,07	153,48	155,98	153,11	89,75
30	116,25	123,97	11,81	92,48	139,77	142,37	9,57	89,69	153,74	156,04	151,32	88,70
36	115,6	123,6	11,76	92,09	140,78	142,41	9,43	88,38	154,05	156,10	149,70	87,75
42	123,82	125,1	11,17	87,47	140,42	142,47	9,38	87,91	154,31	156,16	147,74	86,61

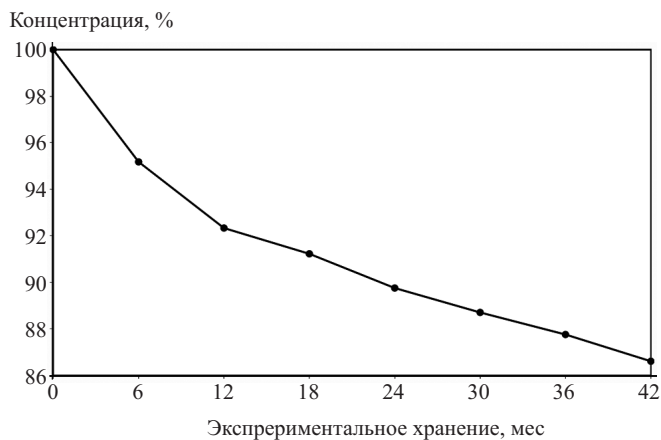


Рис. 3. Зависимость изменения концентрации пирецетама от времени экспериментального хранения.

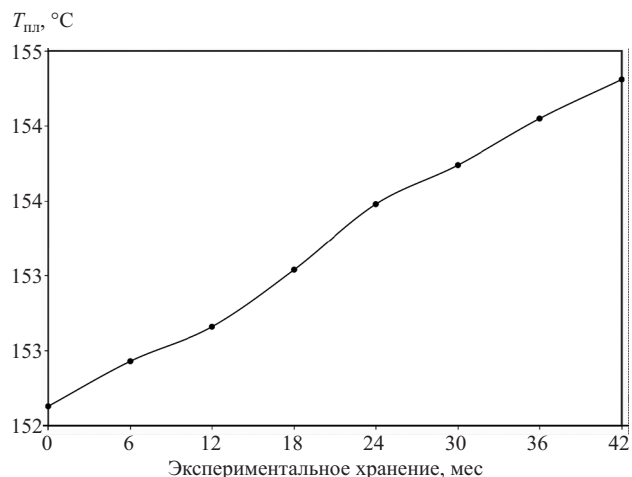


Рис. 4. Зависимость изменения температуры плавления пирецетама от времени экспериментального хранения.

Термограмма первого плавления (1) содержит 3 эндотермических пика:

пик А, растянутый пик с температурой плавления $T_{пл} = 114,89$ °C;

пик В, более компактный пик с температурой плавления $T_{пл} = 141,72$ °C;

пик С с температурой плавления $T_{пл} = 152,63$ °C и большей удельной энергией плавления.

Пики А и В относятся к примесным полиморфным формам пирецетама [11]. Пик С, как по температуре, так и удельной энергии, идентифицируется как пирецетам в лекарственной форме [12, 13].

При последующих циклах охлаждения и нагревания (термограммы 2, 3, 4) пики А и В не появляются, а стабильно воспроизводится пик D. Этот пик является результатом плавления продукта, полученного при кристаллизации пирецетама из расплава в предыдущем цикле нагрева — охлаждения. Это уже другая полиморфная форма, биологическая активность которой не испытывалась. Для нее средние значения температуры плавления 146,43 °C, удельной энергии плавления 124,61 Дж/г.

Для определения изменения концентрации содержания СО пирецетама в процессе хранения использовали известную формулу [6], расчет проводился для пика С:

$$c = \frac{q}{q_0} 100 \%, \quad (1)$$

где c — концентрация пирецетама в лекарственной форме, %; q — удельная энергия плавления лекарственной формы, содержащей пирецетам (исследуемого образца), Дж/г; q_0 — удельная энергия плавления чистого пирецетама, принятого за эталон, Дж/г.

Результаты и их обсуждение

Полученные данные свидетельствуют, что исследованный СО пирецетама является полиморфным и содержит 3 формы, 2 из которых (пики А и В, рис. 1) по

количеству малы и могут рассматриваться как примеси. Третья форма, пик С, может считаться основной, именно она исследована как лекарственный препарат и применяется на фармацевтическом рынке. После плавления и кристаллизации этой основной формы образуется новая, четвертая полиморфная форма, пик D. Для этой формы температура плавления 147,39 °C, удельная энергия плавления 129,27 Дж/г. При последующих циклах плавления — кристаллизации эта форма сохраняется.

За период экспериментального хранения в 4 года, в диапазоне температур от 20 до 200 °C на термограммах (рис. 2) для всех проб регистрируются те же 3 эндотермических пика. Первый и второй пики являются примесными полиморфными формами пирецетама. Трансформация основной формы в исследуемом образце в какую-либо другую форму в процессе экспериментального хранения не наблюдается. Происходит уменьшение удельной энергии плавления пика пирецетама (рис. 3), свидетельствующее о “потере массы” за счет разложения. Эта потеря характерна и для примесных форм (таблица). Одновременно происходит плавное увеличение температуры плавления пика основной формы пирецетама (рис. 4) и пиков примесных форм. Этот эффект свидетельствует о повышении степени чистоты препаратов в процессе хранения, вследствие того, что скорость разложения собственных примесей, внедренных в структуру этих форм препарата выше, чем скорость разложения “материнского” вещества.

За период времени, принадлежащий ресурсу срока годности в 3 года, образец пирецетама “теряет” по концентрации 12,246 %, а за весь период экспериментального хранения 13,39 % соответственно (рис. 3). Результаты расчета параметров качества сведены в таблицу.

Полученные зависимости изменения концентрации в процессе старения позволяют провести инструментальное объективное определение ресурса срока годности любого предъявленного для испытаний препарата пирецетама.

Подтверждено наличие достаточно большого количества полиморфных форм, которые могут быть идентифицированы методами ДСК. В связи с этим необходимо указывать для препарата его полиморфную форму, идентифицируя ее по температуре и удельной энергии плавления. Эта форма должна соответствовать прошедшей весь цикл медико-биологических испытаний.

ЛИТЕРАТУРА

1. R. O. Macedo, T. Gomes do Nascimento and J. W. E. Veras, *J. Therm. Anal. Cal.*, **67**, 483 – 489 (2002).
2. M. Ławecka, B. Kosmacińska, M. Glice and K. Korczak, *J. Therm. Anal. Cal.*, **83**, 583 – 585 (2006).
3. M. J. Koenigbauer, *Pharm. Res.*, **11**(6), 777 – 783 (1994).
4. D. Giron, *J. Therm. Anal. Cal.*, **68**, 335 – 357 (2002).
5. D. Giron, C. Golbronn, *J. Thermal Anal.*, **44**, 217 – 251 (1995).
6. R. Bucci, A. D. Magri, A. L. Magri, *J. Therm. Anal. Cal.*, **61**, 369 – 376 (2000).
7. D. Giron, C. Goldbronn, *J. Thermal Anal.*, **48**, 473 – 483 (1997).
8. P. Mura, P. Gratteri, M. T. Faucci, *J. Therm. Anal. Cal.*, **68**, 541 – 551 (2002).
9. И. М. Колпаков, Л. М. Чайлахян, Б. Н. Бойко, *Тез. докл. VIII ФРЭМЭ'2008*, Владимир — Суздаль (2008), сс. 231 – 233.
10. Б. Н. Бойко, *Прикладная микрокалориметрия: отечественные приборы и методы*, Наука, Москва (2006), сс. 26.
11. А. В. Титова, А. П. Арзамасцев, Д. Ю. Чашкин, *Хим.-фарм. журн.*, **42**(7), 45 – 47 (2008).
12. R. Ceolin, V. Agafonov, D. Louer, et al., *J. Solid State Chem.*, **122**, 186 – 194 (1996).
13. Piracetam, European Pharmacopoeia, Fifth edition, 5.4 supplement (2006), pp. 4006 – 4007.

Поступила 24.06.09

DSC MONITORING OF PYRACETAM CONCENTRATION STABILITY DURING EXPERIMENTAL STORAGE

B. N. Boyko¹ and I. M. Kolpakov^{1,2}

¹ Institute of Biological Instrumentation, Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russia;

² Pushchino State University, Pushchino, Russia

Problems related to the control of expiration date of ready-to-use drugs and substances are always topical. The problem can be solved by differential scanning calorimetry (DSC). This method was used to monitor changes in the concentration of piracetam parent substance during experimental storage. An analysis of the DSC data showed that this technique can be used for objectively determining the expiration date of the drugs irrespective of the storage conditions.

Key words: Piracetam parent substance, stability on storage, differential scanning calorimetry (DSC)