

На правах рукописи

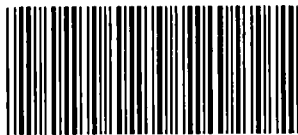
*Банк*

БАЛЫКЛОВА КСЕНИЯ СЕРГЕЕВНА

**НОВЫЕ МЕТОДЫ В ОЦЕНКЕ КАЧЕСТВА СУЛЬФАНИЛАМИДОВ  
(ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ СКАНИРУЮЩАЯ КАЛОРИМЕТРИЯ,  
ТЕРМОГРАВИМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ,  $\angle$   
НАРУШЕННОЕ ПОЛНОЕ ВНУТРЕННЕЕ ОТРАЖЕНИЕ,  
БЛИЖНЯЯ ИНФРАКРАСНАЯ СПЕКТРОСКОПИЯ)**

14.04.02 – Фармацевтическая химия, фармакогнозия

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата фармацевтических наук



4848768

Москва – 2011

2 ИЮН 2011

Работа выполнена в ГОУ ВПО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М.Сеченова

**Научные руководители:**

доктор фармацевтических наук, профессор Садчикова Наталья Петровна

доктор фармацевтических наук Титова Анна Васильевна

**Официальные оппоненты:**

доктор химических наук, профессор Харитонов Юрий Яковлевич

доктор фармацевтических наук Емшанова Светлана Витальевна

**Ведущая организация:**

ОАО «Всероссийский научный центр по безопасности биологически активных веществ» (ОАО «ВНЦ БАВ»)

Защита состоится: «20» июня 2011 г. в 13 часов на заседании Диссертационного совета Д.208.040.09 при ГОУ ВПО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова по адресу: 119019, г. Москва, Никитский бульвар, д. 13.

С диссертацией можно ознакомиться в Центральной научной медицинской библиотеке Первого МГМУ им. И.М.Сеченова (ЦНМБ) по адресу: 117998, г. Москва, Нахимовский проспект д. 49.

Автореферат разослан « 18 » мая 2011 г.

Ученый секретарь  
Диссертационного Совета

доктор фармацевтических наук,  
профессор

*Н.Сад.*

Садчикова Наталья Петровна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы.** Проблема обеспечения качества лекарственных средств сохраняет свою актуальность как на национальном, так и на международном уровне. Это обусловлено расширением их номенклатуры в первую очередь за счет увеличения воспроизведенных лекарственных средств, вовлечением в сферу обращения наряду с лекарственными препаратами фармацевтических субстанций. В условиях рыночного развития экономики страны в производство лекарственных средств включаются предприятия, не занимавшиеся ранее фармацевтическим производством, и использующие различные технологические схемы получения лекарственных средств.

Многообразие технологических процессов получения как субстанций, так и лекарственных препаратов на различных заводах привело к существованию на фармацевтическом рынке лекарственных средств одного наименования, но изготовленных по разным технологиям и вследствие этого различающихся по наличию или отсутствию полиморфных форм, сольватов и/или кристаллогидратов, что влияет на их биодоступность и ряд технологических характеристик.

Сульфаниламиды, несмотря на появление новых антибактериальных средств, регулярно назначаются при различных инфекционных заболеваниях. В настоящее время на фармацевтическом рынке России в обращении находится 10 наименований сульфаниламидов, субстанции производятся на 10 предприятиях, а готовые лекарственные формы – на 25.

Современные требования к качеству лекарственных средств характеризуются тенденцией к получению новых или дополнительных данных о свойствах и химических превращениях лекарственных веществ в составе лекарственных форм с помощью таких методов, которые еще не получили широкого распространения в фармацевтическом анализе и контроле процесса производства. К таким методам относятся ИК-спектроскопия в вариантах нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО) и ближ-

ней инфракрасной спектроскопии (БИК), дифференциальная сканирующая калориметрия (ДСК) и термогравиметрический анализ (ТГА).

Метод НПВО, в отличие от общепринятого варианта ИК-спектроскопии пропускания в дисках калия бромида или суспензии в масле, не требует специальной пробоподготовки образца и может быть использован в качестве экспресс-метода в испытаниях на подлинность лекарственных средств.

В последнее время возрос интерес к ближней области ИК-спектроскопии (БИК), но ее место в системе контроля качества лекарственных средств до конца не определено.

Термоаналитические методы анализа (ДСК и ТГА) находят практическое применение в анализе полиморфных форм веществ, для выявления различий в технологии получения субстанций и определения полиморфных форм веществ или примесей в лекарственных формах.

Таким образом, обоснование применения данных методов в системе контроля качества и производства лекарственных средств является актуальным и своевременным.

### **Цель и основные задачи исследования**

Целью настоящего исследования является изучение возможности использования комплекса методов термического анализа (ДСК, ТГА) и ИК-спектроскопии (НПВО, БИК) для оценки качества лекарственных средств из группы сульфаниламидов.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

– изучить кривые ДСК и ТГА субстанций и лекарственных форм сульфаниламидов различных заводов-изготовителей;

– изучить в сравнительном аспекте ИК-спектры пропускания и НПВО субстанций и лекарственных форм сульфаниламидов для обоснования использования метода НПВО в испытаниях на подлинность лекарственных веществ;

- дать сравнительную оценку БИК-спектров субстанций и лекарственных форм сульфаниламидов с помощью визуального метода анализа;
- провести хемометрическую обработку полученных БИК-спектров с помощью дискриминантного и кластерного видов анализа и на основании полученных результатов построить модели распределения «БИК-спектр – наименование субстанции» и «БИК-спектр – наименование препарата»;
- обосновать возможность применения БИК-спектроскопии для установления принадлежности лекарственного средства конкретному заводу-изготовителю.

### **Научная новизна результатов исследования**

С помощью комплекса методов термического анализа и ИК-спектроскопии получены новые данные о свойствах лекарственных веществ группы сульфаниламидов.

Методом ДСК и ТГА доказано присутствие примесей метастабильных полиморфных форм в субстанциях и таблетированных формах стрептоцида и норсульфазола. В образцах субстанции сульгина выявлено присутствие примесей метастабильных полиморфных форм и кристаллогидратов и/или сольватов, а в таблетках сульгина – только кристаллогидратной и/или сольватной формы.

Методом ДСК установлено, что при плавлении сульфацил-натрия, норсульфазола, этазола происходит необратимая аморфизация; стрептоцида, сульгина, сульфалена, сульфадимезина, сульфадимезин-натрия, сульфаметоксазола – рекристаллизация, а стрептоцид растворимый, норсульфазол-натрий и сульфадиметоксин плавятся с разрушением. Отмечено, что при повторном нагревании сульфадимезина и сульфадимезин-натрия происходит их рекристаллизация.

Результаты исследования образцов сульфаниламидов различных серий и предприятий-изготовителей, полученные методом ДСК, свидетельствуют о неоднородном составе стрептоцида, стрептоцида растворимого,

сульфацил-натрия, норсульфазола и фталазола, что может быть обусловлено некоторыми различиями в технологии их получения.

Показано, что НПВО- и БИК-спектры сульфаниламидов субстанций и однокомпонентных таблеток практически совпадают и могут быть использованы для подтверждения подлинности лекарственных веществ в составе лекарственных форм.

В НПВО- и БИК-спектрах комбинированных препаратов, содержащих сульфаметоксазол и триметоприм (400 мг + 80 мг), прослеживаются преимущественно полосы сульфаметоксазола; триметоприм проявляется лишь в виде малоинтенсивных полос при 1231 и 6814 см<sup>-1</sup>.

Полученные БИК-спектры субстанций и лекарственных форм были подвергнуты дискриминантному анализу с помощью программы «TQ Analyst» (критерием различия было расстояние Махаланобиса). На основании полученных результатов построены модели распределения анализируемых объектов по принадлежности их соответствующим предприятиям-изготовителям. Показано, что продукция одного наименования конкретного завода-изготовителя неоднородна от серии к серии, в то же время отмечена близость расстояния Махаланобиса для образцов одного наименования разных заводов-изготовителей. В ряде случаев с помощью дискриминантного анализа доказана принадлежность лекарственных веществ соответствующим заводам-изготовителям (субстанции: стрептоцида растворимого производства ОАО «Усолье-Сибирский ХФК», норсульфазола фирм «Шанхай Ю Ксинг Файн Кемикал Ко» и «МИР-ФАРМ», сульфадимезина фирмы «Хемофарма Усти», таблеток сульфадимезина производства ОАО «Ирбитский ХФЗ» и ОАО «Мосхимфармпрепараты» имени Н.А. Семашко).

**Практическая значимость результатов исследования.** На основе методов термического анализа и ИК-спектроскопии получены новые данные, характеризующие свойства и состав субстанций сульфаниламидов, используемых для получения лекарственных препаратов.

Разработаны методики подтверждения подлинности сульфаниламидов в субстанциях и лекарственных формах с помощью метода НПВО, апробированные в филиалах Федерального Государственного учреждения «Информационно-методический центр по экспертизе, учету и анализу обращения средств медицинского применения» Росздравнадзора (г. Красноярск, г. Ростов-на-Дону), рекомендованные для использования предприятиями и организациями, осуществляющими выпуск и контроль лекарственных средств.

Результаты исследования образцов фталазола методом ИК-спектроскопии использованы при разработке проекта соответствующей фармакопейной статьи для ГФ XII.

Полученные результаты свидетельствуют о целесообразности использования предприятиями методов ДСК, ТГА, НПВО и БИК для контроля технологических процессов получения лекарственных средств и обеспечения выпуска однородной и стандартной продукции.

**Апробация работы.** Результаты работы доложены на итоговой научной конференции студентов и молодых исследователей «Татьянин день» в 2009 и 2010 гг., на XVI Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство», на международной научно-практической конференции «Ботанические сады в 21 веке: сохранение биоразнообразия, стратегия развития и инновационные решения» в 2009 г.

**Личный вклад автора.** Автору принадлежит ведущая роль в анализе и обобщении полученных результатов. Вклад автора является определяющим и заключается в непосредственном участии во всех этапах исследования: от постановки задач, их экспериментально-теоретической реализации до обсуждения результатов в научных публикациях и докладах.

**Соответствие диссертации паспорту научной специальности.** Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 14.04.02 – «фармацевтическая химия, фармакогнозия». Результаты прове-

дённного исследования соответствуют области исследования специальности, конкретно пунктам 2 и 3 паспорта фармацевтическая химия, фармакогнозия.

**Публикации.** По материалам диссертации опубликовано 10 работ, из них 4 – в журналах, рекомендованных ВАК.

**Связь темы исследования с проблемным планом фармацевтических наук.** Диссертационная работа выполнена в рамках комплексной темы кафедры фармацевтической и токсикологической химии Первого МГМУ им. И.М.Сеченова «Основные направления создания и оценки качества лекарственных средств» (номер госрегистрации 01.2.006 06 352).

**Положения, выносимые на защиту:**

- новые данные о составе субстанций сульфаниламидов, полученные методами ДСК и ТГА;
- обоснование использования метода НПВО для подтверждения подлинности сульфаниламидов в субстанциях и лекарственных формах;
- обоснование применения комплекса методов НПВО и БИК с целью установления изготовителя субстанций и лекарственных форм и выявления фальсифицированной продукции;
- результаты хемометрической обработки БИК-спектров.

**Структура и объем диссертации.** Диссертационная работа изложена на 163 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы (1 глава), экспериментальной части (4 главы), общих выводов, списка литературы и приложений (14 страниц). Диссертация включает 27 таблиц и 122 рисунка. Библиографический список содержит 210 источников, из них 156 на иностранном языке.

## **СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **Объекты исследования и методы анализа**

Объекты исследования: стрептоцид, стрептоцид растворимый, сульфацил-натрий, сульгин, норсульфазол, норсульфазол-натрий, фталазол, этазол, сульфален, сульфадимезин, сульфадимезин-натрий, сульфадиме-



токсин и сульфаметоксазол. Общее количество серий образцов составило 167, из них 117 серий – субстанции и 50 серий – промышленные лекарственные формы (таблетки, порошки, мазь, глазные капли). В работе использовались образцы лекарственных средств, отвечающие требованиям действующей нормативной документации (ФСП или НД).

Исследование термическими методами проводилось на приборах с модулями DSC822e и TGA1 фирмы «Mettler Toledo» в диапазоне температур от 0 до 500 °С, с использованием системы термического анализа STAR<sup>с</sup> (2005 г). Работа проводилась согласно следующей схеме: вначале исследовали образец при стандартном режиме нагревания (от 30 до 300 °С со скоростью 5 °С/мин). Появление пиков на кривой ДСК свидетельствовало об изменении энтальпии, связанных с фазовым переходом вещества. Для установления однородности пиков нагревание проводили со скоростью 1 и 100 °С/мин. Термическую устойчивость пиков изучали нагреванием от 30 °С до температуры максимума пика, последующем охлаждением образца до 30 °С и повторным нагреванием до 300 °С (скорость нагревания была постоянной – 5 °С/мин) [Титова А.В., 2008]. Исследование соединения термогравиметрическим методом (ТГА) дало дополнительную информацию о возможной природе отмеченных пиков.

Исследование в средней и ближней ИК-области проводилось на приборах ИК-Фурье спектрометр Digilab Co Pharamlyzir (США) с приставками для получения спектров пропускания в дисках калия бромида и для получения НПВО-спектров и ИК-Фурье спектрометр Antaris II фирмы Thermo Electron Corporation (Интертек, США) с интегрирующей сферой.

### **Термоанализ сульфаниламидов (ДСК и ТГА)**

В результате проведенного исследования установлено, что пик на термограммах субстанции и таблеток стрептоцида с максимумом при температуре около 164,0 °С является фазовым переходом вещества из кристаллической формы в жидкую. Процесс плавления стрептоцида является обратимым и после плавления вещество восстанавливает свою кри-

сталлическую структуру. Кроме данного пика на термограммах обнаружены низкоинтенсивные пики, свидетельствующие о присутствии в стрептоциде метастабильных полиморфных форм, которые после плавления переходят в основную форму. Их присутствие подтверждено плавлением образца со скоростью нагревания  $100\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{мин}$  (рис. 1). Примесь полиморфной формы была обнаружена также на термограммах таблеток стрептоцида.

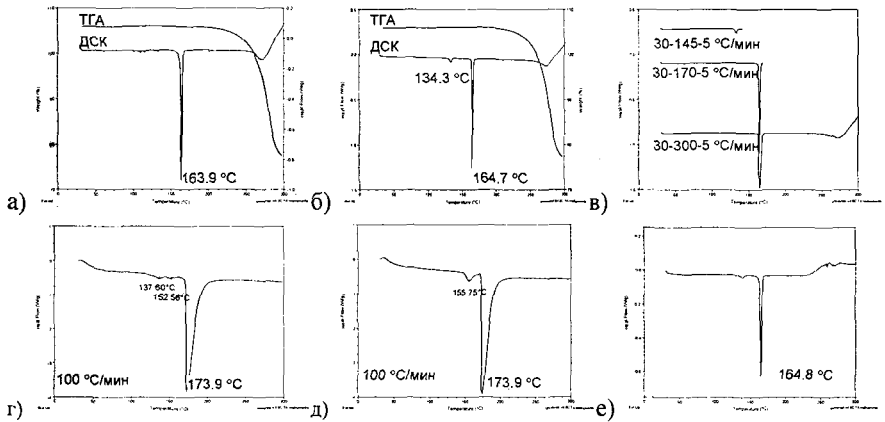


Рис.1. Термограммы ДСК и ТГА субстанций стрептоцида при стандартном режиме (а, б) ( $30-300-5\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{мин}$ ) и со скоростью нагревания  $100\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{мин}$  (г, д); термостабильность (в); термограммы ДСК таблеток стрептоцида (е)

Термограммы субстанции **стрептоцида растворимого** различных серий и заводов-изготовителей имеют различия в области фазового перехода вещества, что возможно, связано с разрушением структуры.

На термограммах ДСК всех образцов субстанции **сульфацил-натрия** четко видны два эндотермических пика с разной интенсивностью. По характеру термограмм ДСК исследуемые образцы сульфацил-натрия были разделены на две группы. На термограммах образцов первой группы между указанными пиками присутствует широкий эндотермический пик, а на термограммах второй группы – многочисленные низкоинтенсивные пики. Форма пиков и их поведение при различных режимах нагревания позволяют предположить, что первый пик ( $144,0\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) на термо-

граммах сульфацил-натрия является плавлением кристаллогидратной формы, второй – удалением растворителя (179,8 °С), третий пик (266,7 °С) – фазовым переходом кристаллической формы сульфацил-натрия, которая плавится с аморфизацией. Микроскопическое исследование субстанций сульфацил-натрия выявило различия по форме и размеру кристаллов между исследуемыми образцами (рис. 2).

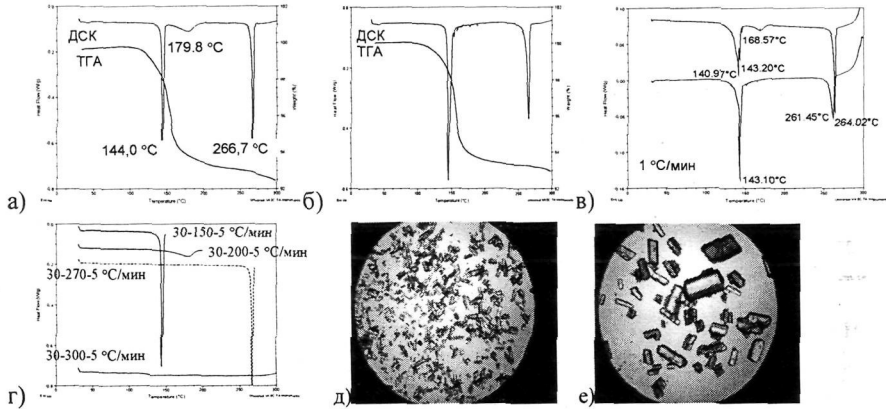


Рис.2. Термограммы ДСК и ТГА субстанций сульфацил-натрия первой (а) и второй (б) группы при стандартном режиме (30-300-5 °С/мин) и со скоростью нагревания 1 °С/мин (в); термостабильность (г); микроскопия (4х10) первой (д) и второй (е) группы образцов сульфацил-натрия

Из термограммы **сульгина** следует, что анализируемый образец содержит несколько полиморфных форм, одна из которых является кристаллогидратом и/или сольватом, две другие – собственно полиморфными формами. Установлено, что температура плавления сульгина в таблетках и субстанциях практически совпадает (рис. 3).

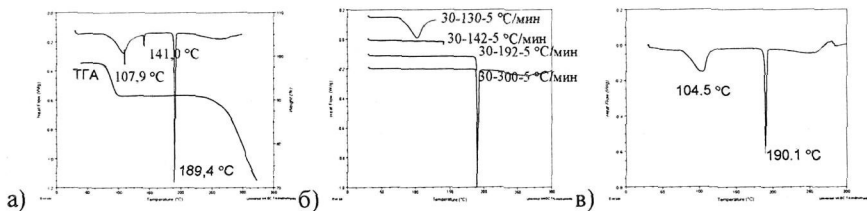


Рис.3. Термограммы ДСК и ТГА субстанций сульгина (а); термостабильность (б); термограмма ДСК таблеток сульгина (в)

Результаты анализа методом ДСК субстанций **норсульфазола** свидетельствуют о наличии двух полиморфных форм, которые после плавления аморфизуются. По характеру термограмм ДСК образцы норсульфазола были разделены на две группы. В первой группе одна из полиморфных форм плавилась при 163,4 °С, а во второй – при 170,9 °С. В таблетках температура плавления норсульфазола не изменяется (рис. 4).

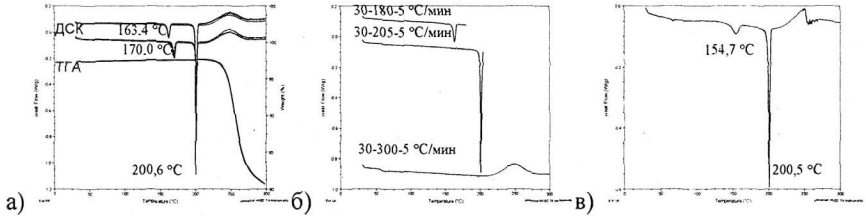


Рис.4. Термограммы ДСК и ТГА субстанций норсульфазола (а); термостабильность (б); термограмма ДСК таблеток норсульфазола (в)

На термограммах **норсульфазол-натрия** имеются два эндотермических пика, первый (91,3 °С) из которых обусловлен присутствием кристаллогидрата и/или сольвата в образце, второй (263,0 °С) – фазовым переходом из твердого состояния в жидкое, сопровождаемое разрушением структуры вещества (рис. 5а). При нагревании со скоростью 100 °С/мин установлено, что первый пик соответствует смеси двух форм (рис. 5б).

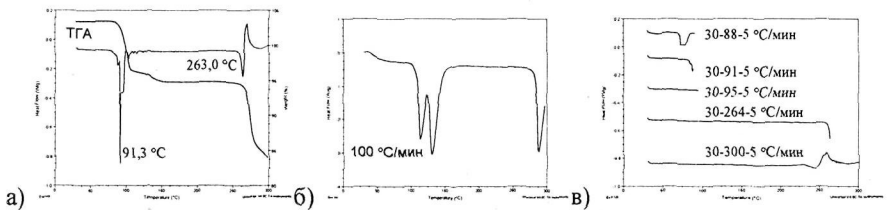


Рис.5. Термограммы ДСК и ТГА субстанций норсульфазол-натрия при стандартном режиме нагревания (30-300-5 С/мин) (а) и со скоростью 100 С/мин (б); термостабильность (в)

При нагревании **фгалазола** до 100 °С происходит удаление абсорбированного растворителя, что подтверждено данными ТГА. В интервале температур от 205,0 до 225,0 °С, возможно, происходит его циклизация с

образованием фталимида. При температуре около  $275,0\text{ }^{\circ}\text{C}$  происходит его плавление с дальнейшим разрушением (рис. 6а).

На термограммах ДСК таблеток фталазола нами отмечено смещение этих пиков и замечено присутствие небольшого эндотермического пика (около  $68,4\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), отнесенного нами к стеариновой кислоте. Это было подтверждено сравнением с термограммой ДСК стеариновой кислоты, используемой в качестве вспомогательного вещества при таблетировании.

Этазол и сульфален в субстанции и таблетках плавятся при одинаковых соответствующих температурах, при этом этазол плавится с необратимой аморфизацией, а сульфален частично восстанавливает кристаллическую структуру, о чем можно судить по уменьшению площади пика плавления сульфалена после нагревания.

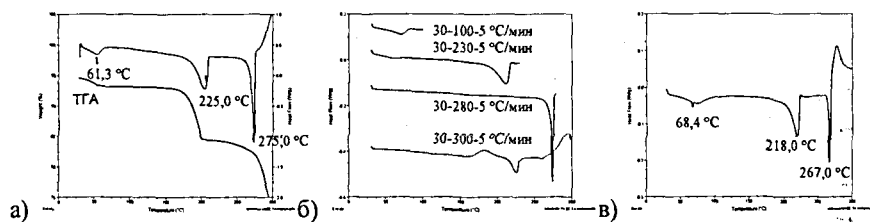


Рис.6. Термограммы ДСК и ТГА субстанции фталазола (а), его термостабильность (б); термограммы ДСК таблеток фталазола (в)

Сульфадимезин плавится при температуре около  $197,1\text{ }^{\circ}\text{C}$ . При повторном нагревании в интервале температур от  $30$  до  $200\text{ }^{\circ}\text{C}$  был выявлен экзотермический пик около  $145,0\text{ }^{\circ}\text{C}$ , который можно объяснить процессом рекристаллизации (рис. 7).

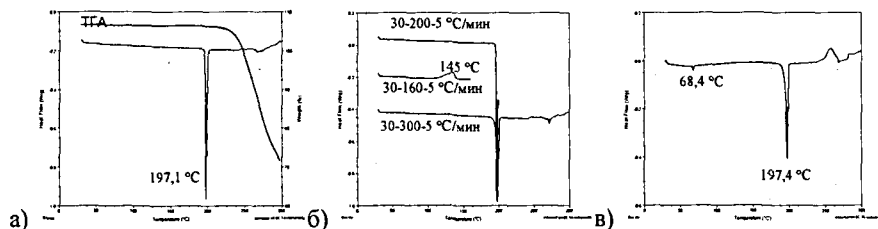


Рис.7. Термограммы ДСК и ТГА субстанции сульфадимезина (а); его термостабильность (б); термограмма ДСК таблеток сульфадимезина (и)

При температуре около 119,0 °С происходит разрушение кристаллогидратной формы **сульфадимезин-натрия** с удалением растворителя, при 302,0 °С – плавление с разрушением. **Сульфадиметоксин** также плавится с разрушением структуры. Температура плавления сульфадиметоксина в таблетках варьирует от 198,0 до 203,0 °С, что объясняется влиянием вспомогательных веществ. **Сульфаметоксазол** после плавления восстанавливает кристаллическую структуру.

### ИК-спектроскопия сульфаниламидов в средней области

Исследование сульфаниламидов в средней ИК-области проводилось методами пропускания в дисках калия бромид и НПВО. В результате проведенного исследования были выявлены незначительные различия в НПВО-спектрах субстанций стрептоцида и сульгина разных серий одного производителя, а также НПВО-спектров субстанции норсульфазола разных производителей. Данные различия устранялись измельчением образцов. ИК-спектры пропускания этих субстанций в дисках калия бромид не различались (рис. 8). У субстанций стрептоцида, сульгина, норсульфазола (рис. 8), сульфадимезина и сульфадимезин-натрия (рис. 9) также были выявлены различия между ИК-спектрами пропускания и НПВО, которые устранялись в результате предварительного измельчения образцов.

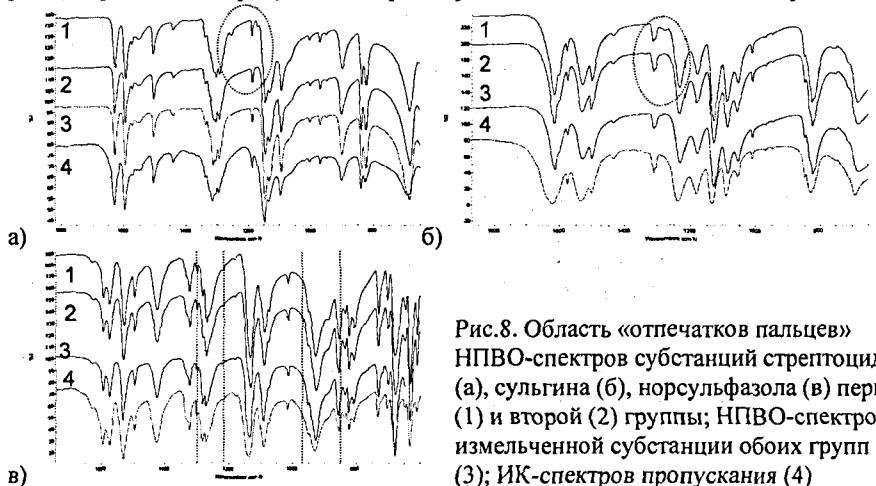


Рис.8. Область «отпечатков пальцев» НПВО-спектров субстанций стрептоцида (а), сульгина (б), норсульфазола (в) первой (1) и второй (2) группы; НПВО-спектров измельченной субстанции обеих групп (3); ИК-спектров пропускания (4)

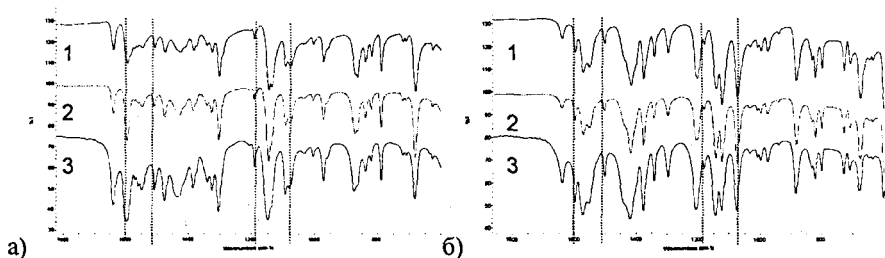


Рис.9. Область «отпечатков пальцев» НПВО-спектров субстанций сульфадимезина (а) и сульфадимезин-натрия (б) до (1), после (2) измельчения; ИК-спектров пропускания (3)

Различия между ИК-спектрами пропускания и НПВО субстанций стрептоцида растворимого, сульфалена и фталазола сохранялись и после их измельчения или высушивания (рис. 10, 11).

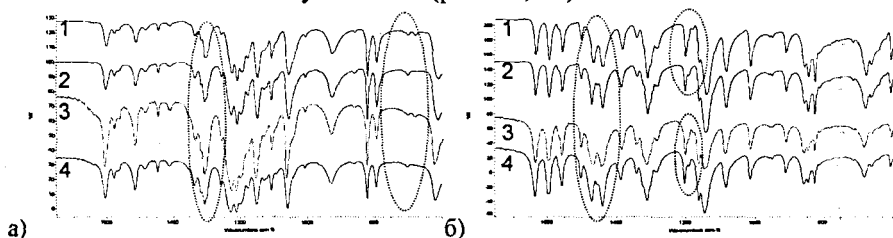


Рис.10. Область «отпечатков пальцев» НПВО-спектров субстанций стрептоцида растворимого (а), сульфалена (б) первой (1) и второй (2) группы; ИК-спектров пропускания первой (3) и второй (4) группы

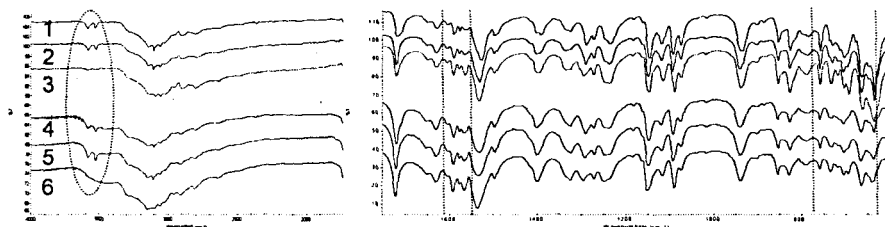


Рис.11. НПВО-спектры субстанции фталазола первой (1), второй (2), третьей (3) группы; ИК-спектры пропускания первой (4), второй (5), третьей (6) группы

В НПВО-спектрах таблеток стрептоцида, сульгина, норсульфазола, фталазола, сульфалена, этазола, сульфадимезина и сульфадиметоксина четко видны полосы действующего вещества, что позволяет рекомендо-

вать данный метод для обнаружения их в данных препаратах. Дополнительно выявлены полосы талька и стеариновой кислоты и/или её кальциевой и магниевой солей, а также небольшие изменения в спектре действующего вещества, обусловлены присутствием крахмала, что было нами подтверждено сравнением с НПВО-спектрами соответствующих вспомогательных веществ (рис. 12, 13, 14).

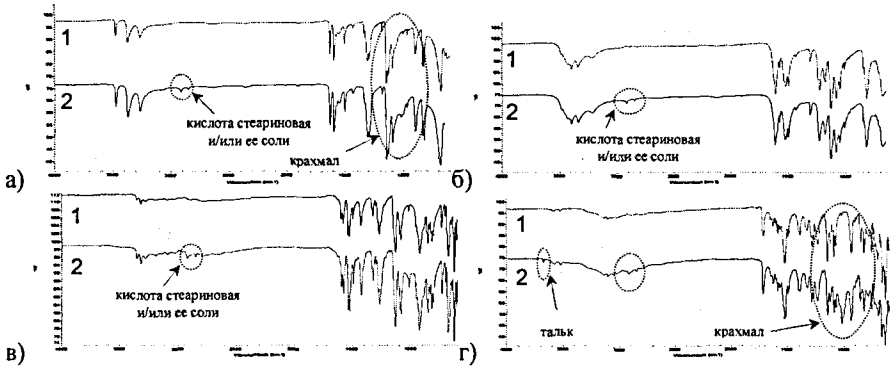


Рис.12. НПВО-спектры субстанций второй группы (1) и таблеток (2) стрептомида (а), сульгина (б), норсульфазола (в), фталазола (г)

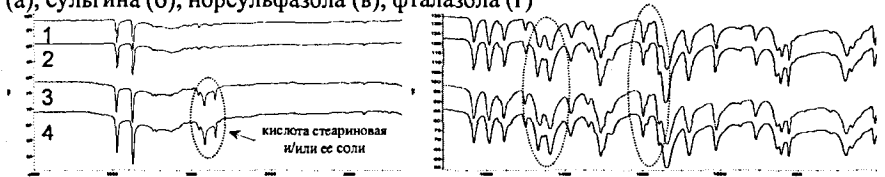


Рис.13. НПВО-спектры субстанции сульфалена первой (1), второй (2) группы и таблеток, изготовленных из субстанции первой (3) и второй группы (4)

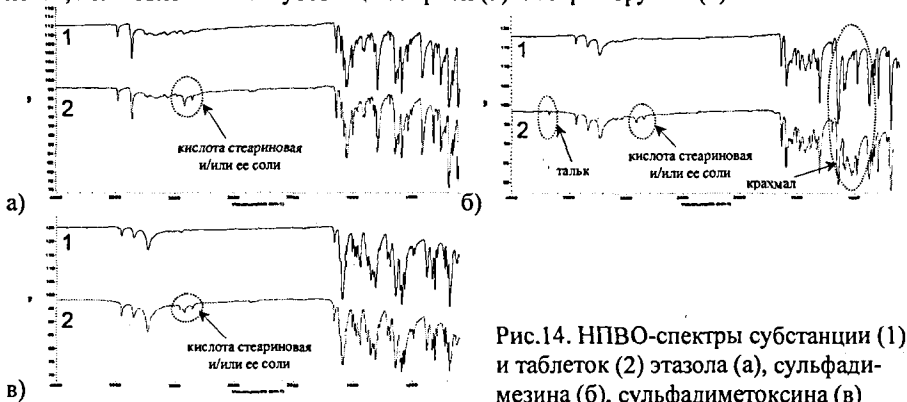


Рис.14. НПВО-спектры субстанции (1) и таблеток (2) этазола (а), сульфадимезина (б), сульфадиметоксина (в)



НПВО-спектры таблеток, содержащих сульфаметоксазол и триметоприм (400 мг + 80 мг), представлены полосами спектра сульфаметоксазола, а триметоприм проявляется в виде малоинтенсивной полосы при  $1231\text{ см}^{-1}$  (рис.15).

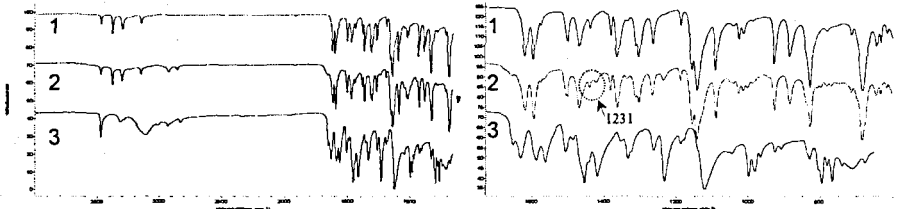


Рис.15. НПВО-спектры субстанции сульфаметоксазола (1), комбинированных таблеток (2) и триметоприма (3)

На основе проведенных исследований разработана экспресс-методика подтверждения подлинности стрептоцида и сульфацил-натрия в лекарственных препаратах «Мазь стрептоцидовая 10 %» и «Сульфацил-натрия капли глазные 20 %» (рис. 16).

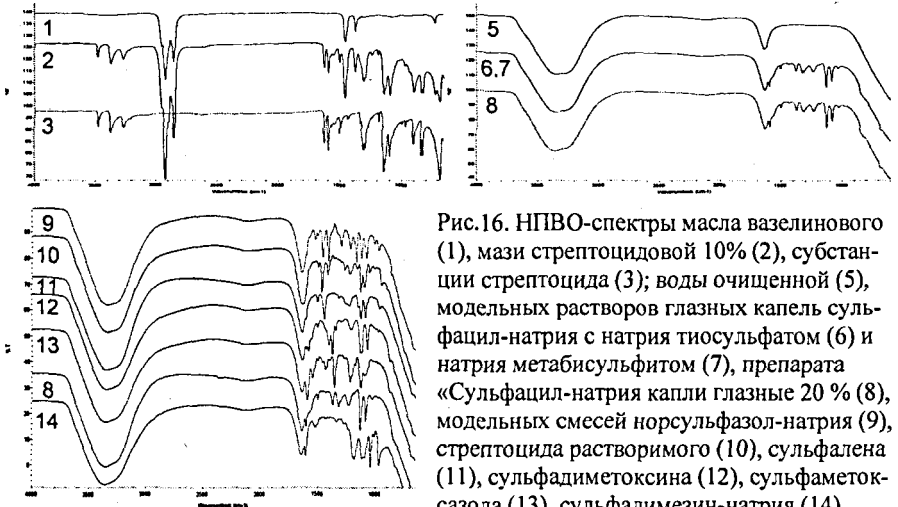


Рис.16. НПВО-спектры масла вазелинового (1), мази стрептоцидовой 10% (2), субстанции стрептоцида (3); воды очищенной (5), модельных растворов глазных капель сульфацил-натрия с натрия тиосульфатом (6) и натрия метабисульфитом (7), препарата «Сульфацил-натрия капли глазные 20 %» (8), модельных смесей норсульфазол-натрия (9), стрептоцида растворимого (10), сульфалена (11), сульфадиметоксина (12), сульфаметоксазола (13), сульфадимезин-натрия (14)

Специфичность методики для сульфацил-натрия доказана путем сравнения с НПВО-спектрами растворов других сульфаниламидов и подтверждением отсутствия влияния на НПВО-спектр препарата натрия тио-

сульфата и натрия метабисульфита, применяемых в качестве антиоксидантов (рис. 16).

### ИК-спектроскопия сульфаниламидов в ближней области

Исследование субстанций и таблеток сульфаниламидов в ближней ИК-области проводилось методом диффузного отражения с помощью интегрирующей сферы. При визуальном анализе БИК-спектров субстанций одного и того же наименования были выявлены различия по положению и интенсивности некоторых полос, на основании чего образцы субстанций стрептоцида, стрептоцида растворимого, норсульфазола и сульфалена были разделены на две группы, а фталазола – на три (рис. 17).

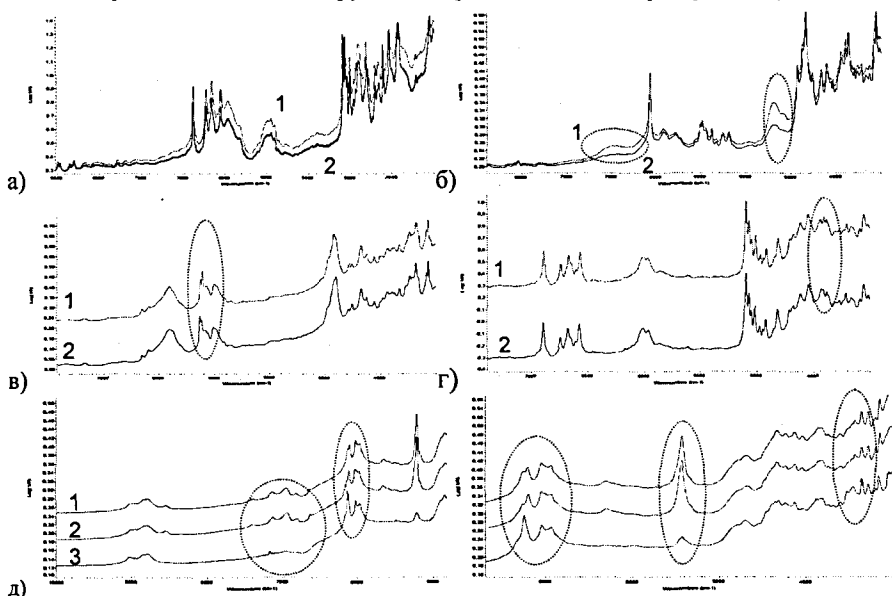


Рис.17. БИК-спектры субстанций стрептоцида (а), стрептоцида растворимого (б), норсульфазола (в), сульфалена (г) первой (1) и второй (2) группы и субстанции фталазола (д) первой (1), второй (2) и третьей (3) группы

В тоже время отмечено совпадение БИК-спектров всех проанализированных образцов субстанций сульфацил-натрия, сульгина, норсульфазол-натрия, этазола, сульфадимезина, сульфадимезин-натрия, сульфадиметоксина и сульфаметоксазола.

В БИК-спектрах таблеток стрептоцида, сульгина, норсульфазола, фталазола, сульфалена, этазола, сульфадимезина и сульфадиметоксина четко проявлялись полосы действующего вещества, что дает основание рекомендовать данный метод для экспресс-определения лекарственных веществ в составе таблетированных форм (рис. 18, 19, 20).

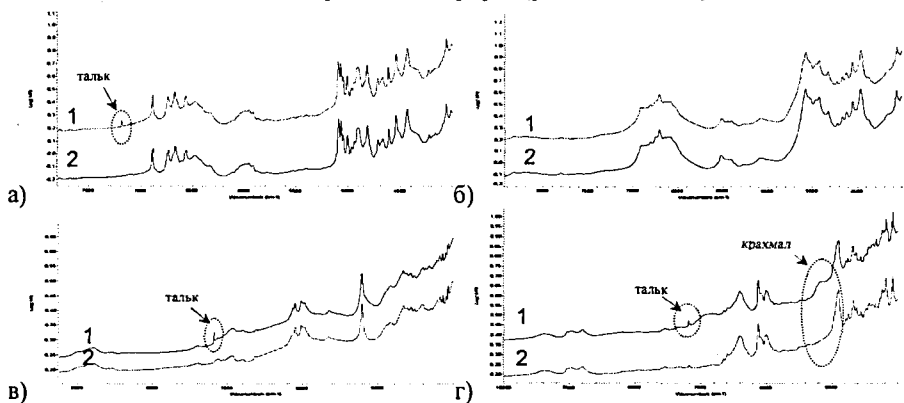


Рис.18. БИК-спектры таблеток (1) и субстанций (2) стрептоцида (а), сульгина (б), фталазола (в), норсульфазола (г) второй группы

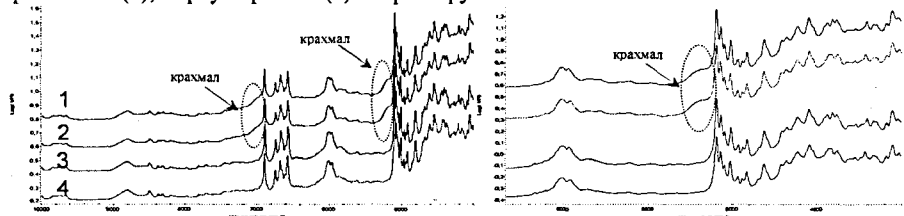


Рис.19. БИК-спектры таблеток (1, 2) и субстанций первой (3), второй (4) групп сульфалена

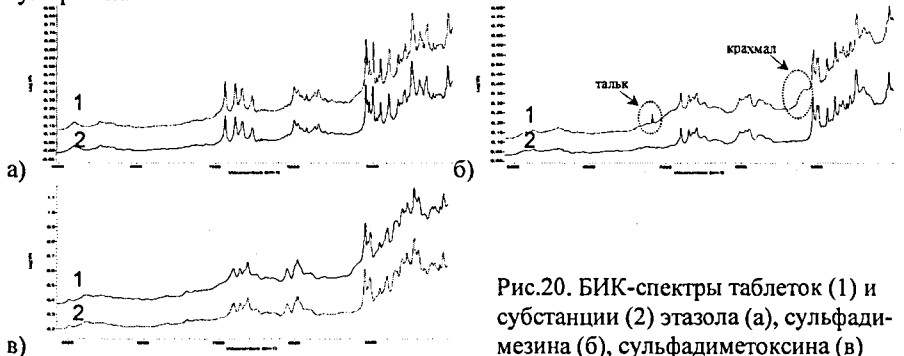


Рис.20. БИК-спектры таблеток (1) и субстанции (2) этазола (а), сульфадимезина (б), сульфадиметоксина (в)

Дополнительно выявлены полосы, соответствующие тальку и крахмалу, что подтверждено сравнением с БИК-спектрами данных вспомогательных веществ.

В БИК-спектрах таблеток, содержащих сульфаметоксазол и триметоприм, (рис. 21) проявляются полосы сульфаметоксазола, лишь в отдельных образцах обнаружено присутствие малоинтенсивной полосы, соответствующей триметоприму ( $6814 \text{ см}^{-1}$ ).

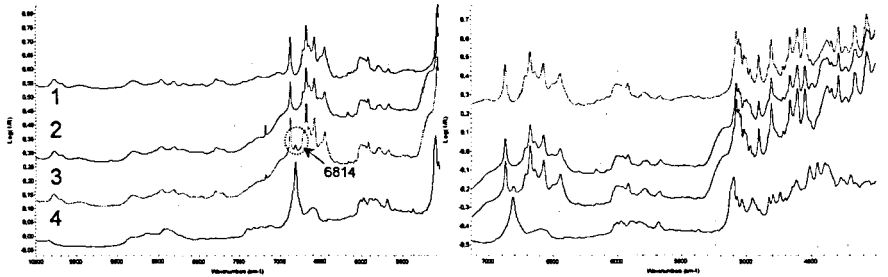


Рис.21. БИК-спектры субстанций сульфаметоксазола (1), таблеток, содержащих сульфаметоксазол и триметоприм (400:80) (2, 3) и субстанции триметоприма (4)

Наряду с визуальной оценкой спектры в ближней ИК-области были подвергнуты дискриминантному анализу (пакет программ «TQ analyst»), который основан на выявлении признаков различия исследуемых объектов и объединении их в дискриминантную группу по принципу отсутствия различия. В качестве критерия различия используется расстояние Махаланобиса, которое не должно превышать величины в  $3\sigma$  для наблюдений, входящих в конкретную дискриминантную группу [Крищенко В.П., 1997 г.].

Данный метод обработки результатов был использован для: 1) обоснования пригодности метода БИК в испытаниях на подлинность сульфаниламидов; 2) распределения лекарственных средств по принадлежности к соответствующим заводам-изготовителям.

Для решения первой задачи была построена модель распределения «БИК-спектр – наименование субстанции» по результатам испытаний методом БИК. Для создания этой модели использовали образцы, не имею-

щие различий при визуальной оценки в БИК-спектрах, а также, как показали наши исследования, не различающиеся по результатам анализа методами ДСК и НПВО. Для проверки модели использовали БИК-спектры сульфаниламидов, не участвовавших в ее построении. Результатом этого явилась идентификация таких образцов. Аналогичным образом была построена и проверена модель распределения по наименованиям для таблеток сульфаниламидов.

Для установления принадлежности анализируемых образцов соответствующему предприятию-изготовителю были построены модели распределения их БИК-спектров по каждому наименованию лекарственного средства. Результаты представлены в таблицах, на темном фоне которых выделена область значения расстояния Махаланобиса меньше  $3\sigma$ .

На примере результатов дискриминантного анализа БИК-спектров субстанции норсульфазола (табл. 1) показано, что все исследуемые образцы четко делятся на две группы по их принадлежности заводу-изготовителю. Расстояние Махаланобиса, рассчитанное для БИК-спектров различных серий данной субстанции одного и того же производителя не превышает  $3\sigma$ , что свидетельствует об отсутствии различий между спектрами и однородности продукции.

В тоже время расстояние Махаланобиса, рассчитанное при построении модели распределения БИК-спектров образцов по производителям, значительно превышает  $3\sigma$ , что характеризует объективное различие между спектрами субстанций производителей «Шанхай Ю Ксинг Файн Кемикал Ко» и «МИР-ФАРМ».

Для подтверждения полученных результатов мы использовали кластерный анализ, который позволяет исходное множество наблюдений распределить на группы или кластеры по принципу максимальной схожести. Результатом проведенной работы явился графический отчет, согласному которому исследуемые образцы норсульфазола также классифицировались на две группы по производителям (рис. 22).

Таблица 1

Расстояние Махаланобиса при дискриминантном анализе БИК-спектров всех серий субстанции норсульфазола

Производители	«Шанхай Ю Ксинг Файн Кемикал Ко»		«МИР-ФАРМ»			
	серии	б	в	г	д	е
«Шанхай Ю Ксинг Файн Кемикал Ко»	а	1,2	2,1	12	12	12
	б		1,8	11	11	11
	в			12	12	12
«МИР-ФАРМ»	г				1,4	1,0
	д					1,3

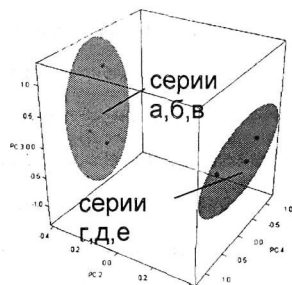


Рис.22. Графический отчет кластерного анализа БИК-спектров всех образцов субстанции норсульфазола

Дискриминантный анализ БИК-спектров таблеток сульфадимезина показал, что существует четкое разделение спектров исследуемых образцов по конкретным производителям (табл. 2). Аналогичное разделение данных таблеток было получено при исследовании их БИК-спектров с помощью кластерного анализа (рис. 23).

Таблица 2

Расстояние Махаланобиса при дискриминантном анализе БИК-спектров всех серий образцов таблеток сульфадимезина

Производители	ОАО «Ирбитский ХФЗ»		ОАО «Мосхимфармпрепарат» им. Н.А. Семашко
	серии	б	в
ОАО «Ирбитский ХФЗ»	а	1,5	5
	б		5

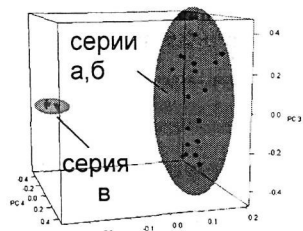


Рис.23. Графический отчет кластерного анализа БИК-спектров всех образцов таблеток сульфадимезина

### Общие выводы:

1. На основании анализа кривых ДСК и ТГА субстанций и таблеток сульфаниламидов доказана неоднородность состава лекарственных веществ одного наименования разных заводов-изготовителей и присутствие в них примесей полиморфных форм, сольватов и кристаллогидратов.

2. Впервые получены НПВО-спектры субстанций и лекарственных форм сульфаниламидов разных заводов-изготовителей. Показано, что в отличие от ИК-спектра пропускания в дисках калия бромида метод НПВО позволяет подтверждать подлинность сульфаниламидов в субстанциях и лекарственных формах (таблетки, порошки, глазные капли, мази) без предварительной пробоподготовки, что целесообразно использовать в экспресс-анализе данных лекарственных средств.

3. Впервые получены БИК-спектры субстанций сульфаниламидов и их лекарственных форм; показано, что визуальная оценка спектров может быть использована в испытаниях на подлинность лекарственных веществ и однокомпонентных лекарственных форм и не приемлема для комбинированных препаратов, содержащих сульфаметоксазол и триметоприм.

4. По результатам дискриминантного анализа построены модели распределения «БИК-спектр – наименование субстанции» и «БИК-спектр – наименование препарата», позволяющие проводить идентификацию лекарственных веществ 13 наименований и таблетированных форм 7 наименований.

5. На примере лекарственных средств из группы сульфаниламидов показана целесообразность использования дискриминантного анализа БИК-спектров для установления их принадлежности соответствующему заводу-изготовителю и выявлению контрафактной продукции.

6. По результатам дискриминантного анализа рассчитаны расстояния Махаланобиса для БИК-спектров таблетированных форм, свидетельствующие о неоднородности различных серий препарата одного и того же наименования конкретных заводов-изготовителей.

#### **Публикации по теме диссертации:**

1. Титова А.В., Садчикова Н.П., Арзамасцев А.П., Балыклова К.С. Использование нарушенного полного внутреннего отражения в анализе

сульфаниламидных препаратов // Сборник материалов XV Российского национального конгресса «Человек и лекарство». – М., 2008. – С. 565-566.

2. Садчикова Н.П., Арзамасцев А.П., Титова А.В., Балыклова К.С. Использование метода НПВО в анализе стрептоцида и его лекарственных форм // **Вестник Воронежского государственного университета. Серия: химия, биология, фармация.** – 2008. – № 2. – С.150-152.

3. Титова А.В., Садчикова Н.П., Арзамасцев А.П., Балыклова К.С. Исследование стрептоцида методами термического анализа // Сборник материалов XVI Российского национального конгресса «Человек и лекарство». – М., 2009. – С. 747-748.

4. Титова А.В., Садчикова Н.П., Арзамасцев А.П., Балыклова К.С. Анализ таблеток сульфалена методом нарушенного полного внутреннего отражения // Сборник материалов XVI Российского национального конгресса «Человек и лекарство». – М., 2009. – С. 748.

5. Балыклова К.С., Садчикова Н.П., Титова А.В. Перспективы использования нарушенного полного внутреннего отражения в анализе сульфаниламидных препаратов // Сборник материалов международной научно-практической конференции «Ботанические сады в 21 веке: сохранение биоразнообразия, стратегия развития и инновационные решения», Белгород. – 2009. – С. 405-407.

6. Балыклова К.С., Садчикова Н.П., Арзамасцев А.П., Титова А.В. Использование метода ближней инфракрасной спектроскопии в анализе субстанций и таблеток сульфалена // **Вестник Воронежского государственного университета. Серия: химия, биология, фармация.** – 2009. – № 1. – С. 97-100.

7. Арзамасцев А.П., Садчикова Н.П., Титова А.В., Балыклова К.С. Исследование норсульфазола методами дифференциальной сканирующей calorиметрии и ИК-спектроскопии // **Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии.** – 2010. – № 2. – С. 42-44.



8. Садчикова Н.П., Арзамасцев А.П., Титова А.В., Балыклова К.С. Экспресс методика идентификации сульфацил-натрия в глазных каплях // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2010. – № 3. – С. 19-20.

9. Титова А.В., Садчикова Н.П., Балыклова К.С., Кисилев М.Р., Нагановский Ю.К. Исследование сульгина методами термического анализа // Сборник материалов XVII Российского национального конгресса «Человек и лекарство». – М., 2010. – С. 551.

10. Балыклова К.С., Титова А.В., Садчикова Н.П. Гармонизация фармакопейных требований к качеству фталазола // Сборник материалов XVII Российского национального конгресса «Человек и лекарство». – М., 2010. – С. 507.

Подписано в печать: 17.05.11  
Объем: 1,5 усл.п.л.  
Тираж: 100 экз. Заказ № 3817  
Отпечатано в типографии «Реглет»  
119526, г. Москва, пр-т Вернадского,39  
(495) 363-78-90; [www.reglet.ru](http://www.reglet.ru)