



4843371

0

БУДАНЦЕВ ЛЕВ АНДРЕЕВИЧ

**РАЗРАБОТКА МЕТОДИК АНАЛИЗА ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ
ФАЛЬСИФИЦИРОВАННЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ**

14.04.02. - Фармацевтическая химия, фармакогнозия

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

27 ЯНВ 2011

Москва
2010

Диссертационная работа выполнена во Всероссийском научно-исследовательском институте лекарственных и ароматических растений (ВИЛАР) РАСХН.

Научный руководитель:
доктор фармацевтических наук,
профессор

Саканян Елена Ивановна

Официальные оппоненты:
доктор фармацевтических
наук, профессор

Прокофьева Вера Ивановна

доктор
фармацевтических наук

Боковикова Татьяна Николаевна

Ведущая организация:
Тюменская государственная медицинская академия

Защита состоится «___» _____ 2011 г. в ___ ч. ___ мин. на заседании диссертационного совета Д 006.070.01 во Всероссийском научно-исследовательском институте лекарственных и ароматических растений (ВИЛАР) РАСХН (117216, г. Москва, ул.Грина, д.7) по адресу: 123056, ул.Красина, д.2.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ВИЛАР по адресу: 117216, г. Москва, ул.Грина, д.7

Автореферат разослан «___» _____ 20__ г.

Ученый секретарь Диссертационного совета
Д 006.070.01
доктор фармацевтических
наук



Громакова Алла Ивановна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. В последние десятилетия в мире наблюдается интенсивный рост фармацевтической промышленности, увеличение ассортимента и объёмов производства лекарственных средств. Это приводит к обострению ряда проблем, связанных с качеством лекарственных средств, в том числе их фальсификацией.

Среди причин, способствующих распространению фальсифицированных лекарственных средств в России, можно назвать присутствие на рынке большого количества дженериковых лекарственных препаратов, стандарты качества которых существенно отличаются друг от друга. Это затрудняет оценку качества воспроизведенных лекарственных средств, что отрицательно сказывается на эффективности выявления фальсифицированных препаратов.

Среди лекарственных средств, наиболее часто подвергающихся фальсификации на территории Российской Федерации, можно отметить лекарственные препараты, обладающие антибактериальным, спазмолитическим действием, а также нестероидные противовоспалительные средства. При этом на территории Центрального и Северо-Западного регионов РФ среди антибактериальных лекарственных средств значительную долю составляют сульфаниламиды, среди лекарственных средств спазмолитического действия – дротаверина гидрохлорид, а в ряду нестероидных противовоспалительных препаратов лидирующие позиции занимают препараты диклофенака натрия.

В связи с этим представляются актуальными исследования по разработке методик выявления фальсифицированных лекарственных средств на примере этих фармакотерапевтических групп.

Цель работы. Целью настоящего диссертационного исследования является разработка комплексных методик анализа, позволяющих выявить фальсифицированные лекарственные субстанции и препараты, относящиеся к группам противомикробных средств, спазмолитиков и нестероидных противовоспалительных средств на примере сульфаниламидов, дротаверина гидрохлорида и диклофенака натрия.

Задачи исследования. Для достижения поставленной цели требовалось решить следующие задачи:

- провести сравнительный анализ современных подходов к оценке качества лекарственных средств групп противомикробных, спазмолитических и нестероидных противовоспалительных препаратов на примере сульфаниламидов, дротаверина гидрохлорида и диклофенака натрия, представленных на отечественном и зарубежном фармацевтическом рынке;
- определить основные показатели качества этих групп лекарственных средств, анализ по которым способствует выявлению фальсификатов;
- разработать унифицированные методики фармацевтического анализа антимикробных препаратов, спазмолитических и нестероидных проти-

69

воспалительных лекарственных средств (на примере сульфаниламидов, дротаверина гидрохлорида и диклофенака натрия), гарантирующие выявление фальсификата;

- подготовить методические рекомендации по выявлению фальсифицированной фармацевтической продукции из числа противомикробных, спазмолитических и нестероидных противовоспалительных средств на примере сульфаниламидов, дротаверина гидрохлорида и диклофенака натрия.

Научная новизна работы. В процессе исследований впервые был осуществлен полный анализ отечественной и зарубежной нормативной документации, регламентирующей качество лекарственных субстанций и препаратов групп противомикробных, спазмолитических и нестероидных противовоспалительных средств на примере сульфаниламидов, дротаверина гидрохлорида и диклофенака натрия. Установлено, что для выявления фальсификата наиболее информативными методами являются ИК-спектроскопия, УФ-спектрофотометрия, высокоэффективная жидкостная и тонкослойная хроматография.

Определено, что такие показатели качества лекарственных средств, как «Описание», «Растворимость», «Упаковка», «Маркировка» имеют вспомогательное значение при выявлении фальсификата этих групп лекарственных средств и могут быть использованы лишь на предварительном этапе его обнаружения.

Наиболее информативными при выявлении фальсифицированных сульфаниламидов, спазмолитиков и нестероидных противовоспалительных средств являются такие показатели качества, как «Подлинность», «Чистота» и «Количественное определение». Доказана целесообразность использования стандартных образцов как лекарственных субстанций, так и примесей.

Впервые разработаны унифицированные методики анализа лекарственных средств группы сульфаниламидов, спазмолитиков и нестероидных противовоспалительных средств, позволяющие определять не только фальсификаты, не содержащие действующих веществ вовсе, но и фальсификаты, действующее вещество в которых было заменено соединением сходной химической природы, и сделать однозначное заключение о факте фальсификации лекарственного средства.

Практическая значимость работы. Результаты исследования использованы при составлении методических рекомендаций по выявлению фальсифицированных лекарственных средств группы противомикробных препаратов, спазмолитиков и нестероидных противовоспалительных средств на примере сульфаниламидов, дротаверина гидрохлорида и диклофенака натрия. Приведенные в них методики апробированы в условиях деятельности контрольно-аналитических лабораторий Москвы и Санкт-Петербурга (акты о внедрении).

Апробация работы. Основные положения работы доложены на II Всероссийском съезде фармацевтических работников (Сочи, 2005), научно-практической конференции "Современные принципы и технологии разработки

лекарственных средств" (Москва, 2006), научно-практической конференции "Современные методы стандартизации и контроля качества лекарственных средств" (Москва, 2006), научно-практической конференции «Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции» (Пятигорск, 2007 и 2008 гг.)

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 10 работ.

Связь исследований с проблемным планом НИР. Диссертационная работа выполнена в соответствии с тематикой и планом научно-исследовательских работ Всероссийского научно-исследовательского института лекарственных и ароматических растений по «Программе фундаментальных и приоритетных прикладных исследований по научному обеспечению развития агропромышленного комплекса Российской Федерации на 2006-2010 гг.», заданию 04.13. Разработка технологии производства высокоэффективных лечебных и профилактических препаратов из растительного сырья.

Основные положения, выносимые на защиту:

- показатели качества противомикробных лекарственных средств на примере сульфаниламидов, а также методики их установления, позволяющие выявлять фальсификаты;
- показатели качества и методики их оценки для лекарственных субстанций и препаратов группы спазмолитиков на примере дротаверина гидрохлорида, позволяющие выявлять фальсификат;
- показатели качества и методики их определения для лекарственных субстанций и препаратов группы нестероидных противовоспалительных средств на примере диклофенака натрия, позволяющие выявлять фальсификат;
- материалы методических рекомендаций по выявлению фальсифицированных лекарственных средств групп противомикробных препаратов, спазмолитиков и нестероидных противовоспалительных средств на примере сульфаниламидов, дротаверина гидрохлорида и диклофенака натрия.

Объем и структура диссертации. Диссертационная работа изложена на 182 страницах машинописного текста, включает 52 таблицы, иллюстрирована 35 рисунками и состоит из введения, обзора литературы по теме исследования (глава I) и четырех глав экспериментальных исследований (главы II-V), выводов и списка литературы, включающего 157 источников, из них 38 на иностранных языках.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

ВВЕДЕНИЕ

Во введении отражены актуальность, научная новизна и практическая значимость работы, определена цель и сформулированы адекватные ей задачи исследования.

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ (ГЛАВА 1)

В данной главе содержатся результаты анализа литературных источников по вопросу истории возникновения, развития и современного состояния проблемы наличия фальсифицированных лекарственных средств как на отечественном, так и на зарубежном фармацевтическом рынке. Дана подробная характеристика нормативно-правовой базы, регламентирующей качество лекарственных средств в России и за рубежом, и мероприятиям, позволяющим предотвратить доступ фальсифицированной фармацевтической продукции в медицинскую практику. Особое внимание уделено вопросам оценки качества сульфаниламидных препаратов, дротаверина гидрохлорида и диклофенака натрия как лекарственных средств, наиболее часто подвергающимся фальсификации на территории Центрального и Северо-Западного регионов РФ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ (ГЛАВА 2)

Приведена характеристика объектов, материалов и методов исследования, а также используемого оборудования. Представлены методики исследований, выполненных в работе.

В качестве объектов исследований были использованы субстанции сульфаниламидов, их таблетированные лекарственные формы, а также субстанции, таблетки и растворы для инъекций дротаверина гидрохлорида и диклофенака натрия.

Помимо вышперечисленных объектов, исследованию подвергался ряд нормативных документов, регламентирующих качество сульфаниламидных лекарственных субстанций и препаратов, лекарственных субстанций и препаратов дротаверина гидрохлорида и диклофенака натрия.

Отдельные исследования, связанные с разработкой методик анализа объектов диссертационной работы, были проведены на базе центров по контролю качества лекарственных средств Москвы и Санкт-Петербурга.

Температуру плавления субстанций определяли в соответствии с методом 1 ГФХII [ОФС 42-0034-07] на приборе для определения температуры плавления ПТП (М).

Оценку растворимости субстанций проводили по методике ГФХII [ОФС 42-0049-07]. В качестве растворителей использовали воду, спирт этиловый, хлороформ, ацетон.

Идентификация субстанций сульфаметоксазола, сульфадиметоксина, сульфацидамида натрия и триметоприма проводилась в соответствии с разделом ГФХІ «Общие реакции на подлинность», п. «Амины ароматические первичные» [ГФХІ, вып. 1, с. 159], а также с применением методик, описанных в действующей нормативной документации.

Идентификацию дрогаверина гидрохлорида и диклофенака натрия проводили по методикам, описанным в действующей нормативной документации.

Количественное определение сульфаметоксазола, сульфадиметоксина и их смесей с родственными веществами проводили методом нитритометрии согласно ГФХІІ, статья «Нитритометрия» [ОФС 42-0054-07].

Для получения ИК-спектров использовали ИК-Фурье-спектрометр ФСМ-1201 производства Инфралом (Россия). Снимали спектры в дисках калия бромида, а также в вазелиновом масле. Испытания проводили согласно требованиям ГФ ХІ [ГФХІ, вып. 1, с. 37], а также ГФХІІ [ОФС 42-0043-07].

УФ-спектры снимали на УФ-спектрофотометре СФ-2000 производства «ОКБ Спектр» (Россия) в кюветках с толщиной слоя 10 мм. Испытания проводили в соответствии с требованиями ГФ ХІ [ГФХІ, вып. 1, с. 34] и ГФХІІ [ОФС 42-0042-07].

Для оценки количественного содержания действующих компонентов использовали растворы рабочих стандартных образцов, имеющие концентрацию, примерно равную таковой испытуемого раствора.

Для получения ¹Н-ПМР-спектров использовали ЯМР-спектрометр Bruker AM-500. Интерпретацию полученных спектров осуществляли с помощью базы данных Национального института развитой промышленной науки и технологии (Япония). Испытания проводили согласно требованиям ГФ ХІ [ГФХІ, вып. 1, с. 50], а также ГФХІІ [ОФС 42-0046-07].

Анализ субстанций и препаратов диклофенака натрия, а также смесей диклофенака натрия и индометацина проводили на хроматографе Shimadzu LC20 (Япония), снабженном УФ-детектором с изменяемой длиной волны. Использовали металлическую колонку «Luna C 18» размером 250x4,6 мм с размером частиц 5 мкм. В качестве подвижной фазы использовали смесь метанола и фосфатного буферного раствора с рН 2,5, а также смесь ацетонитрила и фосфатного буферного раствора с рН 2,5 (доводку рН осуществляли с помощью кислоты фосфорной). Колонку термостатировали при температуре 40°С.

Анализ лекарственных субстанций и препаратов дрогаверина гидрохлорида, а также смесей дрогаверина гидрохлорида и папаверина гидрохлорида также проводилось на приборе Shimadzu LC20 (Япония) с применением колонки «Luna C 18» размером 250x4,6 мм с размером частиц 5 мкм. Подвижная фаза представляла собой смесь ацетонитрила и раствора калия дигидрофосфата с рН 5,5 (4:6), доводку рН проводили добавлением кислоты фосфорной. Колонку термостатировали при температуре 40°С.

Используемые реактивы: метанол – ХЧ, ГОСТ 6995-77; фосфорная кислота – ОСЧ, ТУ 261201400203677-97; ацетонитрил – ЧДА, ТУ 6095497-91; вода очищенная по ФС 42-2619-89.

При проведении количественного определения исследуемых лекарственных субстанций и препаратов использовались следующие стандартные образцы сульфаметоксазола СО (Sigma, каталожный № S7507), сульфадиметоксина СО (Sigma, каталожный № S7007), сульфаниламида СО (Sigma, каталожный № S9251), триметоприма СО (Sigma/Aldrich, каталожный № 46984), диклофенака натрия СО (Sigma/Aldrich, каталожный № D6899), индометацина СО (Sigma/Aldrich, каталожный № I7378).

Анализ исследуемых объектов методом ТСХ проводился на пластинках «Sorbfil» размером 10x10 см, с нанесенным слоем сорбента толщиной 0,25 мм, снабженных УФ-метчиком. Для обнаружения зон адсорбции хроматограмму просматривали в видимом и УФ-свете при соответствующей длине волны с последующей детекцией необходимыми реактивами.

При анализе исследуемых субстанций и препаратов использовались растворители, приготовленные в соответствии с требованиями ГФХII [ОФС 42-0070-07, ОФС 42-0071-07].

Статистическую обработку результатов исследований осуществляли с применением общепринятых методик.

РАЗРАБОТКА МЕТОДОВ ВЫЯВЛЕНИЯ НЕКОТОРЫХ ФАЛЬСИФИЦИРОВАННЫХ АНТИМИКРОБНЫХ СРЕДСТВ НА ПРИМЕРЕ СУЛЬФАНИЛАМИДОВ (ГЛАВА 3)

Глава содержит результаты исследований, направленных на разработку комплекса методик анализа, позволяющих выявить некоторые фальсифицированные субстанции и препараты группы сульфаниламидов.

Сульфаниламидные препараты выпускаются преимущественно в форме таблеток, менее распространены растворы для инъекций, гранулы, сиропы и суспензии, а лекарственные формы для наружного применения.

Среди всех наименований лекарственных субстанций и препаратов сульфаниламидов, представленных в настоящее время на фармацевтическом рынке РФ, наиболее распространенным можно назвать ко-тримоксазол, а также сульфадиметоксин и фталилсульфатиазол.

Сравнительный анализ фармакопейных статей России, Великобритании, Японии и США позволил выявить ряд существенных различий в требованиях к качеству сульфаниламидных субстанций и методах их оценки. Следует отметить также, что даже в пределах одной фармакопеи при оценке аналогичных показателей качества различных сульфаниламидов используются различные методы анализа – как физико-химические, так и химические. В ряде случаев зафиксировано применение исключительно химических методов.

При оценке показателей качества таблеток сульфаниламидов указанные фармакопеи также предусматривают проведение разных методов анализа.

Анализ нормативной документации отечественных и зарубежных фирм-производителей показал, что как и в случае фармакопейных статей, анализ качества субстанций сульфаниламидов одного и того же наименования предусматривает применение широкого набора химических и физико-химических

методов анализа даже для аналогичных показателей качества. Сходная ситуация наблюдалась при изучении стандартов качества таблеток сульфаниламидов, производимых разными предприятиями.

Некоторые фармакопейные статьи регламентируют проведение исключительно химических методов как качественного, так и количественного анализа препаратов.

Исследования стандартов качества сульфаниламидных субстанций и таблеток позволили также сделать вывод о том, что требования к качеству субстанций являются более жесткими, нежели в случае лекарственных препаратов. Данный подход может быть применен только в условиях производства, отвечающего стандартам надлежащей производственной практики (GMP), при котором ключевая роль в обеспечении качества готовой продукции отводится качеству исходных компонентов. Вместе с тем, при отсутствии надлежащего контроля именно этот подход способствует появлению фальсифицированных лекарственных средств.

Проведенный анализ показал, что не все показатели, составляющие стандарты качества лекарственных средств, могут быть применены для выявления фальсификата, либо в силу недостаточной их специфичности («Описание», «Растворимость»), либо из-за невозможности их унифицировать между лекарственными средствами разных производителей («Растворение»). В частности, они демонстрируют неэффективность при анализе фальсифицированных лекарственных средств, полученных путем подмены исходной субстанции родственным по химической природе соединением. Это было изучено нами путем тестирования данных методик на примере модельных смесей исходных субстанций с веществами, обладающими аналогичным набором функциональных групп (первичная ароматическая аминогруппа, сульфамидная группа).

В связи с этим, были проведены комплексные исследования по подбору унифицированных методик, позволяющих проводить анализ как субстанций, так и препаратов, с целью получения однозначного ответа об оригинальности анализируемых сульфаниламидов.

С целью установления подлинности сульфаниламидных субстанций и препаратов методом тонкослойной хроматографии были подобраны условия, позволяющие максимально разделить различные сульфаниламиды, в том числе близкие по химическому строению. Оптимальной подвижной фазой является система хлороформ : этанол : диметилформамид (100:10:5) (рис. 1). Использовали пластинки ПТСХ-П-А-УФ. Для обнаружения зон адсорбции хроматограмму просматривали в видимом и УФ-свете при соответствующей длине волны с последующей детекцией парами иода.

Данные условия являются пригодными для использования их с целью идентификации субстанций и таблеток сульфаниламидов и позволяют осуществлять определение их подлинности в условиях экспресс-анализа, а также определить степень их чистоты, что также существенно при выявлении фальсификата.

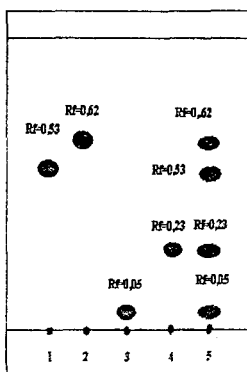


Рис. 1. Хроматограмма растворов сульфаниамидов в системе хлороформ : этанол : диметилформамид (100:10:5). Условные обозначения: 1- раствор стандартного образца сульфаметоксазола ($R_f=0,53$), 2- раствор стандартного образца сульфадиметоксина ($R_f=0,62$), 3- раствор стандартного образца триметоприма ($R_f=0,23$), 4- раствор стандартного образца фталилсульфатиазола ($R_f=0,05$), 5- раствор смеси указанных веществ

Использовали пластинки ПТСХ-П-А-УФ. Для обнаружения зон адсорбции хроматограмму просматривали в видимом и УФ-свете при соответствующей длине волны с последующей детекцией парами иода.

Данные условия являются пригодными для использования их с целью идентификации субстанций и таблеток сульфаниамидов и позволяют осуществлять определение их подлинности в условиях экспресс-анализа, а также определить степень их чистоты, что также существенно при выявлении фальсификата.

Определение условий идентификации сульфаниамидов методом УФ-спектрофотометрии включало в себя подбор растворителя, концентрацию вещества в растворе, а также диапазона длин волн, в котором УФ-спектры веществ имеют специфические параметры (рис. 2): спектр сульфаметоксазола имеет максимум при 256 нм, сульфадиметоксина – при 268 нм, фталилсульфатиазола – при 262 нм.

В качестве более информативного метода оценки подлинности субстанций сульфаниамидов и их таблетированных форм может выступать метод ИК-спектроскопии. Было показано, что ИК-спектры сульфаниамидных субстанций, снятые в диске калия бромид в диапазоне длин волн $4000-400\text{ см}^{-1}$, являются специфичными для каждого вещества.

В результате проведенных нами исследований было подтверждено, что выполнение комплекса испытаний на основе данных методов позволяет безошибочно установить подлинность испытуемого препарата.

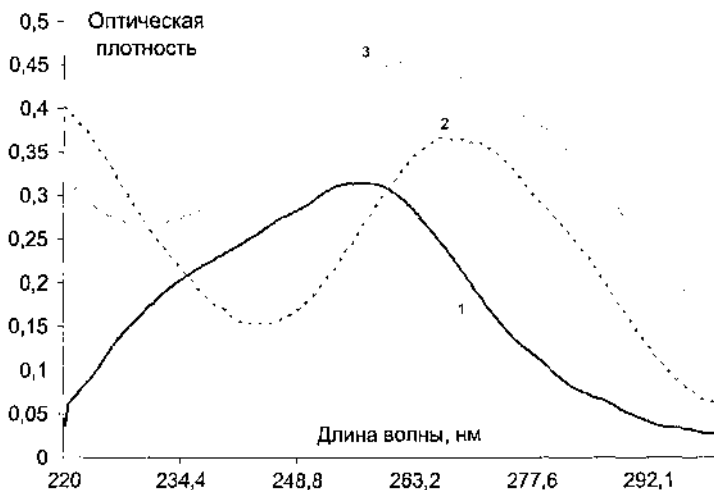


Рис. 2. УФ спектры сульфаниламидов в области длин волн 220–300 нм. Условные обозначения: 1-сульфаметоксазол, 2-сульфадиме-токсин, 3-фталилсульфатиазол.

При установлении методов, позволяющих оценить количественное содержание действующего компонента в субстанциях сульфаниламидов и их таблетированных формах, выбор был сделан в пользу УФ-спектрофотометрической методики, демонстрирующей большую специфичность по сравнению с титриметрическими методами анализа, и позволяющей одновременно с количественным определением оценивать подлинность испытуемого объекта. Нами были подобраны оптимальные концентрации испытуемого и стандартного растворов, а также длины волн для проведения анализа. Помимо ко-тримоксазола, нами были разработаны условия оценки количественного содержания субстанций и таблеток других сульфаниламидов методом УФ-спектрофотометрии.

Метрологические характеристики результатов количественного определения субстанций и таблеток сульфаниламидов с использованием разработанной методики представлены в табл. 4.

Таблица 4. Метрологические характеристики УФ-спектрофотометрической методики оценки количественного определения субстанций и препаратов сульфаниламидов

№ п/п	Наименование анализируемого ЛС	f	\bar{X}^*	S ²	S	t(4; 95%)	ΔX	$\varepsilon, \%$
1	Сульфаметоксазол	4	99,58	0,16	0,40	2,78	0,41	0,41
2	Сульфадиметоксин	4	99,74	0,33	0,57	2,78	0,70	0,70
3	Фталилсульфатиазол	4	99,4	0,30	0,55	2,78	0,68	0,68
4	Триметоприм	4	99,72	0,71	0,84	2,78	1,04	1,05
5	Ко-тримоксазола таблетки (сульфаметоксазол)	4	0,394	0,00013	0,011	2,78	0,014	3,55
6	Ко-тримоксазола таблетки (триметоприм)	4	0,0798	4,7*10 ⁻⁶	0,0022	2,78	0,0027	3,46
7	Сульфадиметоксина таблетки	4	0,502	0,00007	0,0083	2,78	0,010	1,99
8	Фталилсульфатиазола таблетки	4	0,498	0,00007	0,0083	2,78	0,010	2,01

* В случае субстанций результаты приведены в процентах от взятого количества субстанции, в случае таблеток – в миллиграммах в 1 таблетке

В результате проведения опытов с добавками субстанций сульфаниламидов установлено, что относительная погрешность методики имеет отклонения в сторону как положительных, так и отрицательных значений, что свидетельствует об отсутствии систематической ошибки. Результаты на примере оценки количественного содержания субстанции сульфаметоксазола представлены в табл. 5.

Таблица 5. Результаты опытов с добавками сульфаметоксазола для методики количественного определения субстанции сульфаметоксазола

№ п/п	Взято субстанции, г	Добавлено субстанции, г	Должно быть, г	Найдено, г	Абсолютное отклонение	Относительная погрешность, %
1	0,2056	0,05397	0,2596	0,2485	-0,0111	4,28
2	0,2033	0,1046	0,3079	0,3113	+0,0034	1,10
3	0,1997	0,1494	0,3491	0,3549	+0,0058	1,66
4	0,2048	0,1983	0,4031	0,4124	+0,0093	2,30

В случае остальных субстанций, а также таблеток сульфаниламидов были получены аналогичные данные.

Таким образом, разработанный комплекс методик оценки качества сульфаниламидных субстанций и таблетированных лекарственных форм позволяет

надежно установить соответствие качественного и количественного состава лекарственного средства заявленному.

РАЗРАБОТКА МЕТОДИК ВЫЯВЛЕНИЯ НЕКОТОРЫХ ФАЛЬСИФИЦИРОВАННЫХ СПАЗМОЛИТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ НА ПРИМЕРЕ ДРОТАВЕРИНА ГИДРОХЛОРИДА (ГЛАВА 4)

В главе представлены результаты исследований, имеющих целью создание методик анализа, позволяющих выявить некоторые фальсифицированные субстанции и препараты дротаверина гидрохлорида.

На фармацевтическом рынке Центрального и Северо-Западного регионов на сегодняшний день представлено по меньшей мере 25 торговых наименований препаратов дротаверина гидрохлорида, выпускаемых преимущественно в форме таблеток и растворов для инъекций.

При исследовании стандартов качества субстанций дротаверина гидрохлорида было показано, что как и в случае сульфаниламидов наблюдается отсутствие единых подходов к анализу лекарственных средств даже в пределах одной лекарственной формы, что приводит к затруднениям при выявлении их фальсификата. Установлено, что в ряде случаев используются методы оценки качества субстанций и препаратов дротаверина гидрохлорида, обладающие недостаточной специфичностью, что было показано на примере модельной смеси дротаверина гидрохлорида и папаверина гидрохлорида, обладающего родственными химическим строением.

В соответствии с этим, были выполнены исследования по разработке комплексных унифицированных методик оценки качества субстанции и препаратов дротаверина гидрохлорида, позволяющих выявить их фальсификат.

В ходе идентификации субстанций установлено, что ИК-спектры, снятые в диске калия бромида в диапазоне волновых чисел $4000-400\text{ см}^{-1}$, имеют характерные для структуры дротаверина гидрохлорида полосы поглощения. Разработанная нами методика позволяет использовать метод ИК-спектроскопии для идентификации таблеток и растворов для инъекций независимо от их производителя.

Проведение метода ТСХ с использованием системы растворителей ацетон : этанол : кислота уксусная ледяная (20:10:0,1) позволяет провести идентификацию дротаверина гидрохлорида как в субстанции, так и в таблетках (рис. 3). Данная методика может быть использована в качестве экспресс-метода установления подлинности субстанции и препаратов дротаверина гидрохлорида и их чистоты.

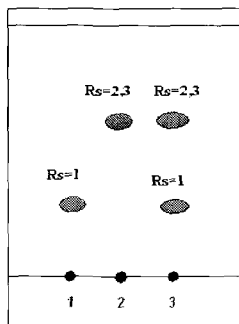


Рис. 3. Хроматограмма растворов дротаверина гидрохлорида и папаверина гидрохлорида. Условные обозначения: 1-дротаверина гидрохлорид ($R_f=0,27$), 2- папаверина гидрохлорид ($R_f=0,62$), 3- смесь растворов дротаверина гидрохлорида и папаверина гидрохлорида.

Помимо идентификации, данный метод также пригоден для оценки наличия посторонних примесей в анализируемом объекте.

Разработанная нами методика ВЭЖХ (подвижная фаза - ацетонитрил : раствор калия дигидрофосфата в соотношении 4 : 6 с pH 5,5; температура колонки 40°C; детектор 241 nm) позволяет надежно идентифицировать дротаверина гидрохлорид в субстанции и лекарственных формах (рис. 4).

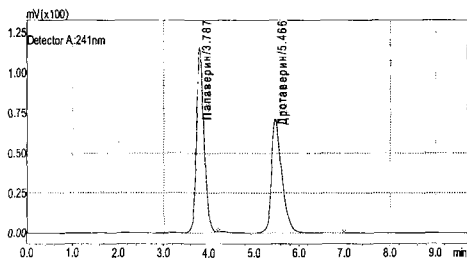


Рис. 4. ВЭЖХ-хроматограмма раствора смеси дротаверина гидрохлорида и папаверина гидрохлорида (200 мкг/мл в ПФ)

Параметры полученных пиков представленные в табл. 6, могут свидетельствовать о достоверном разделении исследуемых веществ.

Таблица 6. Параметры пиков дротаверина гидрохлорида и папаверина гидрохлорида (метод ВЭЖХ)

Время удерживания, мин	Фактор асимметрии	Эффективность колонки, т. т.	Разрешение	Наименование
3,787	1,238	2521,976	4,695	папаверин
5,466	1,391	2789,908		дротаверин

На основании данного метода была разработана методика оценки количественного содержания действующего компонента в исследуемых объектах. Использовались те же условия, применяемые для идентификации субстанций и препаратов дротаверина гидрохлорида.

Расчет концентрации проводится с применением внешнего стандарта и сравнением площадей главных пиков испытуемого раствора и раствора стандартного образца.

Метрологические характеристики определения количественного содержания дротаверина гидрохлорида в субстанции и препаратах представлены в табл. 7.

Таблица 7. Метрологические характеристики результатов определения количественного содержания действующих компонентов в субстанциях, таблетках и инъекционных растворах дротаверина гидрохлорида ($n \geq 5$, $P \geq 95\%$) методом ВЭЖХ

№ п/п	Наименование анализируемого ЛС	f	\bar{X}^*	S^2	S	t(4; 95%)	Δx	$\varepsilon, \%$
1	Субстанция	4	100,0	0,055	0,23	2,78	0,28	0,28
2	Таблетки	4	0,0400	$4,0 \cdot 10^{-8}$	0,0002	2,78	0,000248	0,62
3	Раствор для инъекций	4	0,0399	$9,0 \cdot 10^{-8}$	0,0003	2,78	0,000372	0,93

* в случае субстанций результаты представляют собой процентное содержание действующего компонента, в случае таблеток и инъекционных растворов – количество г действующего вещества в таблетке или в 1 ампуле соответственно

Относительная погрешность методики при проведении опытов с добавками дротаверина гидрохлорида имеет отклонения в сторону как положительных, так и отрицательных значений, что свидетельствует об отсутствии систематической ошибки. Результаты на примере оценки количественного содержания субстанции дротаверина гидрохлорида представлены в табл. 8.

Таблица 8. Результаты опытов с добавками дрогаверина гидрохлорида для методики количественного определения субстанции дрогаверина гидрохлорида

№ п/п	Взято субстанции, г	Добавлено субстанции, г	Должно быть, г	Найдено, г	Абсолютное отклонение	Относительная погрешность, %
1	0,01969	0,005507	0,02520	0,02418	-0,00102	4,05
2	0,02065	0,01240	0,03305	0,03334	+0,00029	0,88
3	0,02058	0,01541	0,03599	0,03482	-0,00117	3,25
4	0,01974	0,02047	0,04021	0,04215	+0,00194	4,82

Аналогичные результаты были получены при испытании таблеток и растворов для инъекций.

Таким образом, можно сделать вывод о том, что разработанные методики позволяют при их проведении сделать заключение об оригинальности субстанции и препаратов дрогаверина гидрохлорида.

РАЗРАБОТКА МЕТОДИК ВЫЯВЛЕНИЯ ФАЛЬСИФИЦИРОВАННЫХ НЕСТЕРОИДНЫХ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ СРЕДСТВ НА ПРИМЕРЕ ДИКЛОФЕНАКА НАТРИЯ (ГЛАВА 5)

На фармацевтическом рынке Центрального и Северо-Западного регионов РФ в настоящее время представлено более 50 торговых наименований препаратов диклофенака натрия в широком диапазоне лекарственных форм как для внутреннего, так и для наружного применения (преимущественно таблетки и растворы для инъекций).

Проведенные исследования стандартов качества субстанций, таблеток и растворов для инъекций диклофенака натрия позволяют сделать вывод о том, что как и в случае предыдущих групп анализируемых лекарственных средств, требования нормативной документации на субстанции и препараты диклофенака натрия, как фармакопейной, так и разработанной фирмами-производителями, не являются унифицированными. В ходе их тестирования с применением модельной смеси диклофенака натрия и индометацина в ряде случаев была продемонстрирована их неспособность выявить изменение состава действующих компонентов.

При разработке методики идентификации субстанций диклофенака натрия методом ИК-спектроскопии в области волновых чисел 4000 – 400 см⁻¹ было показано, что наибольшей информативностью обладает спектр, снятый в таблетке калия бромид. Нами разработана методика идентификации таблеток и растворов для инъекций диклофенака натрия независимо от их производителя с помощью данного метода.

В ходе подбора условий идентификации субстанции диклофенака натрия методом ВЭЖХ установлены оптимальные условия идентификации субстанций диклофенака натрия методом ВЭЖХ (см. рис 5). На полученной хроматограмме обнаруживается пик, соответствующий диклофенаку натрия (время удерживания 6,5 мин). Установлено, что данная методика, в отличие от условий, представленных в статьях Фармакопеи США 29 издания и Фармакопеи Великобритании 2009 года, позволяет выявить факт подмены субстанции диклофенака натрия, в том числе соединением со сходным набором функциональных групп.

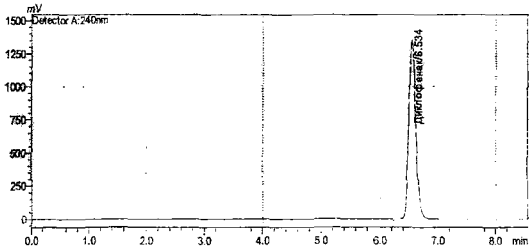


Рис. 5. ВЭЖХ-хроматограмма субстанции диклофенака натрия

При разработке методики установления подлинности и чистоты с помощью ТСХ нами было установлено, что использование смеси этанола и кислоты уксусной ледяной в соотношении 95:5 в качестве подвижной фазы позволяет достичь разделения индометацина и диклофенака натрия (см. рис. 6).

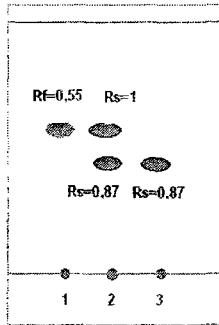


Рис. 6. ТСХ смеси диклофенака натрия и индометацина в системе растворителей этанол : кислота уксусная ледяная (95:5). Условные обозначения зон адсорбции: 1 – диклофенак натрия, 2 – испытуемая смесь, 3 – индометацин.

В ходе разработки методики определения подлинности таблеток и растворов для инъекций диклофенака натрия методами ВЭЖХ и ТСХ была проде-

монстрирована возможность использования условий, применяемых для идентификации субстанции. С целью идентификации таблеток данные методики были дополнены стадией пробоподготовки.

Для количественного определения субстанций, таблеток и растворов для инъекций диклофенака натрия нами была разработана методика ВЭЖХ. Было показано, что условия, разработанные с целью идентификации исследуемых субстанций и препаратов, позволяют провести оценку количественного содержания действующего компонента.

Расчет концентрации проводится с применением внешнего стандарта по сравнению площадей пиков испытуемого раствора и раствора стандартного образца.

Результаты оценки количественного содержания диклофенака натрия в субстанциях и препаратах представлены в табл. 9.

Таблица 9. Результаты определения количественного содержания действующих компонентов в субстанциях, таблетках и инъекционных растворах диклофенака натрия ($n \geq 5$, $P \geq 95\%$)

№ п/п	Наименование анализируемого ЛС	f	\bar{X}^*	S^2	S	t(4; 95%)	ΔX	$\epsilon, \%$
1	Субстанция	4	100,0	0,035	0,19	2,78	0,24	0,24
2	Таблетки	4	0,04501	$2,5 \cdot 10^{-8}$	0,0005	2,78	0,00062	1,23
3	Раствор для инъекций	4	0,0751	$3,5 \cdot 10^{-8}$	0,00019	2,78	0,00022	0,29

*в случае субстанций результаты представляют собой процентное содержание действующего компонента, в случае таблеток и инъекционных растворов – количество г действующего вещества в таблетке или в 1 ампуле соответственно

Опыты с добавками диклофенака натрия показали, что относительная ошибка имеет отклонения в сторону как положительных, так и отрицательных значений, что свидетельствует об отсутствии систематической ошибки. Результаты на примере оценки количественного содержания субстанции диклофенака натрия представлены в табл. 10.

В случае таблеток и растворов для инъекций были получены аналогичные результаты.

Таким образом, применение данных методик при выявлении фальсификатов диклофенака натрия позволяет сделать однозначный вывод о наличии факта фальсификации.

Таблица 10. Результаты опытов с добавками диклофенака натрия для методики количественного определения субстанции диклофенака натрия

№ п/п	Взято субстанции, г	Добавлено субстанции, г	Должно быть, г	Найдено, г	Абсолютное отклонение	Относительная ошибка, %
1	0,05238	0,01248	0,06335	0,06285	-0,0005	±0,79
2	0,04979	0,02504	0,07483	0,07641	+0,00158	±2,26
3	0,04662	0,03752	0,08414	0,08326	-0,00088	±1,12
4	0,05085	0,05173	0,1026	0,1042	+0,0016	±1,56

ВЫВОДЫ

1. Впервые проведен анализ ассортимента лекарственных средств, выявленных как фальсификат на территории Центрального и Северо-Западного регионов РФ. Установлено, что к числу наиболее часто фальсифицируемых относятся лекарственные средства групп antimicrobных, спазмолитических и нестероидных противовоспалительных средств.
2. Определено, что для выявления фальсификата лекарственных средств следует проводить анализ по таким показателям качества, как «подлинность», «чистота» и «количественное определение» как наиболее информативных в оценке качества лекарственных форм.
3. Установлено, что для определения подлинности сульфаниламидных лекарственных субстанций и препаратов следует использовать методики ТСХ, ИК-спектроскопии и УФ-спектрофотометрии, для оценки чистоты - метод ТСХ, количественного содержания – метод УФ-спектрофотометрии. Перечисленные методики были разработаны для использования их с целью выявления фальсификата.
4. Определено, что для идентификации субстанции, таблеток и растворов для инъекций дрогаверина гидрохлорида следует применять методики ИК-спектроскопии, ТСХ и ВЭЖХ, оценки чистоты указанных лекарственных средств - ТСХ, количественное определение - ВЭЖХ, разработанные непосредственно для обнаружения фальсификата.
5. Установлено, что для определения фальсификатов субстанции, таблеток и растворов для инъекций диклофенака натрия наиболее целесообразно осуществлять с применением разработанных методик ИК-спектроскопии, ТСХ и ВЭЖХ в случае определения подлинности, указанных лекарственных средств разработана методика ТСХ – оценки чистоты, ВЭЖХ – количественного содержания.
6. Разработанные методики оформлены в виде методических рекомендаций и могут быть использованы для выявления фальсифицированных субстанций и препаратов из групп antimicrobных средств, спазмолитиков и нестероидных противовоспалительных средств (на примере сульфаниламидов, дрогаверина гидрохлорида и диклофенака натрия).

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Буданцев Л. А., Воллосович Н. Е., Саканян Е. И. Современное состояние качества лекарственных средств, представленных на фармацевтическом рынке Санкт-Петербурга // Сборник материалов II Всероссийского съезда фармацевтических работников, Сочи 4 – 8 июня 2005 г. – С. 57-59.
2. Буданцев Л. А., Багирова Н. Г., Саканян Е. И. Современные подходы к определению показателей качества некоторых сульфаниламидных препаратов // сборник научных трудов юбилейной конференции, посвященной 60-летию факультета промышленной технологии лекарств. СПХФА, 9 декабря 2005 г. – СПб.: Изд-во СПХФА, 2005. – С. 184 – 185.
3. Буданцев Л. А., Багирова Н. Г., Саканян Е. И. Современные подходы к определению фальсификатов сульфаниламидных препаратов // Материалы научно-практической конференции "Современные принципы и технологии разработки лекарственных средств". Москва, 28 февраля – 1 марта 2006 г. – М., 2006. – С. 82 – 83.
4. Буданцев Л. А., Саканян Е. И. Разработка экспресс-методов оценки качества лекарственных средств группы сульфаниламидов с применением тонкослойной хроматографии // Материалы научно-практической конференции "Современные методы стандартизации и контроля качества лекарственных средств". Москва, 29-30 мая 2006 г. С. 111 – 112.
5. Буданцев Л. А., Саканян Е. И. Экспресс-методы в оценке качества антимикробных лекарственных средств с целью выявления фальсифицированной продукции // Актуальные проблемы фармации: межрегиональный сборник научных трудов. - Рязань, Рязанский гос. мед. университет, 2006. – С. 54 – 57.
6. Буданцев Л. А., Саканян Е. И. Применение УФ-спектрофотометрических методов анализа с целью выявления фальсифицированных лекарственных средств // Достижения, проблемы и перспективы фармацевтической науки и практики: мат. научно-практ. конф. Под ред. А. И. Лазарева / Курский гос. мед. ун-т, Курск. - 2006. - С. 200 – 202.
7. Л. А. Буданцев, Е. И. Саканян. Разработка комплексного подхода к выявлению фальсификатов лекарственных средств группы сульфаниламидов // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. тр. / Пятигорская гос. фарм. акад. – Пятигорск, 2007. – Вып. 62. - с. 257-259.
8. Буданцев Л. А. Современные подходы к выявлению фальсифицированных лекарственных препаратов группы сульфаниламидов // Вестник Военно-медицинской академии, СПб, 2007 – С. 152.
9. Л. А. Буданцев, Е. И. Саканян. Разработка методик анализа субстанции и препаратов дротаверина гидрохлорида, позволяющих выявить фальсификат // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продук-

ции: сб. науч. тр. / Пятигорская гос. фарм. акад. – Пятигорск, 2008. – Вып. 63. - С. 220 – 221.

10. Л. А. Буданцев, Е. И. Сакания. Современные методы физико-химического анализа в оценке подлинности и установлении качества субстанции и лекарственных средств диклофенака натрия // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии, М., 2009. – С. 42 – 45.

Подписано в печать 20.12.10	Формат 60x84 ¹ / ₁₆	Цифровая	Печ. л. 1.5
Уч.-изд.л. 1.5	Тираж 100	Заказ 03/12	печать

Отпечатано в типографии «Фалкон Принт»
(191015, г. Санкт-Петербург, ул. Шпалерная, дом 51, офис 345)