

ВЕСТНИК РОСЗДРАВНАДЗОРА

РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ
ЖУРНАЛ ДЛЯ СПЕЦИАЛИСТОВ
В ОБЛАСТИ МЕДИЦИНЫ,
СОЦИАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ
И ФАРМДЕЯТЕЛЬНОСТИ



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ И СОЦИАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ

№ **3** (2009)



РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ
ДЛЯ СПЕЦИАЛИСТОВ В ОБЛАСТИ МЕДИЦИНЫ,
СОЦИАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ И ФАРМДЕЯТЕЛЬНОСТИ

ПОЛНОТЕКСТОВАЯ ВЕРСИЯ ЖУРНАЛА
ПРЕДСТАВЛЕНА НА САЙТЕ
www.roszdravnadzor.ru

ВЕСТНИК РОСЗДРАВНАДЗОРА ■ №3 (2009)

4 с. ►

ТЕМА НОМЕРА
**ФАЛЬСИФИЦИРОВАННЫЕ ЛЕКАРСТВА —
ПРОБЛЕМА ГЛОБАЛЬНАЯ**

И.А.РЕВЕЛЬСКИЙ, В.В.КОСЕНКО, Е.С.ЧЕРНЕЦОВА,
М.В.ФЕДОСЕЕВА, Л.И.МИТЬКИНА, Б.П.ЛУЗЯНИН, А.И.РЕВЕЛЬСКИЙ

Быстрый скрининг проб лекарственных средств на содержание активного вещества

Одной из актуальных проблем фармацевтического анализа является разработка быстрых, надежных и, по возможности, универсальных способов определения активного компонента в лекарственных средствах — субстанциях и особенно в таблетированных формах фармпрепаратов. Разработка таких способов необходима для обеспечения быстрого и достоверного контроля качества фармацевтической продукции, а также для быстрого обнаружения фальсификатов.

В настоящее время как в России, так и за рубежом контроль качества фармацевтической продукции (определение содержания активного вещества) соответствующими ведомствами осуществляется с использованием методов, описанных в фармстатьях государственной фармакопеи. Наиболее распространенным методом определения активного вещества является высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ). Применяются также титриметрия и ряд других методов, требующих, как и ВЭЖХ, использования специальных условий для определения активного вещества в каждом из исследуемых средств. В связи с этим во всех случаях необходимо использование соответствующих образцов сравнения (стандартных образцов) определяемых соединений, и для каждого анализируемого вещества требуется построение отдельного градуировочного графика. В случае ВЭЖХ требуется использование условий разделения (колонка, элюент), специфичных для каждого определя-

И.А.РЕВЕЛЬСКИЙ, проф. кафедры аналитической химии
Химического факультета МГУ им. М.В.Ломоносова, д.х.н., проф.,
revelsky@environment.chem.msu.ru
В.В.КОСЕНКО, начальник Управления организации
государственного контроля обращения медицинской продукции и
средств реабилитации инвалидов Росздравнадзора, к.ф.н.,
konovalova@roszdravnadzor.ru
Е.С.ЧЕРНЕЦОВА, ст.н.с. кафедры аналитической химии
Химического факультета МГУ им. М.В.Ломоносова, к.х.н.
М.В.ФЕДОСЕЕВА, аспирант кафедры аналитической химии
Химического факультета МГУ им. М.В.Ломоносова;
Л.И.МИТЬКИНА, зам. руководителя Центра стандартизации
лекарственных средств ФГУ НЦЭСМП Росздравнадзора, д.ф.н.;
Б.П.ЛУЗЯНИН, проф. Института химических средств защиты
растений, д.х.н.;
А.И.РЕВЕЛЬСКИЙ, кафедра аналитической химии
Химического факультета МГУ им. М.В.Ломоносова, к.х.н.

SUMMARY

I.A. Revelsky, V.V. Kosenko, E.S. Chernetsova, M.V. Fedoseeva, L.I. Mitkina, B.P. Luzyanin, A.I. Revelsky. Quick screening of medicinal samples for active substances.

The authors of the article developed a new approach to quick general drug quality control based on active substance screening using combustion analysis. The type of screening technique doesn't require the availability of standard samples of the tested substance; the method can be used in quick screening of drugs for active substances and really helps in increasing the validity of drug quality control.

емого активного вещества. При этом на проведение каждого определения затрачивается достаточно большое время. Кроме того, необходима ежедневная проверка градуировочного графика. Время одного определения может составлять 30 мин. и более. Самостоятельную проблему представляют стандартные образцы в связи как с необходимостью их наличия для определения каждого активного вещества, так и характеристикой их степени чистоты. Состав образцов, применяемых как стандартные, практически неизвестен. Следует отметить, что погрешность определения содержания основного компонента при использовании стандартного образца составляет 1,5—3% отн. и более. Очевидно, что определение содержания активного вещества с использованием стандартных образцов для тысяч веществ вызывает очень большие трудности и во многих случаях просто неосуществимо.

Определение содержания активного вещества косвенным методом — вычитанием из 100% суммы концентраций зарегистрированных на хроматограмме примесей — выглядит более привлекательным, так как не требует наличия стандартного образца. В действительности же такое определение является менее достоверным, результаты определения в большинстве случаев являются неопределенными либо завышенными, так как не учитываются примеси, не вышедшие из колонки

Таблица 1. Результаты определения содержания активного компонента в субстанциях соответствующих фармпрепаратов с использованием элементного анализа (n=7, P=0.95) (анализатор «Flash EA»)

Субстанция (название соответствующего фармпрепарата)	Чистота субстанции, %	
	Специфицируемая фирмой (метод определения)	Найденная с использованием элементного анализа
Триамтерен, партия №1 («Триамтерен/ Гидрохлоротиазид» или «Триампур Композитум»)	100.3 (титриметрия)	100.0±0.3
Гидрохлоротиазид, партия №1 («Триамтерен/ Гидрохлоротиазид» или «Триампур Композитум»)	100.2 (ВЭЖХ)	101.1±0.4
Гидрохлоротиазид, партия №2 («Триамтерен/ Гидрохлоротиазид» или «Триампур Композитум»)	100.0 (ВЭЖХ)	101.1±0.5
Фозиноприл, партия №1 («Моноприл»)	98.9; 99 (ВЭЖХ)	99.4±0.4
Фозиноприл, партия №2 («Моноприл»)	98.4 (ВЭЖХ)	99.9±0.4
Каптоприл, партия №1 («Капотен»)	99.1 (титриметрия)	99.1±0.3
Каптоприл, партия №2 («Капотен»)	99.23 (ВЭЖХ); 98.64 (титриметрия);	100.2±0.6
Соталола гидрохлорид, партия №1 («Соталекс»)	99.5 (потенциометрия) 99.7 (ВЭЖХ) 100.3 (титриметрия)	99.9±0.5
Соталола гидрохлорид, партия №2 («Соталекс»)	99.9 (ВЭЖХ) 103.1 (титриметрия)	99.6±0.5
Ставудин, партия №1 («Зерит»)	99.3 (ВЭЖХ)	99.9±0.3
Ставудин, партия №2 («Зерит»)	100.21 (ВЭЖХ)	100.3±0.4
Метоклопрамида гидрохлорид, партия №1 («Метоклопрамид»)	99.6 (титриметрия)	99.2±0.6

и не разделенные с основным компонентом. В случае титрования систематическая погрешность может быть также связана с присутствием неучтенных примесей, определяемых вместе с активным веществом, либо не-титруемых. Поэтому рассматриваемые методы часто не обеспечивают высокой достоверности анализов и, что самое важное, высокой производительности, необходимой для оперативного контроля качества лекарственных средств.

Нами предложен и разработан новый подход к определению содержания активного вещества в лекарственных средствах (субстанциях и таблетированных формах). Он основан на селективном определении в навеске анализируемого лекарственного средства элемента, характерного для большинства молекул активных веществ лекарственных средств, и отсутствующего в молекулах веществ-носителей (в случае таблеток), при использовании элементного анализатора, применяемого в анализе органических веществ. Определение содержания активного вещества проводится на основании полученных данных.

Рассмотрение списка из 2500 активных веществ различных лекарственных средств показало, что около 80% из них содержат в молекуле азот, в то время как наполнители большинства фармацевтических препаратов азота не содержат. Поэтому, найдя содержание азота в навеске лекарственного средства и зная его содержание в молекуле активного вещества, можно опреде-

Таблица 2. Результаты определения активного вещества в субстанциях соответствующих фармпрепаратов с использованием элементного анализатора «Dumatherm» (n=7, P=0.95)

№	Наименование вещества	Содержание азота, %	Навеска вещества, мг	Степень чистоты, %
1	Атропин	14.84	14 ± 23	100.6 ± 0.2
2	Сульфаниламид	16.27	5 ± 8	100.2 ± 0.2
3	Пентоксифиллин	20.13	2 ± 6	100.3 ± 0.1
4	Каптоприл	6.44	3 ± 15	100.5 ± 0.6
5	Метронидазол	24.55	1 ± 5	100.1 ± 0.3
6	Налидиксовая кислота	12.06	3 ± 9	100.1 ± 0.2

лить соответствующее содержание этого вещества в лекарственном средстве. При таком подходе отпадает необходимость в длительной пробоподготовке, использовании образцов сравнения определяемых веществ, специфических условий определения для каждого активного вещества, как это имеет место сегодня, и проведения градуировки по каждому определяемому веществу. Метод универсален — все вещества при высокой температуре (900°C) сгорают в кислороде и в присутствии катализаторов окисления и восстановления превраща-

ются в CO_2 , H_2O и N_2 . Последний селективно регистрируется наряду с CO_2 и H_2O либо с предварительным их удалением.

Время анализа зависит только от времени взвешивания (в случае субстанции) либо измельчения и взвешивания (в случае таблеток) малой части образующегося порошка и времени определения азота в соответствующей навеске, которая составляет 1—5 мг (в зависимости от содержания активного вещества в таблетке). Время определения не превышает 5 мин. Градуировка элементного анализатора проводится по одному из выбранных стандартных веществ высокой степени чистоты (цистину — содержание азота — 11,66%), которые используются в элементном анализе во всем мире.

Для определения содержания активного вещества в исследуемых лекарственных средствах использовали элементные анализаторы модели Flash EA 1112 фирмы Thermo Finnigan (Италия) и модели Dumatherm фирмы Gerhard (Германия) в конфигурации для определения азота.

Окислительный реактор был заполнен посеребренным гранулированным оксидом кобальта (II,III) (50 мм) и проволокой оксида меди (II) (100 мм) и находился при температуре 900°C. Восстановительный реактор был заполнен проволокой из восстановленной меди (350 мм) и находился при температуре 680°C. Скорости потока гелия через реакторы и через детектор составляли 140 и 100 мл/мин. соответственно. Оловянную капсулу с навеской анализируемого препарата вводили с помощью автодозатора в реактор. Кислород подавали в течение 3 сек. со скоростью 200 мл/мин. после ввода капсулы. Продукты конверсии поступали в потоке гелия после прохождения восстановительного реактора в поглотители воды и диоксида углерода, заполненные, соответственно, ангидроном и натронной известью.

Определение содержания активного компонента в таблетированных формах лекарственных препаратов имеет свою специфику по сравнению с анализом высокочистых органических соединений. Эта специфика связана с тем, что таблетки содержат разного рода органические (метилованная целлюлоза, крахмал, лактоза, соли жирных кислот и др.) и неорганические наполнители, содержание которых может существенно превышать содержание активного компонента в таблетке.

Достоинства применения элементного анализа для определения содержания активного компонента в субстанциях и таблетированных формах кажутся очевидными, однако до начала наших исследований, как нами рассматривалось ранее, в литературе не было публикаций по применению элементного анализатора для решения задачи контроля качества фармпрепаратов. Кро-

ме того, элементный анализ не нашел применения для определения качества субстанций, хотя эта задача является актуальной.

Было проведено определение содержания активного компонента в субстанциях ряда соответствующих фармпрепаратов с использованием элементного анализатора Flash EA 1112. Как видно из приведенных в *таблице 1* данных, величина доверительного интервала, рассчитанного при доверительной вероятности 0,95, по отношению к среднему значению не превышала 0,6% отн. Содержание активного вещества во всех изученных субстанциях, кроме метоклопрамида, было более 99%.

В случае гидрохлорида соталола наблюдалось значимое завышение результата определения с использованием титриметрии по сравнению с ВЭЖХ и элементным анализом. В случае каптоприла наблюдается некоторое занижение результата определения титриметрическим методом. Результаты, полученные при использовании элементного анализа для определения содержания активного компонента в субстанциях соответствующих фармпрепаратов и представленные в *таблице 1*, показали возможность определения такого содержания с высокой точностью, соответствующей точности стандартных методов (ВЭЖХ и др.), либо превосходящей их, и подтвердили высокую степень чистоты изученных субстанций.

В *таблице 2* приведены результаты определения содержания активного вещества в ряде других фармацевтических субстанций, полученные другим оператором на приборе «Dumatherm».

Сопоставление результатов, полученных на двух элементных анализаторах двумя операторами, показывает, что в обоих случаях обеспечена высокая точность определения содержания активного вещества в субстанциях независимо от оператора и модели используемого элементного анализатора.

Результаты определения методом ВЭЖХ и титриметрии (*табл. 1*) были получены фирмами, поставившими образцы FDA, которая передала их на исследование нам.

В *таблице 3* приведены результаты определения активного компонента в изученных таблетированных фармпрепаратах. Значение величины доверительного интервала, рассчитанного при доверительной вероятности 0,95, по отношению к среднему значению составляло 1,5—3% отн. и не превышало в среднем 2,5%. Сопоставление полученных данных с соответствующими данными, полученными для субстанций (*табл. 1*), показывает, что погрешность определения в случае таблетированных форм препаратов примерно в 5 раз превышала соответствующую погрешность, полученную при анализе субстанций. Это связано, по-видимому, с влиянием рассмотренных таких факторов,

Таблица 3. Результаты определения содержания активного компонента в фармацевтических препаратах, закупленных в аптеках Москвы и полученных из США (n=7, P=0.95)

Название и происхождение фармацевтического препарата	Специфицированное содержание активного компонента в таблетке или капсуле, мг	Допустимый разброс результатов определения методом ВЭЖХ, заданный в спецификации, полученной из фирмы, мг	Результат определения методом ВЭЖХ, полученный из фирмы, мг	Масса таблетки, мг	Найденное с использованием элементного анализа содержание активного компонента, мг
Соталекс (аптека №1, РФ)	160	—	—	287	160±4
Соталекс (аптека №2, РФ)	160	—	—	283	156±2
Соталекс (США)	160	152— 168	157.9	292	158±3
Капотен, 56 шт. (аптека №1, РФ)	25	—	—	99	24.1±0.3
Капотен, 40 шт. (аптека №2, РФ)	25	—	—	100	23.9±0.3
Капотен, 40 шт. (США)	25	23.1— 26.9	24.6	101	24.4±0.7
Капотен, 30 шт. (США)	25	—	25.8	101	24.9±0.6
Капотен, 28 шт. (США)	25	23.1— 26.9	24.4	101	24.3±0.5
Зерит (аптека №2, РФ)	30	—	—	295*	30.4±0.9
Зерит (США)	30	28.50— 31.50	29.45	287*	29.5±0.7
Зерит (США)	40	38.00— 42.00	39.54	378*	39.9±0.3

* Указана масса порошка внутри капсулы.

как неоднородность распределения активного вещества в таблетке, неоднородность измельчения таблетки при растирании, соотношения наполнитель/активное вещество, влияющих на погрешность определения содержания активного компонента в фармпрепаратах. Согласно Фармакопее Российской Федерации, допустимые отклонения от заявленного содержания активного компонента в таблетке составляют 5, 7,5, 10 и 15% отн. для заявленных количеств активного компонента в таблетке >100, 10—100, 1—10 и <1 мг, соответственно.

Полученная нами погрешность определения содержания активного компонента в исследованных таблетках фармпрепаратов примерно в 2—3 раза меньше соответствующих допустимых отклонений для заявленных содержаний, что свидетельствует о возможности применения элементного анализа для определения содержания активного компонента в таблетированных формах фармпрепаратов и контроля их качества и осуществления скрининга на брак либо грубые фальсификаты. При этом следует ожидать, что погрешность определения содержания активного компонента в таблетках при использовании элементного анализатора должна быть меньше, чем при использовании стандартных методов, так как в случае последних требуется проведение экстракции и использование стандартных образцов активного компонента, применение которых не требуется в случае элементного анализа. Сопоставление полученных результатов определения активного компонента в таблетках с заявленным со-

держанием показывает, что во всех случаях значимого расхождения между ними не наблюдалось. Следует отметить также, что не наблюдалось значимого расхождения в содержании активного компонента, определенного в таблетках соответствующих препаратов, поставленных из США и закупленных в аптеках г. Москвы.

В *таблице 3* для ряда таблетированных форм фармпрепаратов приведены данные определения содержания активного компонента методом ВЭЖХ с использованием соответствующего стандарта (без указания погрешности определения), представленные фирмами-производителями. Сопоставление этих данных с соответствующими результатами определения методом элементного анализа без использования стандартного образца определяемого активного компонента показывает, что нет значимого различия (в пределах погрешности определения) между этими результатами. Это дополнительно подтверждает целесообразность и возможность определения содержания активного компонента не только в субстанциях, но и в таблетированных формах фармпрепаратов методом элементного анализа и осуществления быстрого скрининга субстанций и фармпрепаратов на фальсификаты. В *таблицу 3* не включены образцы моноприла и метоклопрамида, таблетки которых содержали повидон.

Была изучена воспроизводимость определения содержания активного вещества в таких фармпрепаратах, как норсульфазол, сульфадиметоксин, анальгин и кларитин.

Таблица 4. Результаты определения содержания активного компонента в серии проб норсульфазола, сульфадиметоксина, анальгина и кларитина в течение дня (n=3, P=0,95)

Образец	Найденное содержание активного компонента в таблетке, мг	s _r , %	Образец	Найденное содержание активного компонента в таблетке, мг	s _r , %
<i>Норсульфазол</i>			<i>Анальгин</i>		
1	502±17	1.4	1	450±4	0.3
2	508±20	1.6	2	443±4	0.4
3	508±7	0.5	3	446±13	1.2
4	509±13	1.0	4	444±13	1.2
5	507±4	0.3	5	448±7	0.6
6	509±6	0.5	6	450±13	1.2
7	506±4	0.3	7	446±6	0.6
8	501±11	0.8	8	444±6	0.5
9	511±15	1.1	9	446±9	0.8
10	503±18	1.5	10	440±11	1.0
11	500±21	1.7	11	440±7	0.6
12	500±19	1.6	12	440±6	0.6
			13	438±18	1.7
<i>Сульфадиметоксин</i>			<i>Кларитин</i>		
1	499±3	0.3	1	10,10±0,07	0.3
2	496±4	0.3	2	10,10±0,03	0.1
3	498±7	0.6	3	10,1±0,3	1.1
4	495±15	1.2	4	10,0±0,2	0.6
5	497±10	0.8	5	10,00±0,08	0.3
6	497±3	0.3	6	10,1±0,2	0.7
7	499±4	0.3	7	9,90±0,06	0.2
8	488±12	1.0	8	9,9±0,2	0.6
9	495±11	0.9	9	9,90±0,04	0.2
10	490±12	1.0	10	9,9±0,2	0.6
11	491±13	1.0	11	9,8±0,1	0.5
12	491±15	1.2			
13	494±22	1.8			

Примечание. Для проб норсульфазола — масса таблетки 617 мг, специфицированное содержание вещества в таблетке 500 мг; для проб сульфадиметоксина — масса таблетки 550 мг, содержание активного вещества в таблетке 500 мг; для проб анальгина — масса таблетки 546 мг, содержание активного вещества в таблетке 500 мг; для проб кларитина — масса таблетки 101 мг, содержание активного вещества в таблетке 10 мг.

Для рассмотренных фармпрепаратов в течение дня изучались число возможных определений, воспроизводимость их определения и постоянство определяемой величины содержания активного компонента.

В таблице 4 приведены данные по определению содержания активного компонента в течение одного дня для каждого из рассмотренных препаратов, полученные при использовании элементного анализатора. Относительное стандартное отклонение для среднего результата из 3-х определений не превышало 1,8% (в большинстве случаев оно составляло около 0,5—1,0%). Доля активного вещества в таблетках составляла от 0,92 (анальгин) до 0,1 (кларитин). Из этих же данных видно, что в течение дня проводилось от 33 до 39 определений.

Полученные данные свидетельствуют о том, что предложенный подход обеспечивает быстрое и точное определение активного компонента в таблетированных фармацевтических препаратах без использования образцов сравнения этих компонентов с погрешностью в несколько раз меньше допустимого разброса содержания активного компонента в фармпрепарате. При анализе ряда субстанций и соответствующих фармпрепаратов показано отсутствие значимого различия в результатах определения методами элементного анализа и ВЭЖХ. Преимуществами способа контроля качества фармпрепаратов, основанного на предлагаемом нами подходе, являются:

- универсальность метода, который можно использовать в условиях, общих для всех анализируемых лекарственных средств, содержащих в молекуле активного компонента азот;
- отсутствие необходимости использования образцов сравнения определяемых соединений и построения соответствующих градуировочных графиков;
- отсутствие необходимости проведения экстракции;
- высокая производительность анализов благодаря скорости их проведения, полной автоматизации и малому времени пробоподготовки;
- возможность проведения анализа для образцов массой 1 мг и менее, что важно для особо дорогих фармацевтических препаратов;
- возможность быстрого распознавания большинства бракованных либо фальсифицированных фармацевтических препаратов, в которых заданное содержание активного компонента не соответствует истинному;
- возможность быстрого контроля качества субстанций соответствующих фармпрепаратов.

Предлагаемый подход обеспечивает возможность осуществления быстрого скрининга проб лекарственных средств на содержание активного вещества и организации оперативного контроля качества таких средств.

В настоящее время общая фармстатья на метод элементного анализа находится на утверждении.