

УДК 543.421, 54.061

*Е. М. Басова, Ю. Н. Литвиненко, Н. А. Полотнянко*

## **Определение производителей лекарственных препаратов с применением ИК-спектроскопии и метода главных компонент**

*Изучены возможности определения действующих веществ кофеина и парацетамола в таблетированных лекарственных препаратах методом ИК-спектроскопии. Проведен качественный и количественный анализ недорогих, широко применяемых в России лекарственных препаратов, содержащих кофеин и парацетамол, в том числе в комбинированной форме. Для получения ИК-спектров использовали твердые образцы, приготовленные при помощи прессования таблеток в смеси с бромидом калия. Методом ИК-спектроскопии в сочетании с хемометрическим методом главных компонент изученные лекарственные препараты классифицированы в соответствии с составом и производителем.*

*Ключевые слова: фальсификация лекарственных препаратов, ИК-спектроскопия, метод главных компонент, кофеин, парацетамол*

### **Об авторах**

**Басова Елена Михайловна** – доктор химических наук, профессор кафедры химии, новых технологий и материалов государственного университета «Дубна».

**Литвиненко Юлия Николаевна** – бакалавр кафедры химии, новых технологий и материалов государственного университета «Дубна». *E-mail:* juliya.litvinenko.97@mail.ru. 141980. Московская обл., г. Дубна, ул. Университетская д. 19.

**Полотнянко Наталья Александровна** – кандидат химических наук, доцент кафедры химии, новых технологий и материалов государственного университета «Дубна».

Проблема фальсификации лекарств сегодня актуальна во всем мире. По данным Всемирной организации здравоохранения, доля фальсифицированных лекарств на фармацевтическом рынке может составлять от 1% (в развитых странах) до 30% (в некоторых странах Азии, Африки и Латинской Америки) [1]. Масштаб проблемы фальсифицированных лекарственных средств на российском рынке оценивается по-разному. По мнению Минздрава, количество подделок в России не превышает 1% общего объема реализуемых фармацевтических препаратов, сами участники рынка полагают, что фальсификаты составляют от 3% до 7% [4], некоторые авторы счита-

ют, что до 12% [1]. Последнюю оценку, пожалуй, следует признать наиболее правдоподобной. Вычислить реальную долю фальсификата на фармацевтическом рынке практически невозможно. Разночтения объясняются существующей системой контроля качества лекарств и статистического учета фальсификатов. В 2017 г. на российском фармацевтическом рынке было выявлено в два раза меньше некачественных лекарств (это самое большое сокращение за пять лет, рис. 1) благодаря работе Правительства РФ по усилению ответственности за оборот фальсификата и увеличение числа экспертиз, проведенных Росздравнадзором.

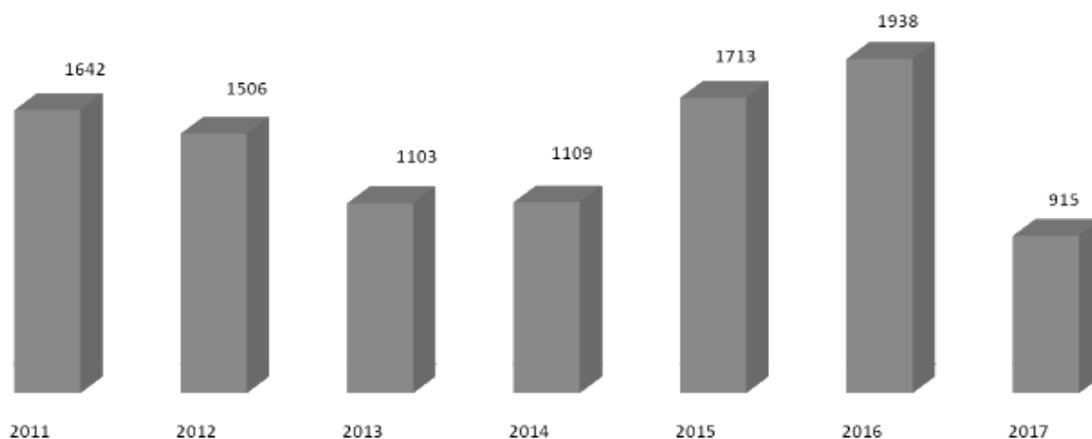


Рис. 1. Динамика изъятия из обращения лекарственных средств, качество которых не отвечает установленным требованиям, в России за период 2011–2017 гг. [5]

Сегодня уже сложно определить фальсификат путем визуальной оценки, поскольку часто даже производители по внешним признакам не могут отличить свой препарат от подделки. С помощью только простых цветных реакций можно выявить лишь грубые подделки. Следовательно, необходимо разрабатывать экспресс-методики для выявления недоброкачественных и фальсифицированных препаратов. В качестве экспресс-метода, позволяющего проводить неразрушающий контроль лекарственных средств, рабочей группой Росздравнадзора был определен метод ИК-спектроскопии в ближней области. ИК-спектроскопия описана во всех ведущих зарубежных фармакопеях, рекомендована ВОЗ для использования при разработке национальных стратегий борьбы с контрафактной продукцией и уже используется для этой цели в ряде стран (США, Великобритания, страны ЕС, Китай и некоторые другие) [6]. Решение задачи определения качественной принадлежности объекта к какому-либо классу (место производства или тип продукта) невозможно на основе классических одномерных подходов и требует применения хемометрических методов, позволяющих быстро получать качественную и количественную информацию о реальных многокомпонентных объектах (к которым относятся и лекарственные препараты) даже при практически полном наложении сигналов аналитов [7]. Поэтому различные хемометрические методы широко используются для выявления фальсификации лекарственных препаратов [3; 7–10].

Целью данной работы являлось изучение возможности классификации лекарствен-

ных препаратов методом главных компонент на основании анализа многомерных данных – ИК-спектров. В качестве объектов исследования выбраны таблетированные препараты анальгезирующего, противовоспалительного и жаропонижающего действия на основе парацетамола и кофеина, которые дешевы, широко используются населением РФ и изготавливаются различными отечественными и зарубежными производителями под разными торговыми названиями.

#### Экспериментальная часть

**Реагенты.** В работе использовали КВг для ИК-спектроскопии, 99,99% (АналитНорд, Россия), парацетамол, 98% (*Molekula*, Россия), кофеин, 98,5% (*Acros Organics*, Бельгия).

**Объекты исследования.** Образцы лекарственных препаратов покупали в розничных аптеках Дубны. Изучены следующие таблетки: «Парацетамол» (серии 140117, 100217), содержание парацетамола 500 мг в таблетке (ОАО «Фармстандарт-Лексредства», г. Курск, Россия); «Парацетамол» (серия 0370320170), содержание парацетамола 500 мг в таблетке (ЗАО «Медисорб», г. Пермь, Россия); «Кофеин-бензоат натрия» (серии 471216, 541216), содержание кофеина 100 мг в таблетке (ОАО «Татхимфармпрепараты», г. Казань, Россия); «Солпадеин» (серии 7W5G, SW7L, EU2G, 7L5J), содержание парацетамола 500 мг и кофеина 65 мг в таблетке (ГлаксоСмитКляйн Дангарван Лтд., Нобрак, Дангарван, графство Уотерфорд, Ирландия); «Солпадеин» растворимый (серия 1703602), содержание парацетамола 500 мг и кофеина 65 мг в таблетке (Фамар С.А., Греция); «Мигренол» (серии

15E038, 16E045), содержание парацетамола 500 мг и кофеина 65 мг в таблетке (произведено «Магно – Хамфриз Лабз. Инк» для «Фоур Вентурес Энтерпрайсеиз», Калифорния, Лос-Анжелес, США).

**Аппаратура.** ИК-спектры регистрировали с помощью ИК-спектрометра с преобразованием Фурье *IRPrestige-21 (Shimadzu, Япония)* в диапазоне  $600\text{--}4000\text{ см}^{-1}$ . Навески веществ взвешивали на аналитических весах *AW 220 (Shimadzu, Япония)*.

**Методика эксперимента.** Таблетки тщательно измельчали и растирали в агатовой ступке. Навеску 100.0 мг препарата смешивали с 900.0 мг КВг в агатовой ступке и тщательно растирали. Взвешивали 50.0 мг в случае «Парацетамола», «Кофеина-бензоата натрия» и «Солпадеина» или 100.0 мг в случае «Мигренола» полученной смеси, смешивали с навеской 150.0 или 100.0 мг КВг соответственно, растирали в агатовой ступке, прессовали таблетку в пресс-форме в гидравлическом штамповочном прессе и регистрировали ИК-спектр на спектрометре. Каждое измерение проводили в двукратной повторности. При необходимости проводили коррекцию базовой линии. Записанные ИК-спектры экспортировали в программу *Microsoft Excel*, в которой сначала проводили их нормализацию, усреднение, а затем составляли матрицу, для последующей обработки использовали программный комплекс *Matlab*.

**Обработка ИК-спектров методом главных компонент.** ИК-спектры представляли в виде полного списка относительных интенсивностей при разных волновых числах в диапазоне  $600\text{--}4000\text{ см}^{-1}$  с шагом  $4\text{ см}^{-1}$ . Расчеты методом главных компонент в *Matlab* проводили с использованием только базовых функций.

#### **Результаты и их обсуждение**

Несмотря на то, что лекарственные препараты на основе парацетамола и кофеина

имеют в своем составе сходные композиции действующих веществ, каждое предприятие разрабатывает свою технологию дженерика и, следовательно, рецептуру вспомогательных соединений (наполнители, связующие, разрыхлители и др.). Компонентный состав вспомогательных веществ и технология производства лекарственного препарата являются интеллектуальной собственностью фирмы-производителя. В качестве вспомогательных соединений в изученных препаратах использовали крахмал (кукурузный, картофельный, прежелатинизированный), повидон, сорбат калия, тальк, стеариновую кислоту, кроскармеллозу натрия, дигидрат гидрофосфата кальция, микрокристаллическую целлюлозу, кармеллозу натрия, стеарат магния, диоксид кремния, воск карнауба и некоторые другие, причем точное содержание этих веществ, как правило, не указано. ИК-спектры лекарственных препаратов сложны, для них характерно перекрывание полос разных компонентов. Более того, в процессе производства лекарственные и вспомогательные вещества, находясь в тесном контакте, подвергаются воздействию трения при измельчении, перемешивании, гранулировании, давлению при прессовании, повышенных температуре и влаги. При этом компоненты твердой смеси способны к межмолекулярным взаимодействиям различного характера, которые усиливаются под действием перечисленных факторов и могут привести к сдвигу максимумов полос поглощения, а также изменению их интенсивности. В записанных нами спектрах кроме пиков действующего вещества проявились пики вспомогательных веществ, что хорошо видно при сравнении спектров поглощения в ИК-области стандартных образцов парацетамола (рис. 2а), кофеина (рис. 3а) и таблеток «Парацетамол» (рис. 2б), «Кофеин-бензоат натрия» (рис. 3б), «Солпадеин» и «Мигренол» (рис. 4).

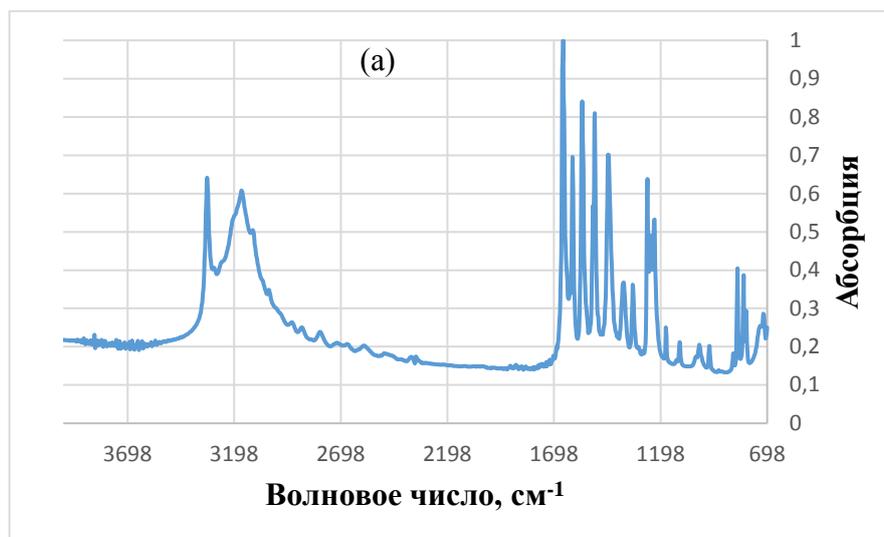


Рис. 2. Спектры стандартного образца парацетамола (а) и таблеток «Парацетамол» (б)

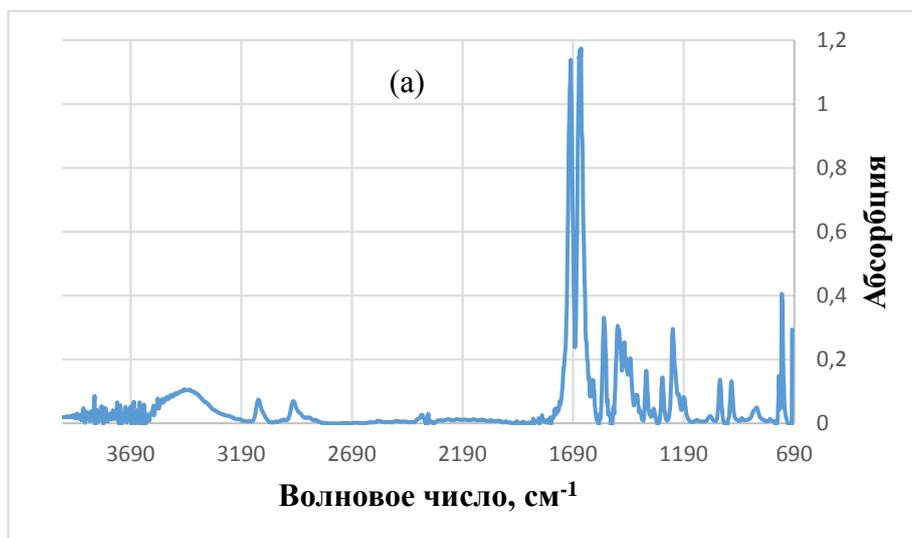


Рис. 3а. Спектр стандартного образца кофеина



Рис. 3б. Спектр стандартного образца таблеток «Кофеин-бензоат натрия»

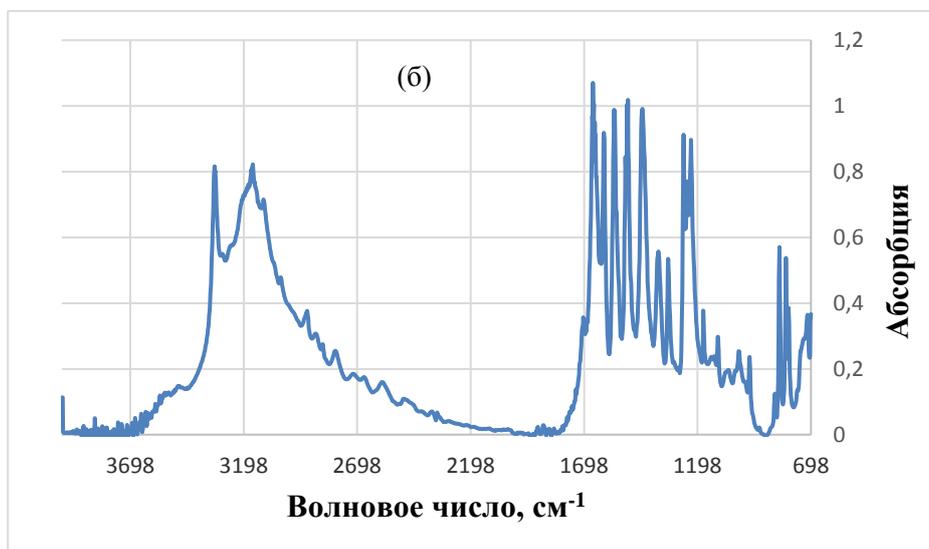
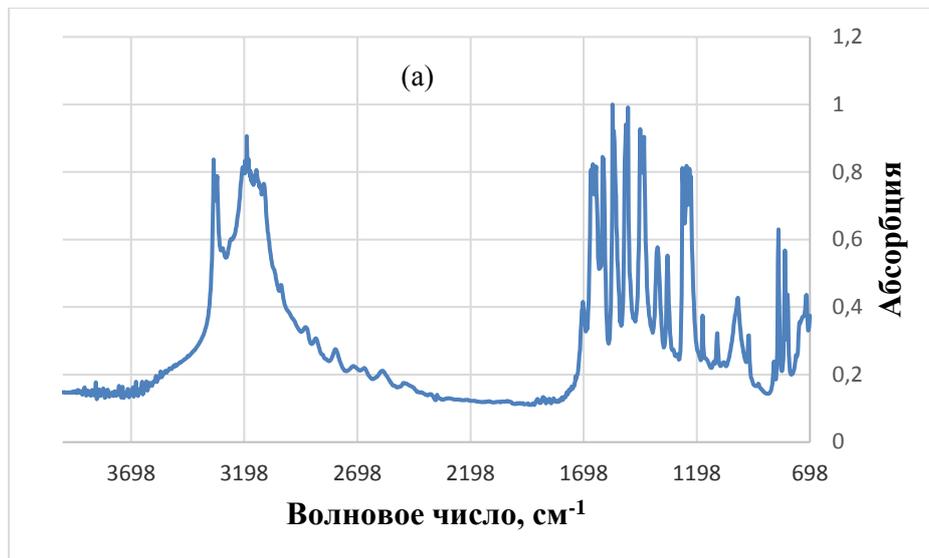


Рис. 4. Спектры таблеток «Солпадеин» (а) и «Мигренол» (б)

Следует отметить, что визуально спектры препаратов «Парацетамол», «Солпадеин» и «Мигренол» очень похожи (рис. 2б и 4). Следовательно, визуальным анализом спектров невозможно выявить фальсифицированный образец и для решения этой задачи следует использовать один из методов распознавания образов, например метод главных компонент. Метод главных компонент позволяет сократить количество данных без потери нужной информации. Полученные в результате обработки линейные комбинации измеренных величин сохраняют максимальный разброс данных, но число таких комбинаций значительно меньше, чем число величин в каждом эксперименте.

Метод главных компонент [2; 7] основан на разложении исходной матрицы с экспериментальными данными  $X$  на произведение двух матриц меньшей размерности – матрицы счетов (или главных компонент)  $T$  и матрицы нагрузок  $P$ , погрешность разложения заносится в матрицу погрешностей  $E$  (индекс  $t$  означает транспонированная матрица):

$$X = TP^t + E.$$

Матрица данных  $X$  составлена из  $N$  строк (образцы) и  $K$  столбцов (признаки), матрица счетов  $T$  – из  $N$  строк и  $A$  столбцов (главные компоненты), матрица нагрузок  $P$  – из  $A$  строк и  $K$  столбцов. Число столбцов  $A$  в матрицах  $T$  и  $P$  и является числом главных компонент. Матрица  $P$  составлена из ортонормированных собственных векторов матрицы  $X^tX$ , соответствующих наибольшему собственному значению, строки матрицы  $P$  – нагрузки. Цель такого преобразования – максимально точно описать матрицу  $X$  с использованием минимального числа главных компонент [2; 7]. Выделенные матрицы обычно не имеют физического смысла, и спектры компонент не соответствуют сигналам реально присутствующих в смеси соединений, что затрудняет интерпретацию результатов метода главных компонент, особенно в случае сложных систем.

Перед проведением расчета методом главных компонент проводят предварительную обработку спектрометрических данных.

Отдельные признаки (столбцы) можно вообще исключить из матрицы, если они сильно коррелируют с другими признаками, избыточны или сохраняют постоянное значение для всех объектов. На стадии предварительной обработки спектрометрических данных можно исключить области, в которых отсутствует содержательная информация о системе или сигналы интересующих веществ, например, поглощение растворителя или макрокомпонентов. В случае анализа фармацевтических препаратов разных производителей, изготовленных по оригинальным технологиям с использованием разных наборов вспомогательных веществ для выявления различий между препаратами целесообразно обрабатывать зарегистрированные спектры полностью. Таким образом, исходная матрица  $X$  содержала 13 строк (образцы) и 1713 столбцов (значения относительных интенсивностей при разных волновых числах).

Интенсивность сигналов в разных областях спектра может различаться на несколько порядков, и, следовательно, масштабы величин в матрице могут сильно различаться от столбца к столбцу. Обработка таких матриц хемометрическим методом может привести к ситуации, когда более интенсивные сигналы оказывают большее влияние на модель, чем малоинтенсивные, но важные для дискриминации сигналы. Для устранения возможного искажения результатов расчета перед обработкой проводили масштабирование на величину стандартного отклонения (автомасштабирование) [9]. После автомасштабирования для любого столбца среднее значение равно нулю, а дисперсия – единице.

В ходе анализа главных компонент сначала определили их число. В качестве критерия [2] использовали долю накопленной дисперсии, результаты расчета приведены в таблице. Видно, что 100% дисперсии описывает 11 компонент. Взяв в качестве этого эмпирического критерия долю общей дисперсии данных 90%, число главных компонент равно четырём, поскольку первые четыре компоненты описывают 95.65% суммарной дисперсии.

**Результаты расчета накопленной дисперсии**

Компонента	Накопленная доля дисперсии	Доля дисперсии, %
<b>1</b>	<b>0.6177</b>	<b>61.77</b>
<b>2</b>	<b>0.8177</b>	<b>20.00</b>
<b>3</b>	<b>0.8951</b>	<b>7.74</b>
<b>4</b>	<b>0.9565</b>	<b>6.14</b>
5	0.9881	3.16
6	0.9957	0.76
7	0.9983	0.26
8	0.9992	0.09
9	0.9996	0.04
10	0.9998	0.02
11	1.0000	0.02

Для интерпретации результатов метода главных компонент были построены графики счетов – проекции множества объектов в пространство нескольких главных компонент, описывающих основную долю дисперсии данных. На рис. 5 и 6 приведены соответствующие зависимости для первой, второй и третьей главных компонент (PC2 – PC1 и PC3 – PC1 соответственно). На графиках каждый объект представлен точкой с координатами,

равными значениям его главных компонент. Видно, что в обоих случаях образцы разделились на кластеры в соответствии с торговым названием, однако на графике в пространстве первой и третьей главных компонент точки расположены более кучно. Следовательно, график, построенный в координатах PC3 – PC1 (рис. 6), лучше представляет сходство и различия образцов.

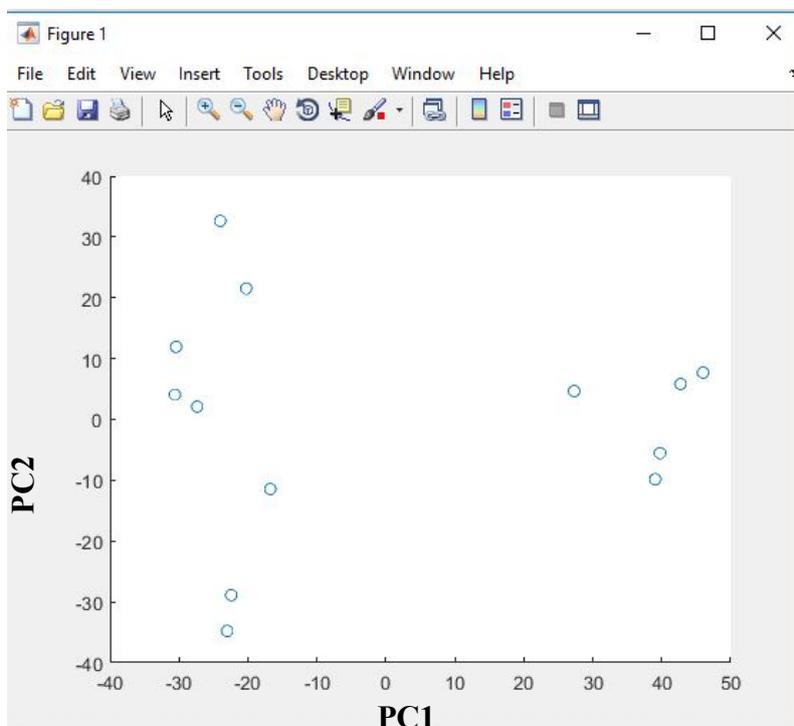


Рис. 5. График счетов для ИК-спектров лекарственных препаратов в пространстве главных компонент PC2 – PC1

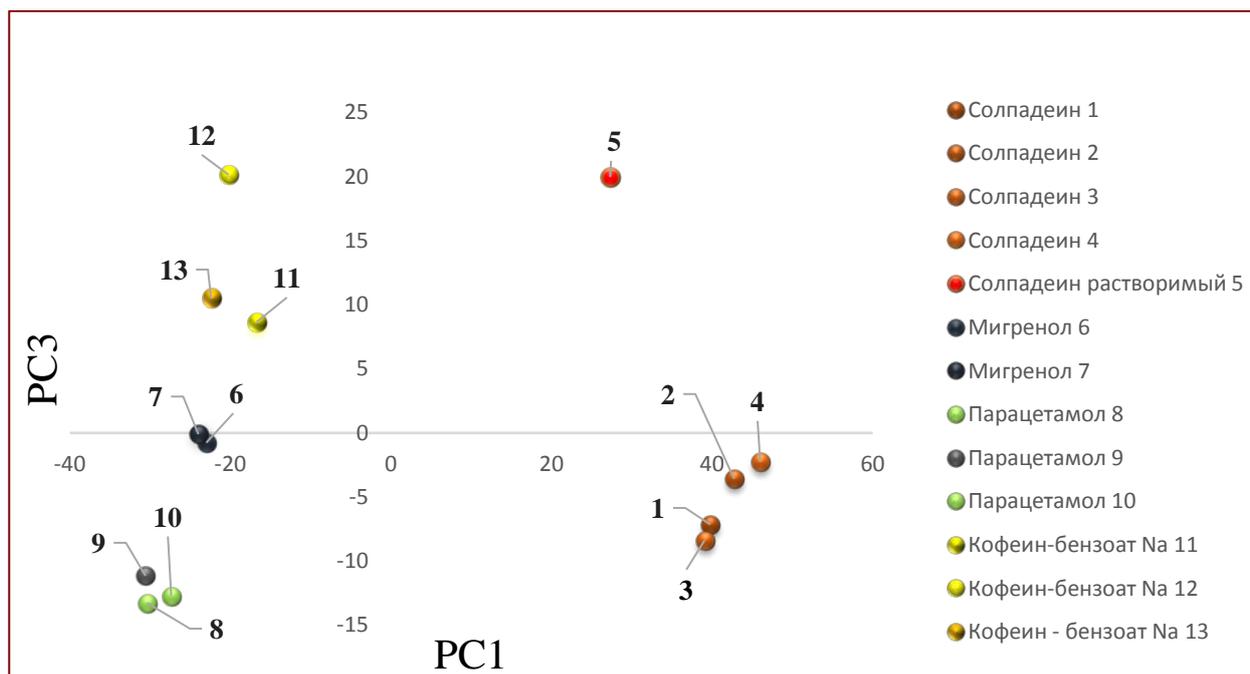


Рис. 6. График счетов для ИК-спектров лекарственных препаратов в пространстве главных компонент PC3 – PC1

Проанализируем результаты, приведенные на рис. 6. Точки 1–4 соответствуют лекарственному препарату «Солпадеин» одного производителя, но разных серий. Точка 5 – это препарат «Солпадеин» растворимый, который имеет одинаковые концентрации действующих веществ, но отличается от обычных нерастворимых таблеток «Солпадеина» композицией вспомогательных веществ, поэтому находится далеко от точек 1–4 на графике. Точки 6 и 7 соответствуют разным сериям лекарственного препарата «Мигренол» одного производителя. Точки 8–10 относятся к таблеткам «Парацетамола» при этом образцы 8 и 10 изготовлены ОАО «Фармстандарт-Лексредства» (г. Курск) и различаются номерами серий, тогда как образец 9 произведен ЗАО «Медисорб» (г. Пермь). Точками 11–13 обозначены спектры таблеток «Кофеин-бензоат натрия» одного производителя, причем препараты 11 и 12 принадлежат одной серии (хотя были куплены в разное время), а препарат 13 – другой серии. Из рис. 6 также видно, что производитель таблеток «Мигренол» выпускает наиболее однородную продукцию (срок годности проанализированных препаратов до 06.2015 г. и 06.2016 г. соответственно).

Таким образом, обработка ИК-спектров изученных лекарственных препаратов на основе парацетамола и кофеина позволила раз-

делять их кластеры в соответствии с действующими веществами, а для одного состава действующих веществ – в соответствии с производителем.

### Библиографический список

1. Аксенова-Сорохтей Ю.Н., Новиков В.Е., Пожилова Е.В., Барановская Е.А., Климкина Е.И. Фармацевтические и юридические аспекты фальсификации лекарственных средств // Вестник Смоленск. госуд. академии. 2016. Т. 15, № 2. С. 102–110.
2. Аналитическая химия. Проблемы и подходы: в 2 т / пер с англ.; под ред. Р. Кельнера, Ж.-М. Мерме, М. Отто, М. Видмера. М.: Мир, 2004. Т. 2. С. 517–529.
3. Балыклова К.С., Титова А.В., Садчикова Н.П., Родионова О.Е., Шишова Е.Ю., Скударева Е.Г., Горпинченко Н.В. Анализ таблеток ацетилсалициловой кислоты методом ИК-спектроскопии в ближней области // Вестник Росздравнадзора. 2013. № 2. С. 62–65.
4. Денисенко Е. Исцелился сам // Санкт-Петербург «Эксперт Северо-Запад» № 30–31 (187) [Электронный ресурс]. – URL: [http://expert.ru/northwest/2004/30/30no-smedic2\\_50068/](http://expert.ru/northwest/2004/30/30no-smedic2_50068/). Режим доступа: свободный (дата обращения: 03.11.2018).
5. Информация о результатах государственного контроля (надзора) в сфере обращения лекарственных средств за 2017 год // Федеральная служба по надзору в сфере здравоохранения [Электронный ресурс]. – URL: <http://www.roszdravnadzor.ru/>

documents/51255. Режим доступа: свободный (дата обращения 05.04.2018).

6. Косенко В.В. Результаты внедрения неразрушающих экспресс-методов контроля качества лекарственных средств в систему государственного контроля // Вестник Росздравнадзора. 2011. № 2. С. 59–63.

7. Родионова О. Е., Померанцев А. Л. Хемометрика: достижения и перспективы // Успехи химии. 2006. Т. 75, № 4. С. 302–321.

8. Patel Rakesh, Patel Charmi, Rajesh K.S. Quantitative analytical applications of FTIR spectroscopy

in pharmaceutical and allied areas // J. Adv. Pharm. Edu. Res. 2014. V. 4, № 2. P. 145–157.

9. Rajalahti T., Kvalheim O.M. Multivariate data analysis in pharmaceuticals: a tutorial review // Int. J. Pharm. 2011. V. 417, № 1–2. P. 280–290.

10. Roggor Y., Maurer L., Lema-Martinez C., Edmond A., Jent N. A review of near infrared spectroscopy and chemometrics in pharmaceutical technologies // J. Pharm. Biomed. Anal. 2007. V. 44, № 3. P. 683–700.

---

*Поступила в редакцию  
16.12.2019*