

А. В. Толкачева^{1, 2}, К. С. Балыклова², Л. Н. Грушевская¹,
Н. И. Авдюнина¹, Б. М. Пятин¹, В. И. Прокофьева²,
С. В. Чернова², Л. М. Гаевая^{1, 2}, М. С. Сергеева¹

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА БЛИЖНЕЙ ИНФРАКРАСНОЙ СПЕКТРОСКОПИИ В АНАЛИЗЕ СУБСТАНЦИИ КЕМАНТАНА

¹ ФГБНУ "НИИ фармакологии имени В. В. Закусова", Россия, 125315, Москва.

² ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), Россия, 119991, Москва.

* e-mail: tvin-taurin@mail.ru

Ближняя ИК-спектроскопия является перспективным методом анализа в фармации. Показана возможность применения его как экспресс-метода для подтверждения подлинности и анализа чистоты субстанции кемантана (5-гидроксиадамantan-2-она).

Ключевые слова: ИК-спектроскопия в ближнем диапазоне; БИК; дискриминантный анализ; кемантан (5-гидроксиадамantan-2-он); экспресс-метод.

Ближняя инфракрасная спектроскопия (БИК-спектроскопия) — это инструментальный метод качественного и количественного анализа, сочетающий в себе спектроскопию и хемометрические методы обработки данных. Описание метода включено в ведущие фармакопеи мира: в Фармакопею США (статья 1119), в Европейскую фармакопею (статья 2.2.40), в Фармакопею Японии (статья 32 в Приложении к XV изданию), а также в Государственную фармакопею РФ XIII изд. [1–4]. Преимуществами БИК-спектроскопии в сравнении с другими аналитическими методами являются простая и быстрая пробоподготовка, отсутствие химической подготовки пробы, возможность анализа нескольких компонентов при совместном присутствии в пробе, возможность с помощью световодов преодолевать большие расстояния от места измерения до спектрального прибора, зачастую отсутствие необходимости вскрывать первичную упаковку, экономическая рентабельность [5].

Настоящее исследование посвящено применению метода БИК-спектроскопии в анализе кемантана (5-гидроксиадамantan-2-она, I) — соединения, обладающего неспецифическим иммуностимулирующим действием [6, 7].

Существует несколько способов синтеза I, один из которых был разработан и запатентован ФГБНУ "НИИ фармакологии имени В. В. Закусова" [8].

Перед нами стояла задача изучить, возможно ли с помощью БИК-спектроскопии выявить различия между образцами субстанции I, синтезированными различными способами, а также между образцами субстанции различной степени чистоты.

Экспериментальная часть

Объектами исследования являлись 10 серийных образцов субстанции I, синтезированных 2 различными способами. Образцы получены в опытно-технологическом отделе ФГБНУ "НИИ фармакологии имени В. В. Закусова".

Исследования проведены на ИК-Фурье спектрометре Antaris II фирмы Thermo Electron Corporation (Интертек, США) с оптоволоконным датчиком; разрешение — 8 см^{-1} , количество сканирований — 16, область измерения от 4000 до 12500 см^{-1} , базовую линию проводили по эталону из тефлона, количество сканирований — 32. Обработка результатов проведена с помощью пакета программ "TQ Analyst" (для расшифровки спектров использовали дискриминантный анализ).

Все оборудование на момент выполнения исследований было проверено.

Методика анализа субстанции: датчик прижимали плотно к поверхности порошка субстанции в пенициллиновом флаконе и снимали спектр не менее 5 раз для каждой пробы, перемешивая её перед каждым измерением.

Результаты и их обсуждение

Взятые на анализ образцы субстанции I отличались по способу синтеза (1 или 2) и по содержанию посторонних примесей. Содержание примесей во всех образцах оценивали предварительно, методом газожидкостной хроматографии по методике, разработанной для анализа субстанции I [9]. Данные представлены в табл. 1.

Получены БИК-спектры серийных образцов технической субстанции I (образцы серий 1–5), выявлено наличие характерных полос поглощения в области (см^{-1}): 4000–4300, 4762–4900, 5700–5900, 8333–9000 (рис. 1). Визуальная оценка не показала значимого различия в БИК-спектрах изучаемых образцов.

Образцы под порядковыми номерами серий 1–5 отобраны для построения калибровочной модели, поскольку содержание посторонних примесей в данных образцах было невелико: не более 3,0 % адамантан-2,6-диона и не более 0,5 % адамантан-2-она. Данный подход минимизировал степень влияния перечисленных примесей на спектр основного вещества.

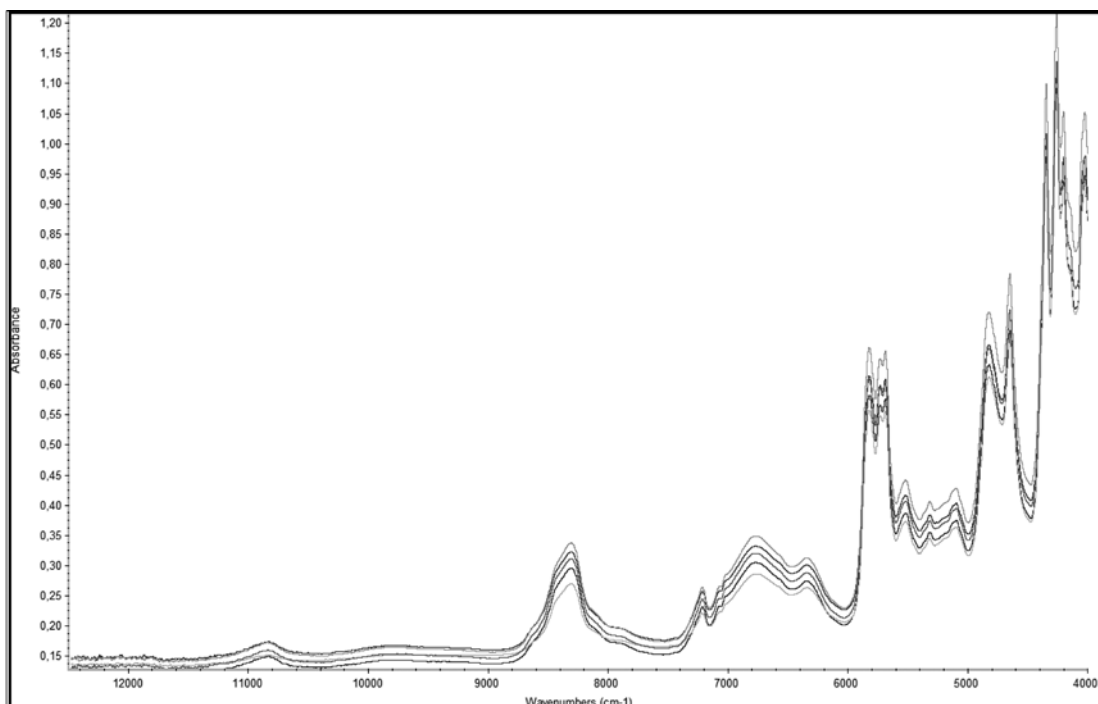


Рис. 1. БИК-спектры образцов субстанции I (образы серий 1 – 5, табл. 1).

Для хемометрической обработки спектров субстанции I выбран метод дискриминантного анализа (единицы Махаланобиса, доверительная вероятность 95 %). Калибровочную модель строили следующим образом: спектры каждой серии субстанции рассматривали как отдельный класс, т.е. калибровочная модель состояла из 5 классов. Посредством метода дискриминантного анализа спектральные данные были математически преобразованы и спроецированы на плоскости в виде двумерного графика в координатах Махаланобиса. Для оценки результатов придерживались принятых в литературе параметров, где единица расстояния Махаланобиса рассматривается как величина, равная стандартному отклонению, а в качестве теоретических границ принадлежности к группе —

расстояние в 3 стандартных отклонения от среднего, т.е. в 3 единицы Махаланобиса. Каждая точка на полученной плоскости соответствовала отдельному спектру каждой из представленных серий субстанции. В результате обработки спектров получены значения парных расстояний между классами (сериями) субстанции I, выраженные в единицах Махаланобиса при доверительной вероятности 95 %. Данный подход позволил выявить максимальные спектральные различия между сериями и провести ранжирование классов: чем ближе полученное значение к 0, тем выше спектральное соответствие.

В табл. 2 представлены серийные образцы технической субстанции I, содержащие примесь адамантан-2-она — не более 0,5 % и адамантан-2,6-диола —

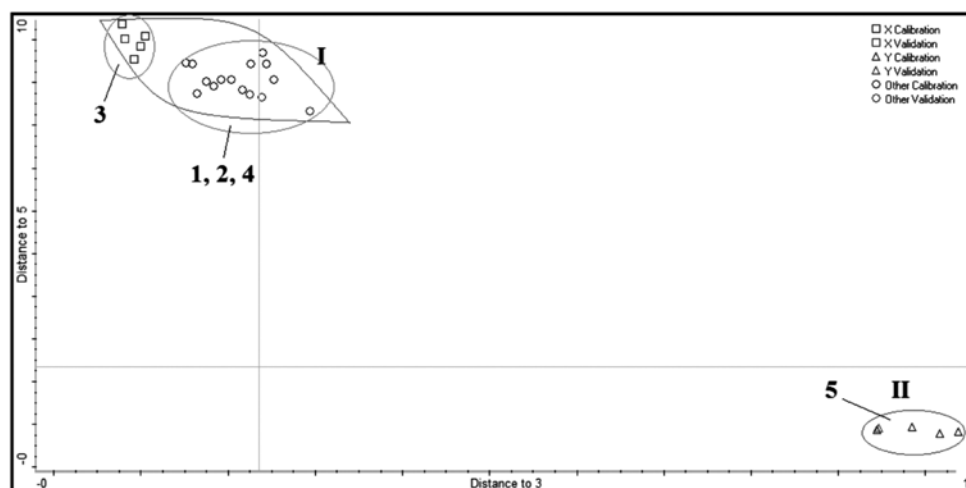


Рис. 2. Графическое представление результатов дискриминантного анализа БИК-спектров субстанции I. 1, 2, 3, 4, 5 — порядковые номера серийных образцов субстанции. I, II — группы, объединяющие серии образцов I по способу синтеза I (табл. 1).

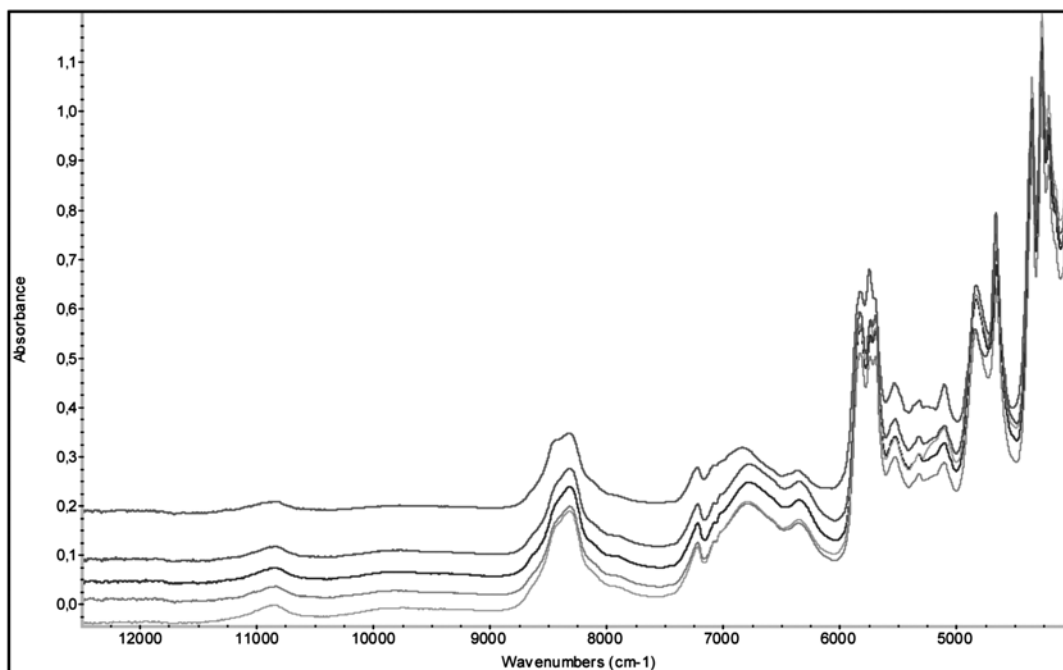


Рис. 3. БИК-спектры образцов субстанции I (образцы серий 6 – 10, табл. 1).

не более 3,0 %. Серии образцов 1 – 4 и 5 получены 2 разными способами синтеза.

Как видно из рис. 2 и табл. 2, в результате хемометрической обработки спектров посредством применения дискриминантного анализа получены 2 дискриминантные группы, объединяющие серии субстанции I по способу синтеза. Группа I включает серии с образцами с 1 по 4 субстанции I. Расстояние Махаланобиса во всех случаях не превышало 3σ (критическое расстояние Махаланобиса — 3σ при вероятности 95 %). Группа II включает только серию 5, синтезированную иным способом.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что БИК-спектроскопия позволяет различить образцы субстанции I, синтезированные разными способами.

В ходе исследования также проведен эксперимент по идентификации нескольких образцов субстанции I с различным содержанием посторонних примесей (образцы с порядковыми номерами 6 – 10, см. табл. 1).

Получены БИК-спектры приведенных субстанций (рис. 3). В спектрах субстанции обнаружены характерные полосы поглощения в области 4000 – 4300, 4762 – 4900, 5700 – 5900, 8333 – 9000 cm^{-1} . Однако предварительная визуальная оценка спектров не выявила значимых различий между образцами субстанции I.

Хемометрическая обработка спектров изучаемых субстанций посредством дискриминантного анализа

Таблица 2
Максимальные парные расстояния для серий субстанции I

Номер серии	2	3	4	5
1	1,7	3,0	1,8	10,0
2		2,4	1,8	10,0
3			2,6	11,0
4				10,0

Таблица 1
Содержание посторонних примесей в субстанции I

Образец серии	Способ синтеза	Примесь, %	
		адамantan-2,6-дион	адамantan-2-он
1	1	1,01	–
2	1	1,36	–
3	1	1,37	–
4	1	2,96	–
5	2	–	0,45
6	1	2,54	–
7	1	3,02	–
8	1	9,64	–
9	1	50,20	9,98
10	2	17,99	–

Таблица 3
Результаты анализа серийных образцов технической субстанции I

Образец серии	Соответствие калибровочной модели	Результат анализа		
		ближайший класс	расстояние до ближайшего класса	соответствие спектров на анализируемом диапазоне (11200 – 4000 cm^{-1}), %
6	Подходит	3	1,04 – 1,85	99,8 – 100,0
7	Подходит	4	1,04 – 1,77	99,8 – 99,9
8	Не подходит	4	4,18 – 4,90	99,6 – 99,7
9	Не подходит	4	32,58 – 33,52	90,9 – 91,3
10	Не подходит	3	11,79 – 12,48	99,1 – 99,3

(единицы Махаланобиса, доверительная вероятность 95 %) выявила статистически значимые различия в спектрах у 3 образцов из 5: образцы с содержанием адамантан-2,6-диона более 3 % по спектральным характеристикам не соответствовали созданной ранее калибровочной модели (табл. 3).

Таким образом, с помощью метода БИК-спектроскопии в сочетании с дискриминантным анализом можно достоверно провести различия между образцами субстанции I по способу синтеза, а также по степени чистоты. Полученные данные могут быть использованы в контроле качества фармацевтической субстанции I.

ЛИТЕРАТУРА

1. European Pharmacopoeia 8.0, 2.2.40 Near-infrared spectroscopy (2014).

2. United States Pharmacopeia 37 — National Formulary 32, <1119> Near-infrared spectrophotometry (2014).
3. Supplement II to the Japanese Pharmacopoeia, ed. XV, p. 2284, Near Infrared Spectrometry (2009).
4. Государственная фармакопея Российской Федерации, XIII изд., т. I, ОФС. 1.2.1.1.0001.15 (2015).
5. В. Шмидт, *Оптическая спектроскопия для химиков и биологов*, Техносфера, Москва (2007).
6. Н. Г. Арцимович, Т. А. Фадеева, Т. С. Галушина и др., *Иммунология*, № 6, 21 – 23 (1990).
7. И. С. Морозов, В. И. Петров, С. А. Сергеева, *Фармакология адамантанов*, Волгоградская медицинская академия, Волгоград (2001).
8. Патент РФ № 2104994, *Бюл. изобрет.*, № 5 (1998).
9. А. В. Толкачева, Л. Н. Грушевская, Н. И. Авдюнина и др., *Хим.-фарм. журн.*, 47(6), 44 – 50 (2013); *Pharm. Chem. J.*, 47(6), 330 – 336 (2013).

Поступила 19.02.18

APPLICATION OF NEAR-IR SPECTROSCOPY IN ANALYSIS OF THE KEMANTANE SUBSTANCE

A. V. Tolkacheva^{1,2}, K. S. Balyklova², L. N. Grushevskaya¹, N. I. Avdyunina¹,
B. M. Pyatin¹, V. I. Prokof'eva², S. V. Chernova², L. M. Gaevaya^{1*}, and M. S. Sergeeva¹

¹ V. V. Zakusov State Research Institute of Pharmacology, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, 125315 Russia

² I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, 119991 Russia

* e-mail: tvin-taurin@mail.ru

Near-IR spectroscopy is a promising method of the pharmaceutical analysis. In this work, the possibility of using NIR-spectroscopy as a rapid method for the identification and purity analysis of kemantane (5-hydroxyadamantan-2-one) substance is shown.

Keywords: near-IR spectroscopy; NIR; discriminant analysis; kemantane; 5-hydroxyadamantan-2-one; rapid analysis.