

УДК 543.068.8:543.426:543.062:577.182.99

НЕРАЗРУШАЮЩИЙ КОНТРОЛЬ МАКРОЛИДОВ В ТАБЛЕТИРОВАННЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВАХ МЕТОДАМИ БЛИЖНЕЙ ИК-ФУРЬЕ-СПЕКТРОСКОПИИ И ЦИФРОВОЙ ЦВЕТОМЕТРИИ

© 2024 г. В. Г. Амелин^{a, b, *}, О. Э. Емельянов^a

^a Владимирский государственный университет имени Александра Григорьевича и Николая Григорьевича Столетовых
ул. Горького, 87, Владимир, 600000 Россия

^b Всероссийский государственный центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов
Звенигородское шоссе, 5, Москва, 123022 Россия
*E-mail: amelinvg@mail.ru

Поступила в редакцию 24.06.2024 г.

После доработки 30.07.2024 г.

Принята к публикации 30.07.2024 г.

Предложен неразрушающий контроль действующих веществ азитромицина и кларитромицина в таблетированных лекарственных средствах без вскрытия блистерной упаковки по измерению интенсивности диффузного отражения ИК-излучения. Использовали два метода – ближнюю ИК-спектроскопию с преобразованием Фурье и цветометрию с использованием смартфона и напечатанного на 3D-принтере устройства. Массив данных (ИК-спектры диффузного отражения, цифровые значения цветометрических каналов) обрабатывали методами главных компонент, иерархического кластерного анализа и частичной регрессии наименьших квадратов с применением программного обеспечения TQ Analyst, PhotoMetrix PRO®. Рассмотрено использование хемометрических алгоритмов для определения концентрации действующего вещества и идентификации производителя лекарственной продукции. Методы ИК-спектроскопии и цветометрии показали равноточные результаты по идентификации производителя лекарственных средств и установлению концентрации действующих веществ в таблетках без вскрытия блистерной упаковки.

Ключевые слова: лекарственные средства, неразрушающий контроль, макролиды, цифровая цветометрия, ИК-спектроскопия, смартфон.

DOI: 10.31857/S0044450224120056, EDN: stshfj

Метод ИК-спектроскопии в ближней области (**БИК**) – простой, экспрессный и сравнительно недорогой способ контроля качества лекарственных средств [1–4]. ИК-спектры в ближней области ($4000\text{--}12\,500\text{ см}^{-1}$) обусловлены колебаниями связей C–H, O–H и N–H органических соединений и, в отличие от средней области ($600\text{--}4000\text{ см}^{-1}$), не проявляют характеристических частот поглощения (диффузного отражения). Однако БИК-спектр формирует суммарный “облик” лекарственных средств (включая все вспомогательные вещества, а также блистерную упаковку), и только в сочетании с хемометрической обработкой спектров

возможен их анализ. С этой целью для обработки БИК-спектров применяют хемометрические алгоритмы – метод главных компонент (**PCA**), искусственные нейронные сети, частичную регрессию наименьших квадратов (**PLS**), линейный дискриминантный анализ, иерархический кластерный анализ (**HCA**) и др. [5, 6].

Описаны приемы неразрушающего анализа таблетированных форм лекарственных средств без упаковки. Так, в работе [7] исследованы таблетки ацетилсалициловой кислоты разных производителей методом БИК. С помощью хемометрических методов PCA и SIMCA построены модели, которые позволяют

идентифицировать препарат по производителю и могут быть использованы для выявления его фальсификата.

Показана возможность применения БИК-спектроскопии для подтверждения подлинности сульфалена [8], омепразола [9], фамотидина [10], противомикробного препарата (олеандомицин, тетрациклин) [11] в субстанциях и таблетках. С помощью дискриминантного анализа выявлены различия в БИК-спектрах между субстанциями и лекарственными формами разных производителей препаратов.

Ранее нами опубликован ряд работ по применению неразрушающего цветометрического и БИК-определения фторхинолонов, тетрациклинов, нестероидных противовоспалительных средств (**НПВС**) в блистерной упаковке с использованием устройства для анализа [12–15]. Для получения флуоресценции фторхинолонов, тетрациклинов и измерения ее интенсивности с помощью смартфона при облучении таблеток в блистерной упаковке УФ-светом 390 нм задействовали специальное устройство. Для нефлуоресцирующих НПВС с использованием смартфона измеряли интенсивность диффузного отражения ИК-излучения (850, 880 и 940 нм). Во всех случаях применение хемометрических алгоритмов PCA, HCA, PLS позволило установить производителя лекарственного средства и определить содержание действующих веществ. Получены равноточные результаты с применением цветометрии и ИК-спектроскопии с преобразованием Фурье ближней области спектра.

В данной работе проведено сравнение БИК-спектроскопии с более простым и дешевым цветометрическим методом [16] с использованием разработанного устройства и детектора-смартфона для анализа таблетированных форм макролидов в блистерной упаковке.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Применили устройство-бокс (9 × 12 × 9 см), напечатанный на 3D принтере с установленной ИК-светодиодной матрицей SHL0020IR (850 нм) и блоком питания на 4.5 В (три элемента питания АА) (рис. 1). Для регистрации аналитического сигнала (диффузное отражение излучения от образца) применяли смартфон OnePlus 10 Pro (модель NE2213, Китай), iPhone 14 (модель A2884, США) с приложениями PhotoMetrix PRO® (версия 1.1.3), ColorGrab (версия 3.9.2) и RGBer (версия 2.6). Перед началом исследований в мобильное приложение PhotoMetrix PRO® [17–19] вводили следующие параметры: область захвата изображения (ROI) – 16 × 16 пикселей, баланс белого (White-Balance) – auto.

Использовали ИК-спектрометр с преобразованием Фурье Frontier фирмы PerkinElmer (США) с приставкой NIRA, работающий в диапазоне ближнего ИК-излучения (4000–10 000 см⁻¹). Для обработки полученных ИК-спектров применяли специализированные программы, использующие хемометрические алгоритмы для анализа большого массива данных: TQ Analyst (версия 9.7.179) Thermo Fisher Scientific Inc. и The Unscrambler X (версия 10.4) CAMO Software (США).

При цветометрическом анализе лекарственные средства в блистерной упаковке с разной концентрацией действующего вещества поочередно вводили на середину смотрового окна, прикладывали камеру смартфона к окну с захватом середины таблетки в области (ROI) 16 × 16 пикселей и проводили фотографирование с переменным фокусированием (infinity), автоматическим балансом белого (white balance auto) и разрешением камеры (resolution) 640 × 480. Для получения ИК-спектров лекарственные средства, находящиеся в блистерной упаковке,

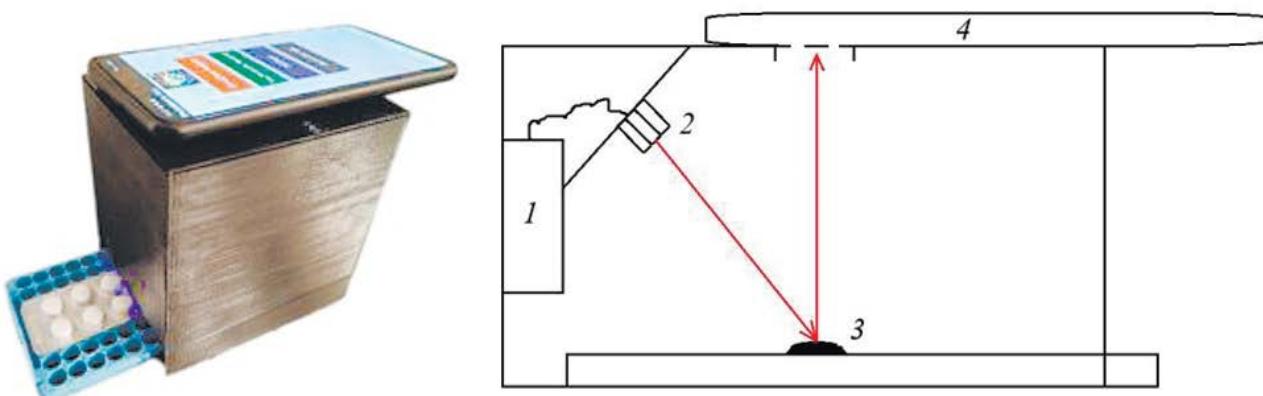


Рис. 1. Устройство для цветометрического анализа. 1 – блок питания, 2 – светодиодная матрица, 3 – анализируемый образец, 4 – смартфон.

поочередно помещали на сапфировое окно интегрирующей сферы для образцов и сканировали заданную область спектра. Измерение для каждой пробы проводили трижды.

Лекарственные препараты для анализа приобретали в аптеках г. Владимира. Состав и производители анализируемых проб представлены в табл. 1.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

ИК-спектроскопия. На рис. 2 представлены ИК-спектры таблетированных форм макролидов в блистерной упаковке. Хемометрическая обработка спектров показывает различие не только по производителям, но и по концентрациям действующих веществ в таблетках (рис. 3, 4). Так, графики PCA и НСА кларитромицина показывают дифференциацию производителей – пробы 1–4 располагаются в различных квадрантах графика и образуют различные

кластеры (рис. 3). Аналогичные результаты получены и для азитромицина разных производителей (рис. 4). При анализе препаратов для определения концентрации действующего вещества важно показать, в каком кластере и в каком квадранте находится исследуемое лекарственное средство для его идентификации и определения.

Цветометрия. Задействовали многомерный анализ в приложении Photometrix PRO® с использованием цветометрических каналов R, G, B, H, S, V, L и I, который позволяет применять хемометрические алгоритмы РСА, НСА и РЛС. Данные алгоритмы позволили определить концентрацию действующего вещества по градиуровочной зависимости, рассчитанной методом РЛС, а также установить производителя лекарственного средства. При исследовании таблеток цветометрическим методом оценивали влияние блистерной упаковки и оболочки таблетки на результат анализа. Как видно из рис. 5, блистерная упаковка и оболочка таблетки уменьшают

Таблица 1. Состав лекарственных препаратов и их производители

Лекарственный препарат (действующее вещество, мг в таблетке)	Вспомогательные вещества	Производитель
Суматролид Солюшн (азитромицин, 250, 500)	Целлюлоза микрокристаллическая, крахмал прежелатинированный, кросповидон, кремния диоксид коллоидный, натрия сахаринат, магния стеарат, ароматизатор черносмородиновый, ванилин	ООО “ОЗОН”
Азитромициц Реневал (азитромицин, 250, 500)	Кальция гидрофосфат безводный, крахмал прежелатинизированный, целлюлоза микрокристаллическая 101, кроскармеллоза натрия, крахмал кукурузный, магния стеарат, гипромеллоза, кремния диоксид коллоидный (аэросил), натрия лаурилсульфат. Оболочка: вивакоат РС-ІО-609 белый (гипромеллоза, титана диоксид, полисорбат 80, тальк)	АО “Обновление ПФК”
Азитромицин Вертекс (азитромицин, 125, 500)	Целлюлоза микрокристаллическая, лактозы моногидрат, повидон K-30, кросповидон, натрия лаурилсульфат, кремния диоксид коллоидный, магния стеарат. Оболочка: гипромеллоза, тальк, титана диоксид, макрогол 4000 (полиэтиленгликоль)	АО “Вертекс”
Кларитромицин (кларитромицин, 250, 500)	Повидон, целлюлоза микрокристаллическая, натрия кроскармеллоза, кремния диоксид коллоидный, магния стеарат. Оболочка: опадрай II 31F58914 белый (запатентованная смесь, содержащая гипромелозу, лактозы моногидрат, титана диоксид (Е171), макрогол 4000, натрия цитрат)	ООО “ОЗОН”
Кларитромицин (кларитромицин, 250, 500)	Крахмал прежелатинизированный, целлюлоза микрокристаллическая, кроскармеллоза натрия, повидон-K30, кремния диоксид коллоидный, магния стеарат. Оболочка: опадрай II белый 85F28751(поливиниловый спирт, титана диоксид, макрогол, тальк)	АО “Рафарма”

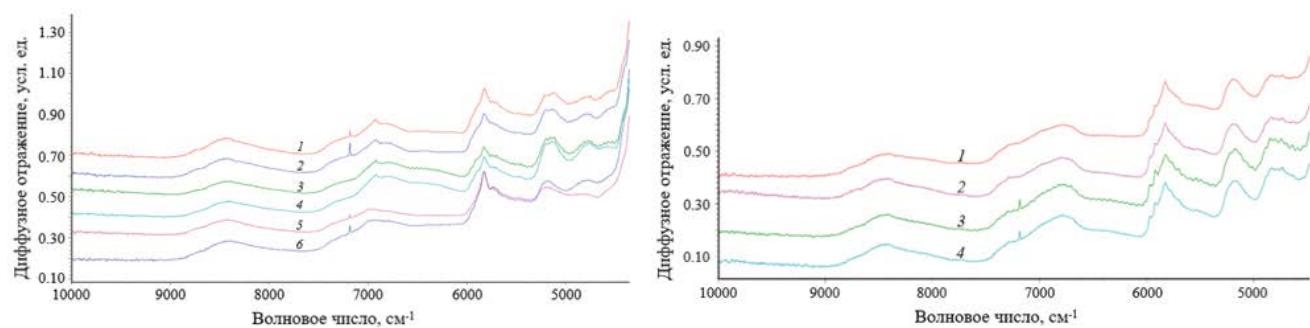


Рис. 2. ИК-спектры таблеток в блистерной упаковке азитромицина (а) и кларитромицина (б) разных концентраций и производителей. (а): 1, 2 – Азитромицин Вертекс (125, 500 мг); 3, 4 – Суматролид Солюшн Таблетс (250, 500 мг); 5, 6 – Азитромицин Реневал (250, 500 мг). (б): 1, 2 – Кларитромицин Озон (250, 500 мг); 3, 4 – Кларитромицин Рафарма (250, 500 мг).

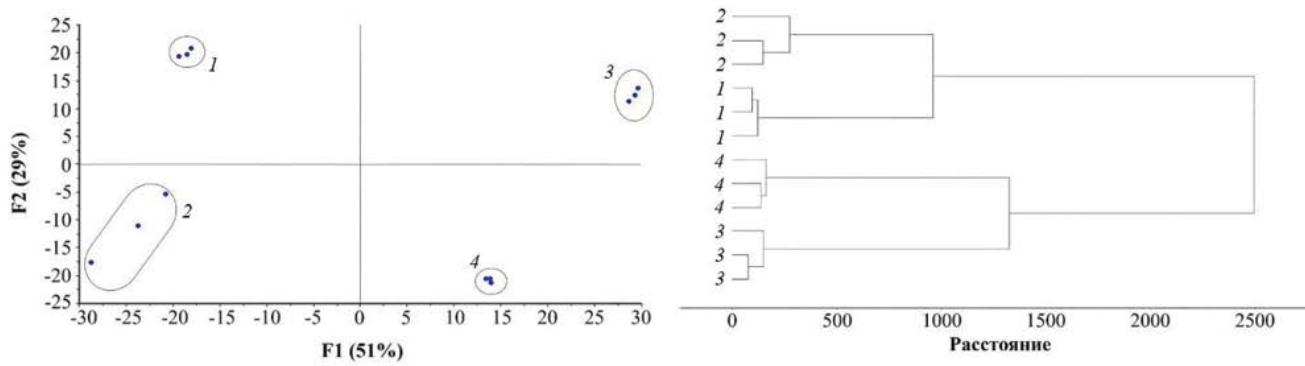


Рис. 3. Графики (а) РСА и (б) НСА для идентификации производителя лекарственных препаратов с кларитромицином: 1, 2 – Кларитромицин Озон (250, 500 мг); 3, 4 – Кларитромицин Рафарма (250, 500 мг).

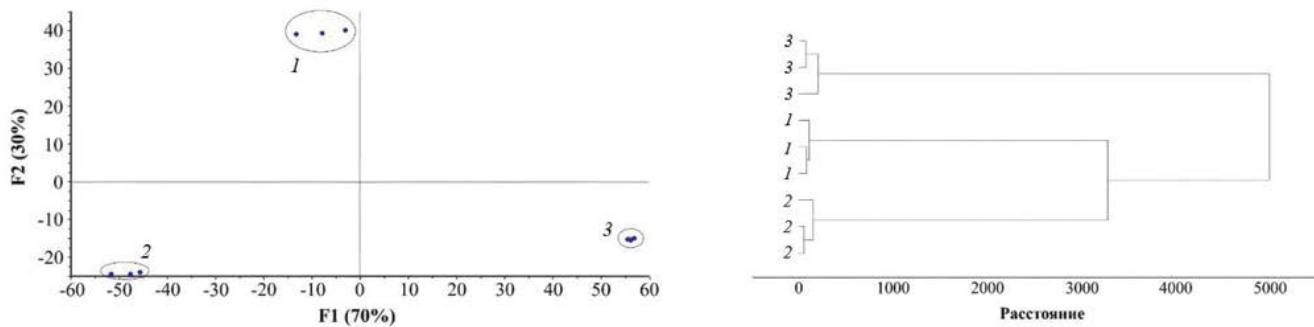


Рис. 4. Графики (а) РСА и (б) НСА для идентификации производителя лекарственных препаратов с азитромицином: 1 – Азитромицин Вертекс (500 мг); 2 – Суматролид Солюшн Таблетс (500 мг); 3 – Азитромицин Реневал (500 мг).

аналитический сигнал, однако зависимость цифровых значений RGB от концентрации действующего вещества сохраняется.

На рис. 6, 7 представлены данные РСА и НСА для таблетированных макролидов разных производителей. Как видно, кластеры располагаются в разных квадрантах на рисунках в зависимости

от производителя и концентрации действующего вещества. Последний факт положен нами в основу определения концентрации действующих веществ в таблетках с применением алгоритма PLS в Photometrix PRO®.

Алгоритм PLS удобно использовать при определении концентрации действующего вещества

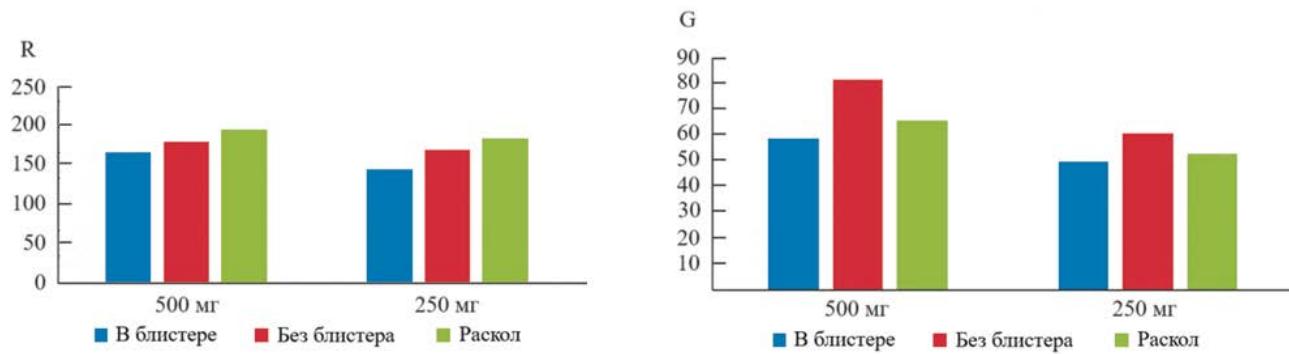


Рис. 5. Влияние блистерной упаковки на цифровые значения цветометрических каналов для (а) Азитромицина Реневал и (б) Кларитромицина Рафарма.

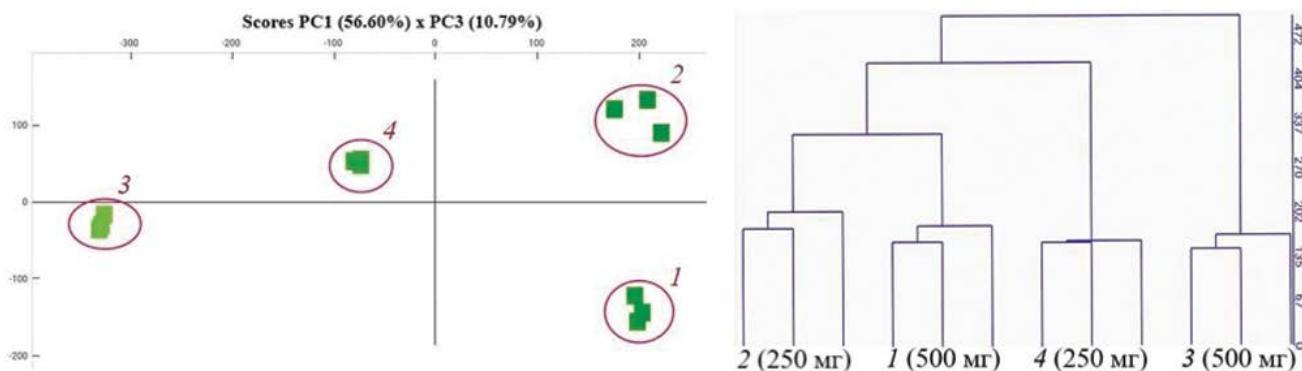


Рис. 6. Графики РСА и НСА для определения производителя лекарственных средств клоритрамицина: 1, 2 – Кларитромицин Озон (250, 500 мг); 3, 4 – Кларитромицин Рафарма (250, 500 мг).

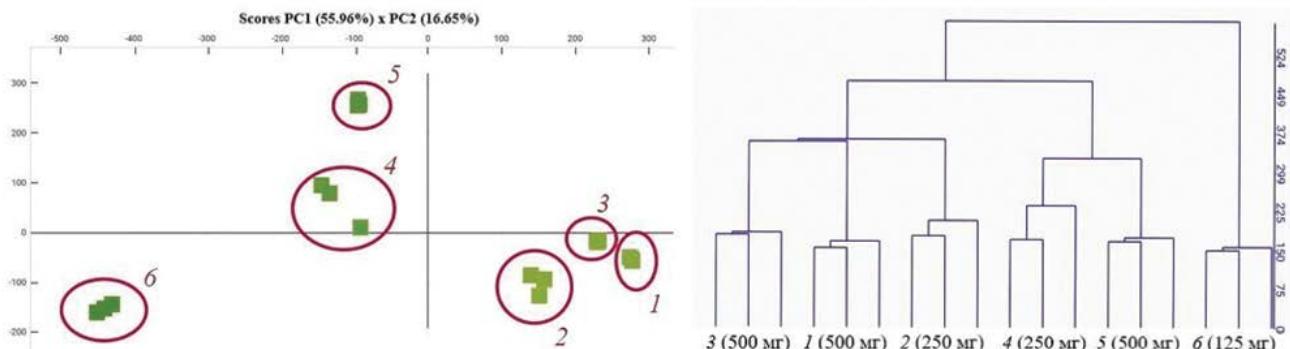


Рис. 7. Графики РСА и НСА для определения производителя лекарственных средств азитромицина: 1, 2 – Суматролид Солюшн; 3, 4 – Азитромицин Реневал; 5, 6 – Азитромицин Вертекс.

в таблетках: задается концентрация, указанная в инструкции к таблеткам, далее выдается концентрация, рассчитанная в ходе анализа (OUTPUT SAMP). Точность градуировочной модели PLS характеризовали величиной среднеквадратичного остатка градуировки (RMSEC, root-mean square error of calibration) [6]. При этом чем меньше RMSEC, тем точнее описываются исходные данные. Значения RMSEC не превышали

0.96 мг (табл. 2). Прогнозные свойства модели оценивали величиной среднеквадратичного остатка прогноза (RMSEP, root-mean square error of prediction) [6] по результатам анализа таблеток другой серии. Величина RMSEP составила максимально 13.6 мг (табл. 2). В табл. 2 показаны результаты определения действующих веществ в лекарственных препаратах с применением многомерного цветометрического

и ИК-спектроскопического анализа. Как видно из таблицы, относительное стандартное отклонение результатов анализа не превышает 0.06. Применение алгоритма PLS способствовало получению равноточных результатов при анализе таблеток в блистерной упаковке по диффузному отражению ИК-излучения в методах ИК-спектроскопии и цветометрии. Относительная погрешность результатов анализа не превышает рекомендуемую при приготовлении лекарственных средств согласно приказу Министерства здравоохранения РФ от 26.10.2015 № 751н (табл. 2).

Таким образом, данные сравнительного анализа методами БИК-спектроскопии и цветометрии показывают приемлемые результаты, что позволяет рекомендовать более дешевый

и простой цветометрический метод для анализа лекарственных средств.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Данная работа финансировалась за счет средств бюджета Всероссийского государственного центра качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов. Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство данным конкретным исследованием получено не было.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной работы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Таблица 2. Результаты анализа лекарственных препаратов ($n = 3$, $P = 0.95$)

Наименование лекарственного препарата (действующее вещество/допустимые отклонения ^a)	Уравнения зависимостей “измерено—предсказано”	RMSEC, мг	Найдено, мг в таблетке	RMSEP, мг	s_r	Относительное отклонение, %
Азитромицин Вертекс (азитромицин, 125, 500 / ±10, ± 6%)	$y = 0.999x + 0.232^b$	0.48	134 ± 20	13.6	0.06	+7.4
			500 ± 10	3.18	0.01	0.0
	$y = 1.000x + 0.140^c$	0.96	113 ± 11	15.7	0.04	-9.6
			468 ± 11	4.12	0.01	-6.4
Суматролид Солюшн Таблетс (азитромицин, 250, 500 мг/ ±8, ±6%)	$y = 1.000x + 0.003^b$	0.22	244 ± 6	1.51	0.01	-2.3
			498 ± 7	1.47	0.01	-0.4
	$y = 0.992x + 3.129^c$	0.12	262 ± 15	2.53	0.02	4.8
			491 ± 30	1.45	0.02	-1.8
Азитромицин Реневал (азитромицин, 250, 500 мг/ ±8, ±6%)	$y = 1.000x+0.071^b$	0.56	257 ± 11	0.564	0.02	+2.6
			485 ± 10	1.016	0.01	-3.0
	$y = 0.997x+1.092^c$	0.67	276 ± 17	1.33	0.02	+8.0
			519 ± 15	2.17	0.02	+3.8
Кларитромицин Озон (кларитромицин, 250, 500 мг/ ±8, ±6%)	$y = 0.999x+0.324^b$	0.65	234 ± 9	0.22	0.01	-6.5
			494 ± 7	0.16	0.01	-1.3
	$y = 0.996x+1.49^c$	0.78	243 ± 39	0.27	0.06	-2.8
			470 ± 27	1.10	0.03	-3.5
Кларитромицин Рафарма (кларитромицин, 250, 500 мг/ ±8, ±6%)	$y = 1.000x+0.031^b$	0.32	230 ± 21	0.10	0.04	-7.9
			473 ± 32	0.61	0.03	-5.4
	$y = 0.999x+0.535^c$	0.47	254 ± 10	0.65	0.02	+1.6
			492 ± 12	0.73	0.01	-1.6

^aПриказ Министерства здравоохранения РФ от 26.10.2015 № 751н; ^bанализ в блистерной упаковке по диффузному отражению ИК-излучения, ^cцветометрический анализ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Косенко В.В., Трапкова А.А., Тарасова С.А. Организация государственного контроля качества лекарственных средств на базе федеральных лабораторных комплексов // Вестник Росздравнадзора. 2012. № 6. С. 17.
2. Кузьмина Н.Е., Моисеев С.В., Романов Б.К. Проблемы использования метода БИК-спектрометрии для установления подлинности действующего вещества в лекарственных препаратах // Ведомости научного центра экспертизы средств медицинского применения. 2021. № 11 (1). С. 49.
<https://doi.org/10.30895/1991-2919-2021-11-1-49-54>
3. Арзамасцев А.П., Садчикова Н.П., Титова А.В. Метод ближней ИК-спектроскопии в системе контроля качества лекарственных средств (обзор) // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2010. № 1. С. 63.
4. Арзамасцев А.П., Садчикова Н.П., Титова А.В. Современное состояние проблемы применения ИК-спектроскопии в фармацевтическом анализе лекарственных средств // Хим.-фарм. журн. 2008. Т. 42. № 8. С. 47.
5. Родионова О.Е., Померанцев А.Л. Хемометрика: достижения и перспективы // Успехи химии. 2006. Т. 75. № 4. С. 302.
6. Сливкин А.И., Карлов П.М. Хемометрика и фармацевтический анализ. Уч.-мет. пос. Воронеж, 2020. 88 с.
7. Балыкова 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.
8. Балыкова К.С., Садчикова Н.П., Арзамасцев А.П., Титова А.В. Использование метода ближней инфракрасной спектроскопии в анализе субстанций и таблеток сульфалена // Вестник Воронежского гос. ун-та. Серия: Химия. Биология. Фармация. 2009. № 1. С. 97.
9. Азимова И.Д., Арзамасцев А.П., Титова А.В. Анализ омепразола методом ближней инфракрасной спектроскопии // Вестник Воронежского гос. ун-та. Серия: Химия. Биология. Фармация. 2009. № 2. С. 152.
10. Степанова Е.В., Арзамасцев А.П., Титова А.В. Изучение возможности применения метода спектроскопии в ближней инфракрасной области в анализе субстанций и таблетированных препаратов, содержащих фамотидин // Вестник Воронежского гос. ун-та. Серия: Химия. Биология. Фармация. 2009. № 2. С. 181.
11. Верескун Д.А., Родионова О.Е., Титова А.В. Изучение возможности использования БИК-спектроскопии в анализе таблеток комбинированного противомикробного препарата // Вестник Росздравнадзора. 2016. № 2. С. 62.
12. Емельянов О.Э., Амелин В.Г., Третьяков А.В. Неразрушающий контроль нестероидных противовоспалительных средств методом ИК-спектроскопии в ближней области // Известия Саратовского ун-та. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24. № 2. С. 135.
<https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-2-135-143>
13. Амелин В.Г., Емельянов О.Э. Неразрушающий контроль лекарственных средств цветометрическим методом с использованием смартфона и приложения PhotoMetrix PRO® // Аналитика и контроль. 2023. Т. 27. № 3. С. 150.
<https://doi.org/10.15826/analitika.2023.27.3.003>
14. Amelin V.G., Emelyanov O.E., Tretyakov A.V. Manufacturer identification and active ingredient determination of medicinal products by smartphone-based near-IR colorimetry // J. Anal. Chem. 2024. V. 79. № 5. P. 601.
<https://doi.org/10.1134/S1061934824050034>
15. Амелин В.Г., Бесчастнова Г.М., Шаока З.А., Третьяков А.В., Киш Л.К. Недеструктивный анализ лекарственных препаратов тетрациклического ряда методом цифровой цветометрии с использованием смартфона и программного обеспечения Photometrix PRO® // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2024. Т. 65. № 5. С. 397. <https://doi.org/10.55959/MSU0579-9384-2-2024-65-5-397-407>
16. Шаока З.А.Ч., Большаков Д.С., Амелин В.Г. Использование смартфона в химическом анализе // Журн. аналит. химии. 2023. Т. 78. № 4. С. 317.
<https://doi.org/10.31857/S0044450223030131>
(Shogah Z.A.C., Bolshakov D.S., Amelin V.G. Using smartphones in chemical analysis // J. Anal. Chem. 2023. V. 78. № 4. P. 426.
[https://doi.org/10.1134/S1061934823030139\)](https://doi.org/10.1134/S1061934823030139)
17. Böck F.C., Helfer G.A., da Costa A.B., Dessuy M.B., Ferrao M.F. PhotoMetrix and colorimetric image analysis using smartphones // J. Chemom. 2020. V. 34. Article 12. <https://doi.org/10.1002/cem.3251>
18. Helfer G.A., Magnus V.S., Böck F.C., Teichmann A., Ferrão M.F., da Costa A.B. PhotoMetrix: An application for univariate calibration and principal components analysis using colorimetry on mobile devices // J. Braz. Chem. Soc. 2017. V. 28. № 2. P. 328.
<https://doi.org/10.5935/0103-5053.20160182>
19. Ratnayake G., Dario P., Cavallo F. Smartphone-based food diagnostic technologies: A review // Sensors. 2017. V. 17. P. 1453.
<https://doi.org/10.3390/s17061453>

NON-DESTRUCTIVE TESTING OF MACROLIDES IN TABLET MEDICINES BY NEAR-INFRARED FOURIER SPECTROSCOPY AND DIGITAL COLORIMETRY

V. G. Amelin^{a, b, *}, O. E. Emelyanov^a

^a *Vladimir State University
Vladimir, Russia*

^b *The Russian State Center for Animal Feed and Drug Standardization and Quality
Moscow, Russia*

*E-mail: amelinvg@mail.ru

Abstract. Non-destructive testing of the active substances azithromycin and clarithromycin in tablet medicines without opening the blister pack by measuring the intensity of diffuse reflection of IR radiation is proposed. Two methods were used – near-infrared spectroscopy with Fourier transform and colorimetry using a smartphone and a 3D-printed device. The data array (IR diffuse reflection spectra, digital values of colorometric channels) was processed using principal component methods, hierarchical cluster analysis and partial least squares regression using TQ Analyst, PhotoMetrix PRO® software. The use of chemometric algorithms to determine the concentration of the active substance and identify the manufacturer of medicinal products is considered. IR spectroscopy and colorimetry methods have shown equivalent results in identifying the manufacturer of medicines and determining the concentration of active substances in tablets without opening the blister pack.

Keywords: medicines, non-destructive testing, macrolides, digital colorometry, IR spectroscopy, smartphone.