

УДК 615.017:616.079

© Бойко Б. Н.
Boyko B.

ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ СКАНИРУЮЩАЯ КАЛОРИМЕТРИЯ В ИССЛЕДОВАНИИ И КОНТРОЛЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ, НОВЫЕ ПРИБОРЫ И МЕТОДЫ

DIFFERENTIAL SCANNING CALORIMETRY IN THE STUDY AND CONTROL OF DRUGS, NEW DEVICES AND METHODS

Аннотация. Рассматриваются новые методы и предназначенные для их реализации приборы, позволяющие объективно определить ресурс срока годности лекарственных препаратов, дифференцированно, по фракциям с различной степенью связи, измерить содержание воды в препаратах, определить степень чистоты.

Annotation. Deals with new techniques and intended for their implementation tools that allow to objectively determine the resource shelf life of drugs, differentiated among the groups with varying degrees of connection, to measure water content in the preparations, to determine the degree of purity.

Ключевые слова. Дифференциальная сканирующая калориметрия, исследования, контроль, лекарственные вещества, новые приборы и методы.

Key words. Differential scanning calorimetry, research, monitoring, drugs, new devices and methods.

За последние десятилетия дифференциальная сканирующая калориметрия (ДСК) прошла обычный для новых методов путь развития: от способа получения новых знаний в фундаментальных исследованиях до эффективного средства исследования, разработки и контроля в различных отраслях промышленного производства. В настоящее время методы калориметрии, как новейшие высокоэффективные технологии, обеспечивающие управление параметрами технологических процессов и контроль качества применяемого сырья и получаемых продуктов, все шире применяются при создании, производстве и контроле лекарственных препаратов [1-8].

Однако применяются далеко не все возможности метода ДСК. По своей физической сущности ДСК-термограмма содержит объективную информацию о наличии и концентрации в препарате активного и других веществ. Из нее может быть получена оценка степени чистоты препарата, отдельно, по фракциям, определено содержание воды. Особое значение имеет принципиальная возможность оценки ресурса срока годности препарата. Однако одним из существенных препятствий развитию и широкому применению метода являются свойства самих объектов.

В готовых лекарственных формах, кроме активной формы, присутствуют различные вспомогательные вещества, при этом массы этих веществ, как правило, существенно превосходят массу активной формы. В калориметрической ячейке активное вещество будет занимать малую часть ее рабочего объема. Поэтому должна быть обеспечена максимально высокая чувствительность калориметрических ячеек.

Современные лекарственные препараты являются композициями из множества различных веществ, представляющих собой все виды неорганических и органических соединений, органических структур и макромолекул, в состав которых входят практически все химические элементы. В процессе исследования препараты подвергаются нагреву вплоть до температур их полного термического разложения. Выделяющиеся при этом вещества могут обладать высокой химической активностью и токсичностью. Поэтому конструкция прибора должна быть защищена от разрушения продуктами разложения и накопления этих продуктов, а персонал от их воздействия.

Температурный диапазон, в котором может существовать большинство лекарственных веществ в своей естественной форме, составляет интервал от 0°С до 350°С. Нижняя граница определяется наличием в препа-

Бойко Борис Никифорович – кандидат технических наук, старший научный сотрудник, заведующий лабораторией теплофизических приборов и методов исследований Института биологического приборостроения РАН, тел. (495) 924-57-49.

Boyko Boris – Ph.D., senior researcher, head of the laboratory thermal instruments and methods research Institute for biological instrumentation, RAS, tel. (495) 924-57-49.

рате различных форм воды, а верхняя – термодеструкцией. Это определяет необходимый температурный диапазон прибора. Наилучшими метрологическими характеристиками в этом температурном диапазоне обладает тепловая схема дифференциального сканирующего калориметра с компенсацией мощности теплового эффекта. Большинство исследований лекарственных препаратов, опубликованных в отечественной и мировой печати, выполнено на таких приборах.

На рис. 1 представлена традиционная схема калориметрического узла, применяемая в существующих

емя конструкция при равных размерах ячеек имеет минимальный конвективный теплообмен. Для нее характеристическая высота поверхности теплообмена равна высоте калориметрической ячейки. В традиционной схеме она увеличивается на высоту держателя. Изложенные ниже результаты получены на экспериментальном образце такого прибора с танталовыми калориметрическими ячейками. Предложенные технические решения защищены патентом [9].

Отечественные калориметры, методы калибровки и измерения приведены в монографии [10]. Рассматривае-

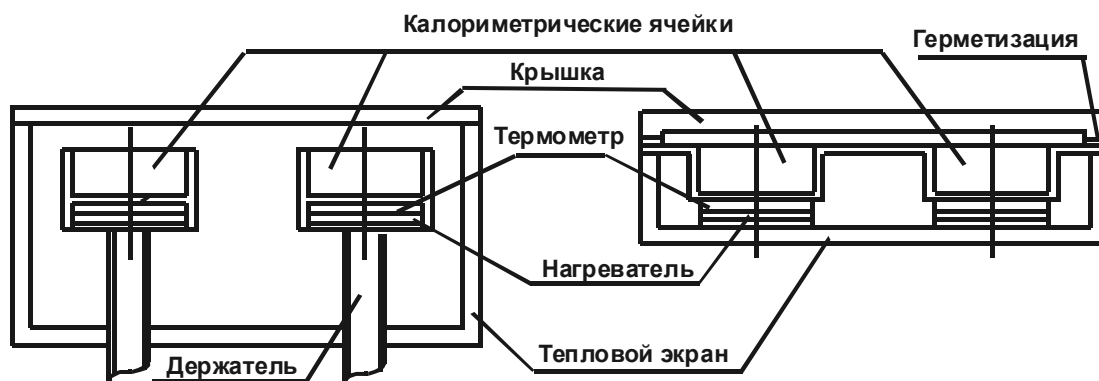


Рис.1. Традиционная схема калориметрического узла

приборах. Основным отличием предложенной схемы является то, что применяются не две отдельные калориметрические ячейки, закрепленные внутри теплового экрана на индивидуальных держателях, а пара ячеек на общей мембране, как это делается в некоторых дифференциальных термоанализаторах (ДТА). Благодаря этому объем над ячейками, в который поступают газообразные продукты распада, отделен от объема под ячейками, где расположены элементы измерительной схемы. Для изготовления мембраны и крышки использовался тантал, который решает задачу химической стойкости и не ограничивает выбор материалов для элементов измерительной схемы. Простая конфигурация верхней полости обеспечивает удаление конденсированных продуктов распада, что практически невозможно, если бы они конденсировались на элементах измерения. Этим исключается накопление продуктов распада.

Одним из основных факторов, влияющих на метрологические характеристики теплофизического прибора, являются шумы, вызванные конвективным теплообменом. Самый эффективный метод борьбы – выкумиривание, в данном случае неприемлем. В вакууме могут меняться свойства исследуемого препарата, например, под влиянием глубокого высушивания или удаления «летучих» составляющих еще до начала процесса измерения, что исказит получаемые результаты. Рассматрива-

емые аспекты применения ДСК в задачах исследования лекарственных препаратов изложены в работах [11–14].

Применяемая оценка степени чистоты препарата по температуре плавления содержит погрешности. На результат измерения влияет теплопроводность объекта, зависящая от дисперсности составляющих и теплопроводности вспомогательных веществ, входящих в состав готовой формы. Эти свойства могут варьировать в широких пределах, не вызывая ухудшения качества. Поэтому в фармакопейных статьях задается широкий диапазон допустимых значений температур плавления, который объективно не соответствует степени чистоты.

ДСК термограмма позволяет измерить степень чистоты лекарственного вещества прямым методом. Единственным условием является наличие результата измерения удельной теплоты фазового превращения (плавления, испарения, термодеструкции и т.п.) для стандартного образца активной формы исследуемого препарата или субстанции. Примером определения степени чистоты по удельной энергии плавления служат термограммы на рис.2. Приведены термограммы плавления стандартного и контролируемого образцов дигидрохверцетина. В качестве стандартного использован образец, подготовленный производителем для регистрации. Его удельная энергия плавления равна 134,5 Дж/Г, степень чистоты 98 %. Для контролируемого образца получено значение

удельной энергии плавления 127,3 Дж/Г. Этому значению соответствует степень чистоты 92,8 %. $(127,3 \div 134,5) / 98$.

Одним из показателей качества лекарственных

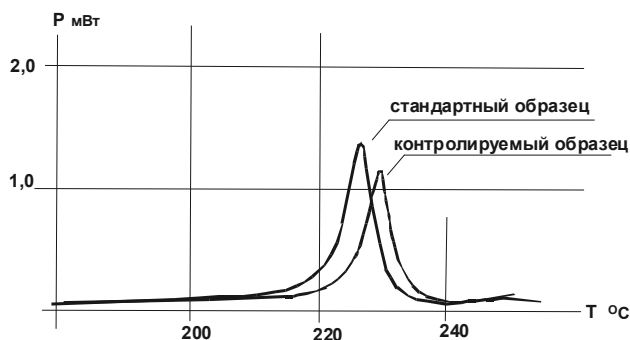


Рис.2. Термограммы плавления дигидрокверцетина

веществ является количество содержащейся в них воды. Вода в значительной мере определяет уровень их биологической активности и стабильность. Существенным является не только общее содержание воды, но и распределение ее по фракциям, обладающим различной степенью связи с молекулами активного вещества. Вода, никак не связанная с веществом и способная свободно перемещаться под действием гравитационных сил, образует фракцию свободной воды. Содержание этой воды традиционно называют влажностью. Фракцию слабо связанной воды образуют механизмы смачивания и поверхностного натяжения. Такую воду называют капиллярной, кластерной или абсорбционно-связанной. Фракции сильно связанной воды образует вода, связанная с молекулами или кристаллами. Такую воду называют гидратной и кристаллогидратной. Эти фракции по-разному влияют на свойства лекарственных веществ и исходного сырья, что следует учитывать и контролировать в технологических процессах для обеспечения эффективности и качества.

Однако существующие в фармакопеех три метода определения воды в лекарственных веществах не дают разделения полученных результатов по фракциям. Результаты такого определения называют по методу исследования, а не по виду определяемой фракции. Это вода «по Фишеру», либо вода, определенная методом высушивания или методом дистилляции.

Термограмма лекарственного вещества в зоне температур испарения жидких фракций отражает суммарные затраты энергии на их испарение. Применение метода разделения перекрывающихся пиков позволяет разложить термограмму на составляющие, отражающие процесс испарения каждой из компонент, и определить массу каждой составляющей. Рассмотрим применение этого метода к задаче разделения фракций воды

на примере того же дигидрокверцетина. Задача усложнена присутствием в исследуемом образце остаточного спирта.

На рис. 3 показаны исходная термограмма в зоне температур испарения жидких фракций; три пика (1, 2 и 3), полученные в результате разложения термограммы на элементарные пики и результат суммирования элементарных пиков.

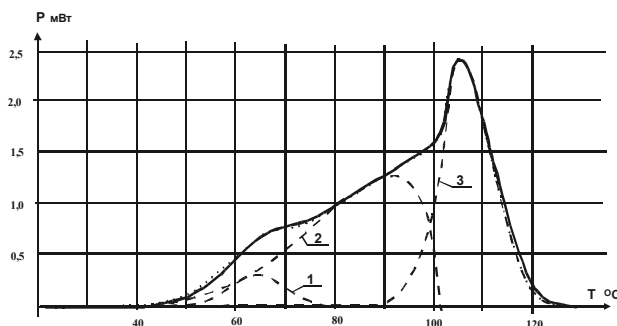


Рис. 3. Разделение пиков испарения жидких Фракций:
— исходная термограмма; сумма пиков

Пик 1 соответствует процессу испарения распределенного по образцу этилового спирта, в качестве модели принята гауссова форма пика. Пик 3 соответствует процессу испарения слабо связанной воды. Пик также хорошо интерпретируется гауссовой кривой. Пик 2 отражает процесс испарения свободной воды, он компенсирует разность между исходной термограммой и пиками 1 и 3. Его форма, асимметричная кривой Гаусса, хорошо интерпретирует процесс испарения свободной воды до начала и во время кипения.

Существует много разнообразных прикладных программ разложения кривых. Мы применили универсальный метод с использованием популярной программы Excel. Процедура разложения заключалась в подборе в интерактивном режиме параметров аппроксимирующих кривых. Последующее разделение суммарной энергии пропорционально доле площади каждого пика дает энергию для каждого процесса.

Процессы испарения спирта и свободной воды описываются уравнениями термодинамики и Менделеева-Клайперона, что позволяет по энергии определить массу каждой фракции. Для слабо связанной воды, как правило, отсутствуют термодинамические параметры соответствующих процессов. Однако контроль массы образца после завершения регистрации суммарного исходного пика позволяет по общей потере массы и полученным значениям масс фракций определить массу слабо связанной воды. Решение обратной задачи дает значение удельной энергии связи для этой фракции. Получен-

ные результаты обработки в виде относительного содержания фракций приведены в таблице.

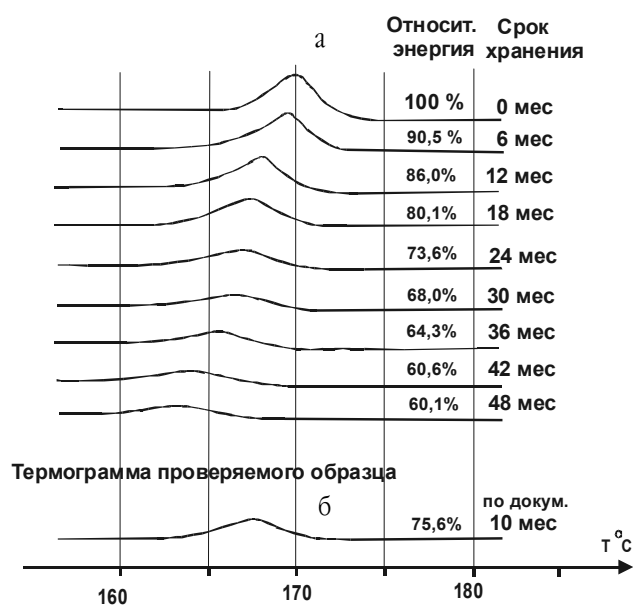
Результаты обработки

Фракция	Относительная масса, %	Относительное количество *
Спирт	0,24	0,018
Свободная вода	9,43	0,911
Слабо связанная вода	2,71	0,523

*Примечание: Количество на моль основного вещества

Возможность определения массы активной формы по энергии плавления положена в основу способа определения ресурса срока годности лекарственного вещества (рис.4). Под ресурсом срока годности понимается интервал времени от текущей даты до даты окончания действия разрешения на использование данного препарата. В настоящее время информация о возможности применения лекарственного средства содержится в указаниях даты выпуска и срока годности, или даты выпуска и даты, до которой может быть использовано данное лекарственное средство.

Термограммы эталона с различным сроком старения



Определение ресурса срока годности

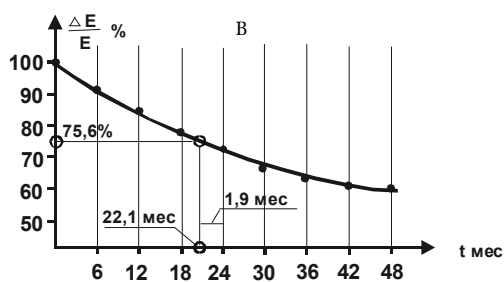


Рис. 4. Способ определения ресурса срока годности

Общепризнанной проблемой сохранения качества лекарственного средства является необходимость соблюдения определенных для данного лекарственного средства условий хранения. Нарушение этих условий, особенно хранение при повышенной температуре, увеличивает темп (скорость) старения и приводит к непрогнозируемому сокращению реального срока годности. Такие процессы могут произойти с готовой лекарственной формой или субстанцией также при нарушении технологических режимов их производства, при ненадлежащем качестве исходного сырья и вспомогательных веществ. Более того, эти факторы могут существенно ускорить старение лекарственных средств, поступивших в аптечную сеть. В результате такие лекарственные средства еще до истечения установленного для них срока годности станут непригодными и, возможно, опасными для здоровья. Подробно эта проблема рассмотрена в работе [14].

Способ определения ресурса срока годности представлен на рис.4 на примере популярного препарата нифедипин. Пробы свежего образца препарата со сроком хранения менее 1 месяца подвергались искусственному старению по методике, которую предписывает «Временная инструкция по проведению работ с целью определения сроков годности лекарственных средств на основе метода ускоренного старения при повышенной температуре. И-42-2-82. Москва,1983 г.». Для полученных термограмм определялось изменение удельной энергии плавления относительно исходной пробы, не подвергавшейся старению. Это изменение эквивалентно изменению концентрации активного вещества. Результаты приведены на рис. 4а. По этим результатам построена зависимость изменения концентрации активного вещества от срока хранения, приведенная на рис.4в. Термограмма проверяемого образца, имеющего по маркировке ресурс срока годности 10 мес, и результат определения изменения концентрации для этого образца показаны на рис.4б. Этому изменению соответствует по кривой старения реальный ресурс срока годности 1,9 месяца (рис.4в).

Несомненным преимуществом применения предлагаемых прибора и методов является совокупность следующих факторов:

- возможность работы с препаратами любого химического состава;
- работа с образцами в их естественной форме без предварительной подготовки и использования реактивов;
- низкая стоимость за счет специализации под прикладные задачи;

- возможность автоматизации процедур измерения. Применение методов ДСК существенно расширяет возможности и повышает качество продукта в сфере производства и оборота лекарственных веществ.

Литература.

1. Koenigbauer M.J. . *Pharmaceutical application of microcalorimetry. Pharmaceutical Research.* 1994. Vol. 11, No. 6, P. 777-783.
2. Giron D. *Application of thermal analysis and coupled techniques in pharmaceutical industry. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry.* 2002. Vol. 68, P. 335-357.
3. Giron D., Golbronn C. *Place of DSC purity analysis in pharmaceutical development. Journal of Thermal Analysis.* 1995. Vol. 44, P. 217-251.
4. Bucci R., Magri A.D., Magri A.L. *DSC in The Chemical Analysis of Drugs. Determination of diclofenac in pharmaceutical formulations. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry,* Vol. 61 (2000) 369 – 376.
5. Giron D., Goldbronn C. *Use of DSC and TG for identification and quantification of the dosage form. Journal of Thermal Analysis.* 1997. Vol. 48, P. 473-483.
6. Mura P., Gratteri P., Faucci M.T. *Compatibility studies of multicomponent tablet formulation. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry.* 2002. Vol. 68, P. 541-551.
7. Титова А.В., Арзамасцев А.П., Чашкин Д.Ю. Анализ пирасетама в субстанции и лекарственных формах методом дифференциальной сканирующей калориметрии. *Химико-фармацевтический журнал.* Том 42, №7, 2008 г., стр. 45-47.
8. Применение физико-химических методов для стандартизации и контроля качества лекарственных веществ, относящихся к карбоновым кислотам и их производным. Диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук. Московская медицинская академия им. И.М.Сеченова. Москва, 2008 год. На правах рукописи.
9. Бойко Б.Н., Рыкунова Г.Н., Колтаков И.М., Горюнов А.В., Федулаева Л.В. «Дифференциальный сканирующий калориметр». Патент на изобретение № 2331063.
10. Бойко Б.Н. «Прикладная микрокалориметрия: отечественные приборы и методы» Москва. Наука, 2006.
11. Колтаков И.М., Чайлахян Л. М., Бойко Б.Н., Уминская К.А. Исследование температурных зависимостей теплофизических свойств дигидрокверцетина. 11-я Международная Пуцинская школа-конференция молодых ученых «Биология – наука XXI века». 2007, с. 254.
12. Николаева С.С., Бойко Б.Н., Быков В.А., Сокольская Т.А., Рощина А.А., Яковлева Л.В., Савина А.А., Пинеев С.А., Ребров Л.Б. Исследования стандартного образца глицерризиновой кислоты в процессе сушки. *Ж. Химико-фармацевтический журнал.* Том 41, №8, 2007 г. с. 36-38.
13. Kolpakov I.M., Uminsky A.A., Boyko B.N., «Purity determination of digydroquercetin by differential scanning calorimetry». *Abstracts Book. The 12 TH International Congress PHYTOPHARM 2008. Saint-Petersburg, Russia.* 2008.
14. Чайлахян Л.М., Бойко Б.Н., Колтаков И.М. «Применение методов сканирующей калориметрии в производстве и распространении лекарственных препаратов». *Материалы симпозиума «Результаты фундаментальных и прикладных исследований для создания новых лекарственных средств».* Фирма «Слово», 2008.

Материал поступил в редакцию 30. 09. 2010 г.