

# ПРИМЕНЕНИЕ СПЕКТРАЛЬНЫХ МЕТОДОВ ПРИ РАЗРАБОТКЕ СТАНДАРТНЫХ ОБРАЗЦОВ ДЛЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ ПЕПТИДНОЙ СТРУКТУРЫ

**В.И. Гегечкори<sup>1\*</sup>, О.Ю. Щепочкина<sup>1</sup>**, канд. фарм. наук, **Л.Н. Грушевская<sup>2</sup>**, докт. фарм. наук,  
**Б.М. Пятин<sup>2</sup>**, докт. фарм. наук, профессор, **Ф.С. Байбуртский<sup>2</sup>**, канд. хим. наук

<sup>1</sup>Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова;

119991, Москва, Трубецкая ул., д. 8, стр. 2

<sup>2</sup>НИИ фармакологии им. В.В. Закусова РАН;

125315, Москва, Балтийская ул., д. 8

\*E-mail: vgegechkori@gmail.com

Создание высокоэффективных и безопасных лекарственных средств требует комплексного подхода к контролю их качества с применением физико-химических методов анализа. Для обеспечения точности, воспроизводимости и надежности результатов инструментального анализа необходимо использовать стандартные образцы. Рассмотрены вопросы разработки стандартных образцов для оригинальных отечественных препаратов пептидной структуры – дилепта и ГБ-115 с использованием спектральных методов контроля качества.

**Ключевые слова:** фармакопейные стандартные образцы, стандартизация, лекарственные средства пептидной структуры, УФ-спектрофотометрия, ИК-спектроскопия.

**В**НИИ фармакологии им. В.В. Закусова разработаны соединения пептидной структуры: дилепт, являющийся атипичным нейролептиком, и ГБ-115, проявляющий анксиолитическую активность [1, 2]. В процессе изучения и стандартизации этих соединений были разработаны методики контроля качества субстанций и лекарственных форм [3–6].

Обеспечение фармакопейного качества лекарственных средств (ЛС) невозможно без надлежащего процесса стандартизации, который в настоящее время проводится с использованием физических и физико-химических (инструментальных) методов контроля качества. На результат анализа могут влиять различные факторы, не имеющие постоянных значений (например, температура, влажность и давление). Кроме того, большое влияние на исследование оказывает применяемое оборудование различных производителей, серий, комплектаций и амортизации. Аналитик, проводящий анализ, может допускать ошибки, что приводит к погрешности в результатах [7].

Один из наиболее эффективных способов преодолеть возможные неточности в процессе проведения анализа физико-химическими методами – использовать фармакопейные стандартные образцы (ФСО). Стандартный образец – это аутентичный однородный материал, имеющий степень чистоты, достаточную для применения при определенных химических и физических испытаниях, когда свойства образца сравниваются со свойствами испытуемого препарата [7, 8].

Стандартизация и контроль качества лекарственных препаратов-дженериков могут быть проведены с использованием стандартных образцов зарубежных фармакопей, но при стандартизации инновационных отечественных ЛС такая возможность отсутствует, поэтому разработкой стандартного образца должен заниматься производитель.

Цель настоящего исследования – обоснование возможности применения спектральных методов контроля качества для идентификации стандартных образцов ЛС пептидной структуры – дилепта и ГБ-115.

## Экспериментальная часть

В «Общих рекомендациях по разработке, производству и распределению государственных стандартных образцов лекарственных веществ» (2000 г.) указывается, что «в качестве исходного материала можно использовать отдельную серию субстанции, полученную в ходе обычного производственного процесса», а в дальнейшем, при необходимости, эта субстанция может быть очищена. Необходимая степень чистоты субстанции зависит от области ее применения и, в случае ее использования в качестве стандартного образца для количественного опреде-

ления, должна составлять не менее 99,5% в пересчете на безводную и свободную от летучих растворителей субстанцию [8]. Также в рекомендациях указано, что оценка качества этой субстанции должна проводиться с применением комплекса разнообразных методов, включая и те методы, которые указаны в фармакопейной статье на ЛС. В соответствии с этими рекомендациями были отобраны по 3 серийных образца каждого из двух исследуемых ЛС.

Поскольку для идентификации дилепта и ГБ-115 в фармацевтических субстанциях в проекты нормативной документации (НД) включены методы ИК-спектроскопии и УФ-спектрофотометрии [3–6], в настоящем исследовании они также присутствовали. УФ-спектры получали на спектрофотометре UV-1700, ИК-спектры – на ИК-спектрометре Nicolet 6700. УФ-спектры образцов субстанций ГБ-115 и дилепта снимали в 95% этиловом спирте в диапазоне длин волн от 200 до 350 нм, концентрация испытуемых растворов составляла 0,04 мг/мл (0,0004%) – для ГБ-115 [3, 4, 6] и 0,01 мг/мл (0,0001%) – для дилепта [5, 9]. ИК-спектры ГБ-115 и дилепта снимали в таблетках с калия бромидом.

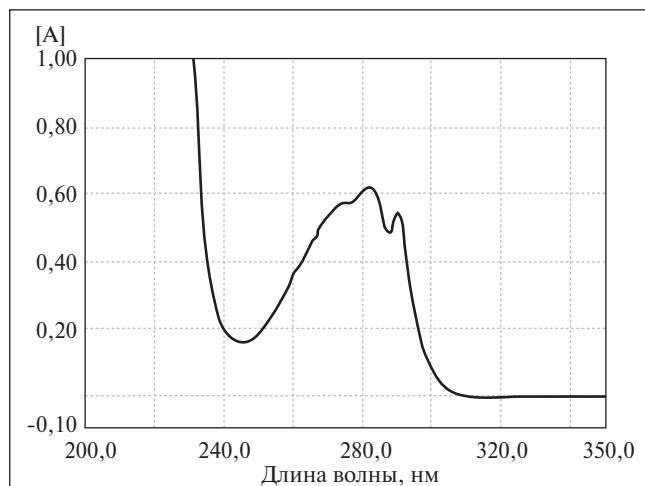
**ХАРАКТЕРИСТИКИ УФ-СПЕКТРОВ  
СТАНДАРТНЫХ ОБРАЗЦОВ ГБ-115 И ДИЛЕПТА**

Стандартный образец	Характеристики УФ-спектров		
	длины волн максимума поглощения, нм	молярный показатель поглощения	удельный показатель поглощения
ГБ-115	217±2	42024	96,75
	282±2	5794	133,33
	290±2	5049	115,74
Дилепт	225±2	11307	289,5
	278±2	1639	41,98

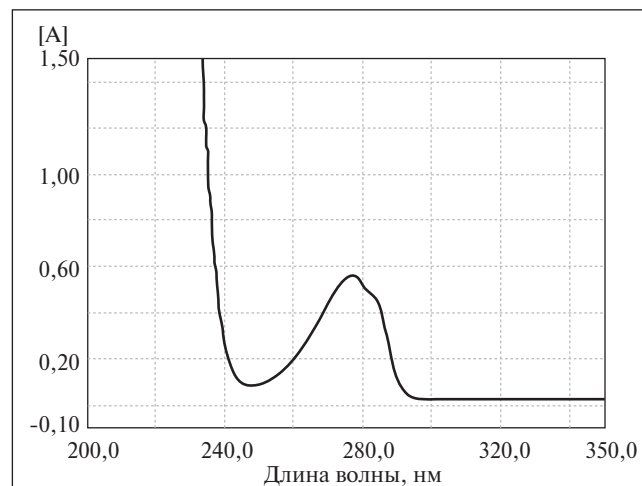
Для подтверждения подлинности стандартных образцов ГБ-115 и дилепта с помощью УФ-спектрофотометрии простая констатация присутствия максимумов в спектрах этих соединений представлялась недостаточной. С целью повышения достоверности идентификации необходимо было расширить описание спектров, включив данные о присутствующих в них минимумах, а также о величинах молярного показателя поглощения или значение соотношения поглощения при определенном максимуме и минимуме спектра (см. таблицу). Полученные УФ-спектры имели также минимумы, не отмеченные в проектах НД на фармацевтические субстанции: при 287±2 и 245±2 нм – для ГБ-115 и при 249±2 и 218±2 нм – для дилепта (рис. 1, 2).

В ИК-спектре испытуемых образцов субстанции ГБ-115 (рис. 3) присутствовали полосы поглощения, характерные для этого соединения [3, 4] (см<sup>-1</sup>): свободная NH<sub>2</sub>-группа (3402); широкая диффузная полоса ассоциированных NH-групп (3360–3199); C-H-группы (валентные колебания протона, 2927–2852); валентные колебания C=O амидных карбонил (1673 и 1625); C=C связи индольного цикла (1508); полоса, характерная для колебаний C-N-связей (полоса Амид II, 1422 и 1351); валентные колебания связи C-N в амидах (Амид III, 1230 и 1202); ортозамещение в бензольном кольце (738), деформационные колебания связи N-H (RNH<sub>2</sub>, 697).

В ИК-спектрах испытуемых образцов субстанции дилепта (рис.4) также наблюдались характерные для этого соединения полосы поглощения [4, 9] (см<sup>-1</sup>): 3310, 3025 (ОН, NH-группы);



**Рис. 1.** УФ-спектр 0,0004 % раствора ГБ-115 в спирте этиловом



**Рис. 2.** УФ-спектр 0,0001 % раствора дилепта в спирте этиловом

2956, 2873 ( $-\text{COOCH}_3$ ); 1734, 1660, 1639, 1539, 1519 (полосы, принадлежащие амидным карбонилам:  $-\text{CONH}$ ,  $>\text{N}-\text{C}=\text{O}$ ); 1432, 1349 (деформационные колебания  $\text{C}=\text{C}$  связей тирозина).

Как показало сравнение ИК-спектров субстанций изучаемых ЛС и их стандартных образцов, характеристические полосы поглощения полностью совпадают, что позволяет подтверждать подлинность стандартных образцов. Таким образом, идентификацию стандартных образцов ГБ-115 и дилепта можно проводить по соответствию ИК-спектров испытуемых образцов данным на рис. 1–4.

### Выводы

1. Проведен анализ образцов субстанций ГБ-115 и дилепта, отобранных для разработки стандартных образцов методами ИК- и УФ-спектроскопии.

2. Полученные экспериментальные данные показали возможность использования ИК-спектроскопии и УФ-спектрофотометрии для идентификации стандартных образцов.

3. Для повышения достоверности, правильности и воспроизводимости результатов УФ-спектрофотометрического метода идентификации расширено описание спектров, включающее данные о присутствующих в них минимумах, а также о величинах молярного показателя поглощения или значении соотношения поглощения при определенном максимуме и минимуме спектра.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Середенин С.Б., Воронина Т.А., Гудашева Т.А., Островская Р.У., Розанцев Г.Г., Бондаренко Н.А. Замещенные пролиптирозины, обладающие психотропной активностью. Патент РФ №2091390, 1997.
2. Середенин С.Б., Гудашева Т.А., Зайцева Н.И., Колик Л.Г., Брилинг В.К., Константинопольский М.А. Замещенные триптофансодержащие дипептиды с холецистокининнегативной или холецистокининопозитивной активностью. Патент РФ №2227144, 2004.
3. Клумова В.С., Грушевская Л.Н., Авдюнина Н.И., Пятин Б.М., Сергеева М.С., Гаевая Л.М., Дуденкова М.Е. Изучение физико-химических свойств и разработка методик анализа субстанции нового оригинального анксиолитического средства ГБ-15. Хим.-фарм. журн., 2011; 10: 53–56.
4. Клумова В.С., Грушевская Л.Н., Авдюнина Н.И., Пятин Б.М., Гаевая Л.М., Сергеева М.С., Дуденкова М.Е., Алексеев К.В., Блынская Е.В., Тихонова Н.В., Турчинская К.Г. Разработка методик анализа твердой дозированной лекарственной формы ГБ-15. Хим.-фарм. журн., 2011; 12: 27–31.
5. Прокофьева В.И., Пятин Б.М., Гусев М.В., Авдюнина Н.И., Грушевская Л.Н. Разработка методик анализа и стандартизация субстанции дилепта. Вопр. биол., мед. и фарм. химии, 2009; 2: 38–41.
6. Клумова В.С., Грушевская Л.Н., Авдюнина Н.И., Пятин Б.М., Сергеева М.С., Иванов А.И. Анализ субстанции нового анксиолитика. Фармация, 2012; 1: 6–8.
7. Дорофеев В.Л., Арзамасцев А.П. Стандартные образцы для фармакопейного анализа. Вопр. биол., мед. и фарм. химии, 2010; 5: 6–10.
8. Арзамасцев А.П., Дорофеев В.Л., Садчикова Н.П. Проект Общих рекомендаций по разработке, производству и распределению государственных стандартных образцов лекарственных веществ. Ведомости Научного центра экспертизы и государственного контроля лекарственных средств Минздрава России, 2000; 3(4): 29–34.
9. Орлов Ф.С. Анализ и стандартизация лекарственной формы с модифицированным высвобождением нового оригинального отечественного препарата «Дилепт». Дис. канд. фарм. наук. М.: ПМГМУ им. И.М. Сеченова, 2012; 125.

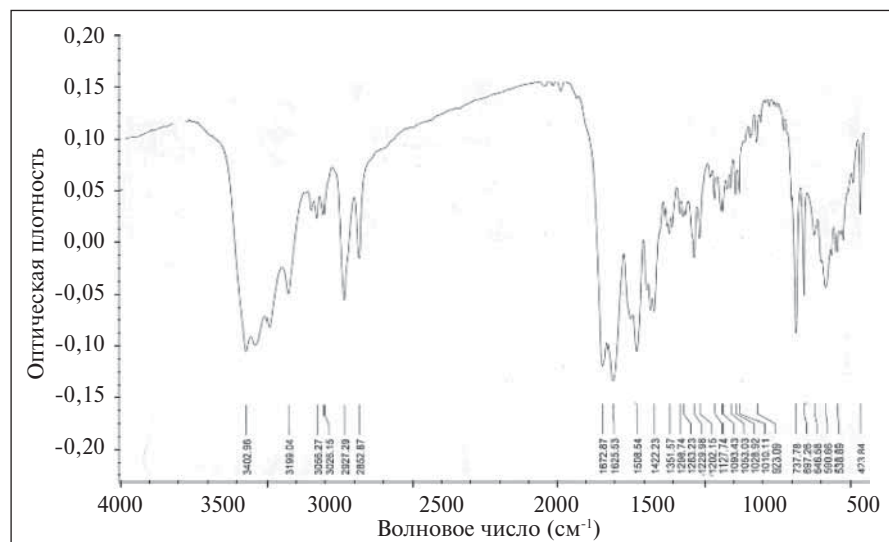


Рис. 3. ИК-спектр субстанции ГБ-115

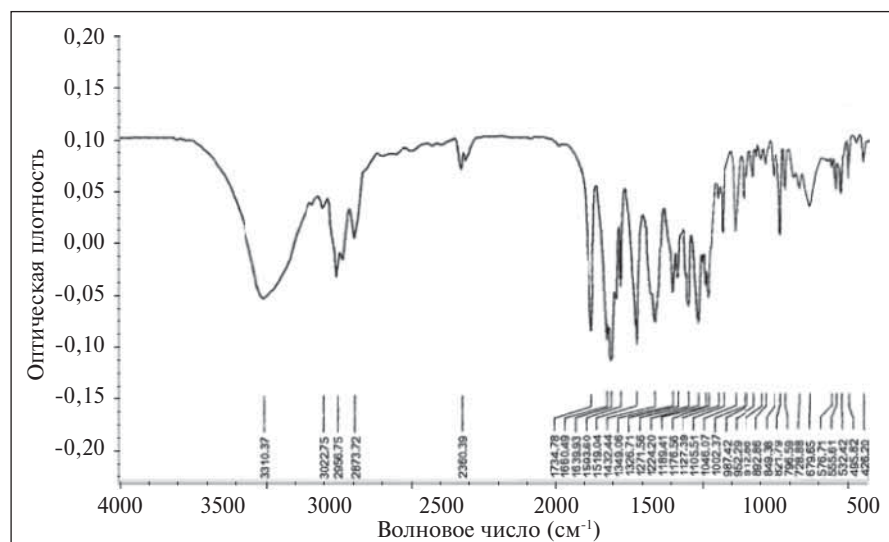


Рис. 4. ИК-спектр субстанции дилепта

Поступила 22 июня 2015 г.

USE OF SPECTRUM METHODS IN DESIGNING STANDARD SAMPLES FOR PEPTIDE DRUGS

V.I. Gegechkori<sup>1</sup>, O.Yu. Shchepochkina<sup>1</sup>, PhD; L.N. Grushevskaya<sup>2</sup>, PhD; Prof. B.M. Pyatin<sup>2</sup>, PhD; F.S. Baiburtsky<sup>2</sup>, PhD

<sup>1</sup>I.M. Sechenov First Moscow State Medical University; 8, Trubetskaya St., Build. 2, Moscow 119991

<sup>2</sup>V.V. Zakusov Research Institute of Pharmacology, Russian Academy of Sciences; 8, Baltiyskaya St., Moscow 1255315

SUMMARY

The pharmacopeia drug quality cannot be ensured without a proper standardization process that is now accomplished using physical and physico-chemical methods for quality control. To ensure the validity, accuracy, and reproducibility of the results of an analysis, it is necessary to use pharmacopoeia standard samples. Manufacturers themselves design standard samples for innovative Russian drugs. Investigations have shown that GB-115 and Dilepta are suitable to design standard samples of peptide drugs. It is advisable to identify standard samples from the description of ultraviolet spectra (absorption minima and maxima and molar absorptivity) and from the concordance of the infrared spectra of the test samples given in Figs. 1-4.

**Key words:** pharmacopoeia standard samples, standardization, peptide drugs, ultraviolet spectrophotometry, infrared spectroscopy.

REFERENCES

1. Seredenin S.B., Voronina T.A., Gudasheva T.A., Ostrovskaja R.U., Rozancev G.G., Bondarenko N.A. Psychoactive Substituted Prolyl-Tyrosines. Patent of the Russian Federation № 2091390, 1997 (in Russian).
2. Seredenin S.B., Gudasheva T.A., Zajceva N.I., Kolik L.G., Briling V.K., Konstantinopol'skij M.A. Substituted tryptophan-containing dipeptides with CKK-negative or CKK-positive activity. Patent of the Russian Federation № 2227144, 2004 (in Russian).
3. Klumova B.S., Grushevskaja L.N., Avdjupina N.I., Pjatin B.M., Sergeeva M.S., Gaevaja L.M., Dudenkova M.E. The study of physico-chemical properties and development of methods of analysis of the substance of the new original anxiolytics GB-15. *Chemico-Pharmaceutical Journal*, 2011; 10: 53-56 (in Russian).
4. Klumova B.S., Grushevskaja L.N., Avdjupina N.I., Pjatin B.M., Gaevaja L.M., Sergeeva M.S., Dudenkova M.E., Alekseev K.V., Blynskaja E.V., Tihonova N.V., Turchinskaja K.G. Development of techniques for the analysis of solid dosage drug forms GB-15. *Chemico-Pharmaceutical Journal*, 2011; 12: 27-31 (in Russian).
5. Prokof'eva V.I., Pjatin B.M., Gusev M.V., Avdjupina N.I., Grushevskaja L.N. Development of methods of analysis and standardization of substance dilapte. *Problems of Biological Medical and Pharmaceutical Chemistry*, 2009; 2: 38-41 (in Russian).
6. Klumova B.S., Grushevskaja L.N., Avdjupina N.I., Pjatin B.M., Sergeeva M.S., Ivanov A.I. The analysis of the substance of a new anxiolytic. *Farvatsiya*, 2012; 1: 6-8 (in Russian).
7. Dorofeev V.L., Arzamascev A.P. Reference Standards for Pharmacopoeial Analysis. *Problems of Biological Medical and Pharmaceutical Chemistry*, 2010; 5: 6-10 (in Russian).
8. Arzamascev A.P., Dorofeev V.L., Sadchikova N.P. Draft of General Recommendations on the Development, Manufacturing and Distribution of Official Reference Standards of medicinal products. *Vedomosti NTS ESMP*, 2000; 3(4): 29-34 (in Russian).
9. Orlov F.S. Analysis and Standardization of a Pharmaceutical Form With Modified Release of the New Original Russian Drug Dilept. Pharm.D. dissertation. Moscow, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, 2015; 125 (in Russian).

© М.М. Зиямухамедова, З.А. Назарова, 2016  
УДК 615.322:582.998.2]:615.451.3:615.211].074

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЛИДОКАИНА ГИДРОХЛОРИДА И МЕНТОЛА В СОСТАВЕ ГЕЛЯ ХАНДЕЛИИ

М.М. Зиямухамедова\*, канд. фарм. наук, З.А. Назарова, докт. фарм. наук, профессор

Ташкентский фармацевтический институт;

Узбекистан, 100015, Ташкент, ул. Айбека, д. 45

\*E-mail: rano.1988@bk.ru

Разработаны методики количественного определения содержания лидокаина гидрохлорида и ментола в составе геля ханделии с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии – для определения лидокаина и хроматомасс-спектрофотометрического метода – для определения ментола.

**Ключевые слова:** ханделия волосистая, *Handelia trichophylla* (Scribn) Neitner, жидкий экстракт, гель, лидокаина гидрохлорид, ментол, ВЭЖХ, хроматомасс-спектрофотометрия.

На сегодняшний день предлагается широкий выбор лекарственных средств (ЛС) и мето-

дов лечения пародонтита. Однако с нарастающим потоком фармакологических препаратов возрастает и число случаев побочных эффектов, проявляющихся в аллергических реакциях, явлениях дисбактериоза, подавлении иммунной системы организма и др. Большинство препаратов, используемых стоматологами при лечении пародонтита, импортируются по высоким ценам, что ограничивает их доступность. Недостатки традиционных ЛС обуславливают необходимость поиска новых, эффективных импортозаменяющих препаратов, в частности препаратов из лекарственных растений.