

# ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВАЛИДАЦИОННЫХ ХАРАКТЕРИСТИК РАМАНОВСКИХ СПЕКТРОВ И ИНТЕГРАЛЬНОЙ ИНТЕНСИВНОСТИ УФ-СПЕКТРОВ МОДЕЛЬНЫХ СМЕСЕЙ, СОДЕРЖАЩИХ ПАРАЦЕТАМОЛ

**В.В. Тихонова**

аспирант,  
ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации (Санкт-Петербург, Россия)  
E-mail: viktoriya.tihonova@spcru.ru

**М.А. Денисов**

зам. начальника физико-химической лаборатории,  
АО «Фармасинтез-Норд» (Санкт-Петербург, Россия)

**А.С. Саушкина**

к. фарм. н., доцент,  
ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации (Санкт-Петербург, Россия)

Применение УФ-спектроскопии в фармацевтическом анализе для определения доброкачественности фармацевтических субстанций и готовых лекарственных препаратов позволяет анализировать малые количества лекарственных средств, а также выполнять анализ автоматически и в короткие сроки. Рамановская спектроскопия не уступает по своим возможностям УФ-спектроскопии и характеризуется как экспрессный и неразрушающий метод.

**Цель исследования.** Изучение возможности использования суммарных спектров для разработки экспрессного и экономичного способа оценки доброкачественности изготовленных промышленным способом лекарственных средств сложного состава с помощью рамановских спектров и интегральной интенсивности.

**Материал и методы.** Объектом исследования служили субстанции парацетамола «Хэбэй Цзихэн» с. 1606107, «Дару Пхаш» с. 309547, «Аньцю Луань» с. 1730144, «Чжецзян Канглайт» с. 7602925; таблетки «Солпадеин фаст» растворимые, «Солпадеин фаст», покрытые плёночной оболочкой, «Мигренол», «Мигрениум»; модельные смеси, воспроизводящие состав исследуемых таблеток, и содержащие 80–120% действующих веществ от номинального количества. Для исследования использовано аттестованное и поверенное оборудование, валидационная оценка проведена согласно рекомендациям Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV изд.

**Результаты.** На примере субстанций парацетамола разных производителей показана устойчивость и воспроизводимость рамановских спектров, установлено отсутствие влияния длительности анализа на положение характеристических сигналов спектра комбинационного рассеяния. На модельных двухкомпонентных лекарственных смесях и некоторых серийно выпускаемых таблетках, содержащих парацетамол, изучена возможность оценки доброкачественности фармацевтических субстанций по величине интегральной интенсивности суммарного УФ-спектра поглощения.

**Выводы.** Валидационная оценка показала, что рамановские спектры и интегральная интенсивность суммарных УФ-спектров являются устойчивыми, воспроизводимыми и стабильными показателями, которые могут использоваться в качестве дополнительной характеристики для альтернативной экспрессной оценки доброкачественности фармацевтических субстанций и двухкомпонентных готовых лекарственных форм, а также поэтапного контроля этапов фармацевтического производства.

**Ключевые слова:** Рамановская спектроскопия, ультрафиолетовая спектроскопия, суммарный ультрафиолетовый спектр, парацетамол, интегральная интенсивность, валидационные характеристики.

**Для цитирования:** Тихонова В.В., Денисов М.А., Саушкина А.С. Определение валидационных характеристик рамановских спектров и интегральной интенсивности УФ-спектров модельных смесей, содержащих парацетамол. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2021;24(9):30–40. <https://doi.org/10.29296/25877313-2021-09-05>

Ультрафиолетовая (УФ) спектроскопия применяется в фармацевтическом анализе для определения доброкачественности фармацевтических субстанций и готовых лекарственных препаратов как

универсальный и чувствительный метод, позволяющий анализировать малые количества лекарственных средств, в том числе в одной дозе, а также выполнять анализ автоматически и в короткие сроки.

ки. Рамановская спектроскопия, не уступающая по своим возможностям УФ-спектроскопии, характеризуется как экспрессный и неразрушающий метод [1]. Для использования в качестве дополнительного показателя доброкачественности твердых лекарственных форм сложного состава важно оценить валидационные характеристики положения сигналов рамановских спектров и интегральной интенсивности суммарных УФ-спектров.

Цель исследования – изучение возможности использования суммарных спектров для разработки экспрессного и экономичного способа оценки доброкачественности лекарственных средств сложного состава, изготовленных промышленным способом, с помощью рамановских спектров и интегральной интенсивности.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объект исследования – субстанции парацетамола «Хэбэй Цзихэн» с. 1606107, «Дару Пхаш» с. 309547, «Аньцю Луань» с. 1730144, «Чжецзян Канглайт» с. 7602925; таблетки «Солпадеин фаст» растворимые, «Солпадеин фаст», покрытые плёночной оболочкой, «Мигренол», «Мигрениум»;

|                                   |      |      |       |       |       |
|-----------------------------------|------|------|-------|-------|-------|
| Концентрация, % .....             | 80,0 | 90,0 | 100,0 | 110,0 | 120,0 |
| Аликвота раствора, мл .....       | 0,8  | 0,9  | 1,0   | 1,1   | 1,2   |
| Вместимость мерных колб, мл ..... | 100  | 100  | 100   | 100   | 100   |

Суммарные УФ-спектры анализируемых растворов измеряли относительно растворителя в интервале 220–320 нм в кювете с толщиной слоя 1 см. Полученные суммарные УФ-спектры разбивали по оси абсцисс на равные отрезки с шагом деления 5 нм [2, 3]. Рассчитывали интегральную интенсивность по формуле приближённого интегрирования

$$\int_a^b f(x)dx \approx \left\{ \frac{h}{2} [y_0 + 2(y_1 + y_2 + y_3 + \dots + y_{(n-1)}) + y_n] \right\},$$

где  $h$  – шаг деления полосы поглощения (5 нм);  $y_i$  – значения оптической плотности в точках деления полосы поглощения.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для установления возможности использования рамановской спектроскопии в фармакопейном анализе проведена валидационная оценка устойчивости и воспроизводимости спектров комбинационного рассеяния на примере субстанций парацетамола разных производителей [3].

модельные смеси, воспроизводящие состав исследуемых таблеток и содержащие 80–120% действующих веществ от номинального количества.

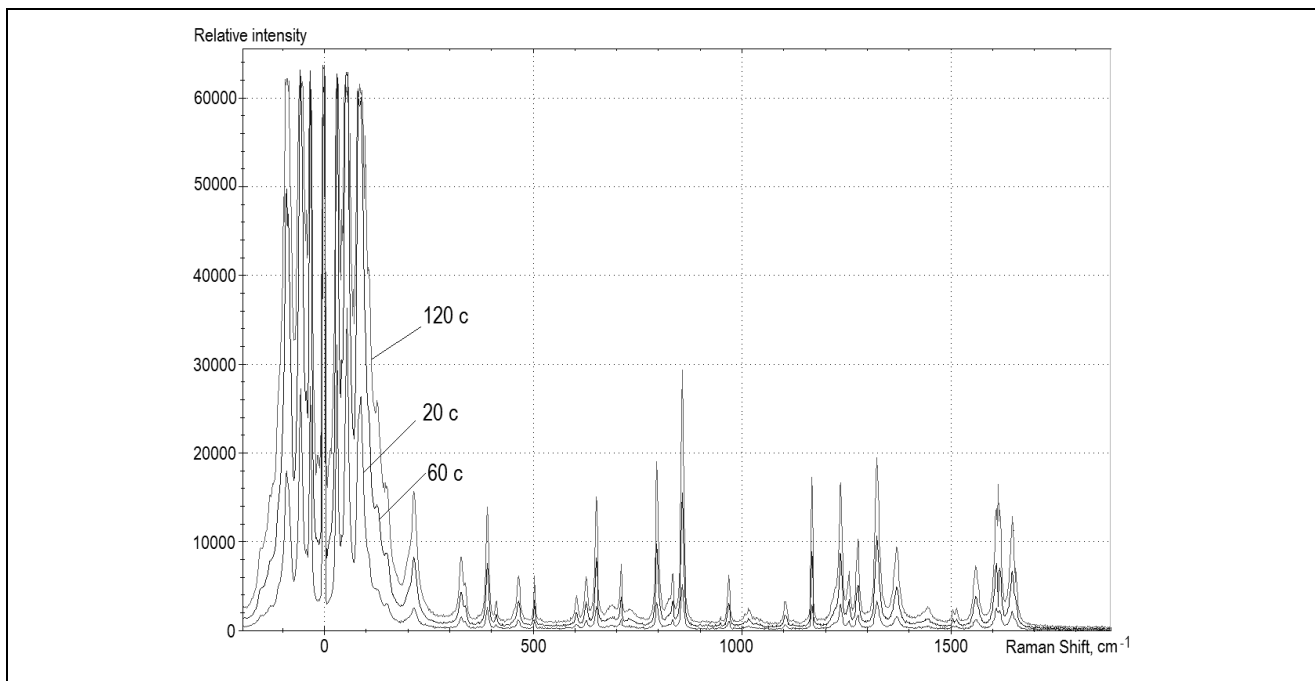
Для исследования использовано аттестованное и поверенное оборудование: весы лабораторные электронные Сартогосм SE224-С и OHAUS Adventure AX 324; Фурье-спектрофотометр инфракрасный Alpha (Bruker); аналитическая система комбинационного рассеяния света OPTEC-785T RS-2700; спектрофотометры СФ-2000 (ООО «ОКБ СПЕКТР») и UV-1800 (Shimadzu). Валидационная оценка проведена согласно рекомендациям Государственной фармакопеи (ГФ) РФ XIV изд. [1].

Для приготовления растворов около 0,0500 г субстанции или модельных смесей (точная навеска) растворяли в 30 мл спирта этилового 95%-ного, доводили им до метки в мерной колбе вместимостью 50 мл, перемешивали (раствор А). Аликвоты растворов А модельных смесей доводили до метки 0,1 М раствором хлористоводородной кислоты в мерной колбе вместимостью 100 мл, перемешивали. Параметры приготовления растворов для валидационной оценки прецизионности (повторяемости и внутрилабораторной сходимости) приведены ниже:

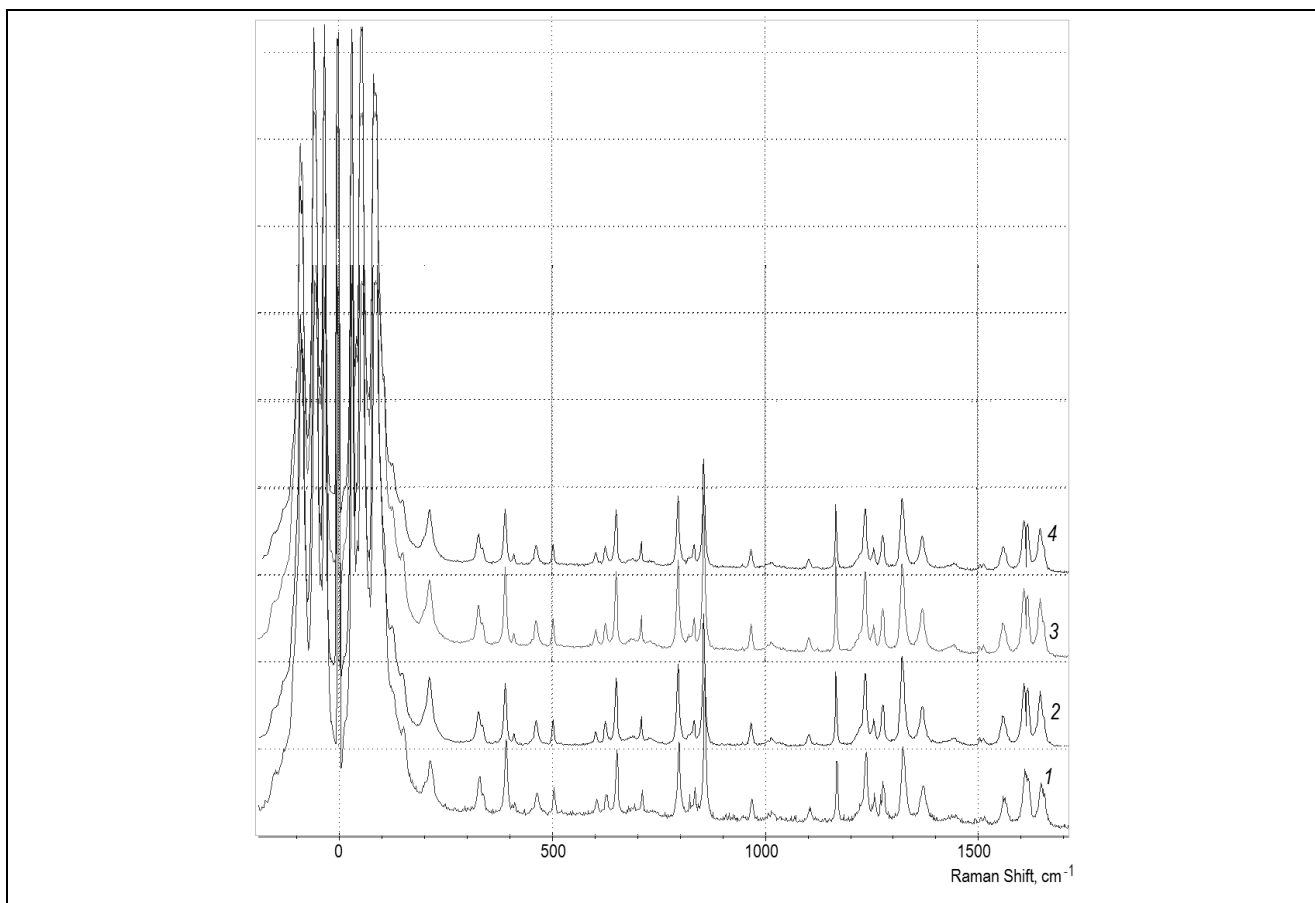
Спектры комбинационного рассеяния каждой субстанции парацетамола записывали при времени воздействия лазерного излучения в течение 20, 60 и 120 с в диапазоне от 5 до 2000 см<sup>-1</sup>. Данная область была выбрана с целью проверки устойчивости получаемых спектральных данных, в том числе в дальней инфракрасной (ИК) области, поскольку в недавних работах спектры комбинационного рассеяния записывали исключительно от 90 см<sup>-1</sup> [9, 10]. Оценивали воспроизводимость положения максимумов пяти аналитических сигналов (85,8±2 см<sup>-1</sup>; 391,3±2 см<sup>-1</sup>; 858,2±2 см<sup>-1</sup>; 1169,3±2 см<sup>-1</sup>; 1655,2±2 см<sup>-1</sup>) рамановских спектров для каждой серии и между сериями при одинаковой продолжительности анализа (табл. 1).

Установлено, что форма спектральных сигналов не изменяется от времени воздействия лазерного излучения (рис. 1) и не зависит от производителя субстанции (рис. 2).

Лучшая воспроизводимость аналитического сигнала наблюдается в среднем спектральном диапазоне при любой продолжительности анализа (табл. 1 и 2).



**Рис. 1.** Спектры комбинационного рассеяния субстанции парацетамола «Дару Пхаш Фармасьютикал М.Ф.Г.» с. 309547 (время воздействия лазерного излучения 20, 60 и 120 с)



**Рис. 2.** Спектры комбинационного рассеяния объектов исследования (время воздействия лазерного излучения 60 с): 1 - «Хэбэй Цзихэн (Груп) Фармасьютикал Ко, Лтд» с. 1606107; 2 - «Аньцю Луань Фармасьютикал Ко, Лтд» с. 1730144; 3 - «Чжецзян Канглайт Фармасьютикал Ко, Лтд» с. 7602925; 4 - «Дару Пхаш Фармасьютикал М.Ф.Г.» с. 309547

**Таблица 1. Воспроизводимость положения максимумов ( $\text{см}^{-1}$ ) интенсивности рамановских спектров субстанций парацетамол разных производителей**

| Производитель   | Время анализа, с |        |        | Статистические параметры |      |        |        |
|---|------------------|--------|--------|--------------------------|------|--------|--------|
|   | 20               | 60     | 120    | $\bar{x}$                | d    | RMD    | RSD, % |
| «Хэбэй Цзихэн (Груп) Фармасьютикал Ко, Лтд»<br>с. 1606107 | 89,7             | 87,7   | 87,7   | 88,4                     | 0,9  | 0,01   | 1      |
|   | 391,3            | 391,3  | 391,3  | 391,3                    | 0    | 0      | 0      |
|   | 858,2            | 858,2  | 858,2  | 858,2                    | 0    | 0      | 0      |
|   | 1169,3           | 1169,3 | 1169,3 | 1169,3                   | 0    | 0      | 0      |
|   | 1655,2           | 1655,2 | 1655,2 | 1655,2                   | 0    | 0      | 0      |
| «Аньцю Луань Фармасьютикал Ко, Лтд»<br>с. 1730144         | 89,7             | 89,7   | 87,7   | 89,0                     | 0,9  | 0,0101 | 1,01   |
|   | 391,3            | 391,3  | 391,3  | 391,3                    | 0    | 0      | 0      |
|   | 858,2            | 858,2  | 858,2  | 858,2                    | 0    | 0      | 0      |
|   | 1167,8           | 1167,8 | 1167,8 | 1167,8                   | 0    | 0      | 0      |
|   | 1648,4           | 1648,4 | 1648,4 | 1648,4                   | 0    | 0      | 0      |
| «Чжецзян Канглайт Фармасьютикал Ко, Лтд»<br>с. 7602925    | 87,7             | 87,7   | 85,8   | 87,1                     | 0,83 | 0,0095 | 0,95   |
|   | 391,3            | 391,3  | 391,3  | 391,3                    | 0    | 0      | 0      |
|   | 858,2            | 858,2  | 858,2  | 858,2                    | 0    | 0      | 0      |
|   | 1167,8           | 1167,8 | 1167,8 | 1167,8                   | 0    | 0      | 0      |
|   | 1648,4           | 1648,4 | 1648,4 | 1648,4                   | 0    | 0      | 0      |
| «Дару Пхаш Фармасьютикал М.Ф.Г.»<br>с. 309547             | 87,7             | 87,7   | 87,7   | 87,7                     | 0    | 0      | 0      |
|   | 391,3            | 391,3  | 391,3  | 391,3                    | 0    | 0      | 0      |
|   | 858,2            | 858,2  | 858,2  | 858,2                    | 0    | 0      | 0      |
|   | 1167,8           | 1167,8 | 1167,8 | 1167,8                   | 0    | 0      | 0      |
|   | 1648,4           | 1648,4 | 1648,4 | 1648,4                   | 0    | 0      | 0      |

**Таблица 2. Воспроизводимость положения максимумов ( $\text{см}^{-1}$ ) интенсивности рамановских спектров субстанции парацетамола в зависимости от длительности анализа ( $n = 3$ )**

| Продолжительность анализа, с | «Хэбэй Цзихэн»<br>с. 1606107 | «Аньцю Луань»<br>с. 1730144 | «Чжецзян Канглайт»<br>с. 7602925 | «Дару Пхаш»<br>с. 309547 | Статистические параметры |       |        |        |
|------------------------------|------------------------------|-----------------------------|----------------------------------|--------------------------|--------------------------|-------|--------|--------|
|                              |                              |                             |                                  |                          | $\bar{x}$                | d     | RMD    | RSD, % |
| 20                           | 89,7                         | 89,7                        | 87,7                             | 87,7                     | 88,7                     | 1     | 0,0113 | 1,13   |
|                              | 391,3                        | 391,3                       | 391,3                            | 391,3                    | 391,3                    | 0     | 0      | 0      |
|                              | 858,2                        | 858,2                       | 858,2                            | 858,2                    | 858,2                    | 0     | 0      | 0      |
|                              | 1169,3                       | 1167,8                      | 1167,8                           | 1167,8                   | 1168,2                   | 0,575 | 0,0005 | 0,05   |
|                              | 1655,2                       | 1648,4                      | 1648,4                           | 1648,4                   | 1650,0                   | 2,5   | 0,0015 | 0,15   |
| 60                           | 87,7                         | 89,7                        | 87,7                             | 87,7                     | 88,2                     | 0,75  | 0,0085 | 0,85   |
|                              | 391,3                        | 391,3                       | 391,3                            | 391,3                    | 391,3                    | 0     | 0      | 0      |
|                              | 858,2                        | 858,2                       | 858,2                            | 858,2                    | 858,2                    | 0     | 0      | 0      |
|                              | 1169,3                       | 1167,8                      | 1167,8                           | 1167,8                   | 1168,2                   | 0,56  | 0,0005 | 0,05   |
|                              | 1655,2                       | 1648,4                      | 1648,4                           | 1648,4                   | 1650,1                   | 2,55  | 0,0015 | 0,15   |
| 120                          | 87,7                         | 87,7                        | 85,8                             | 87,7                     | 87,2                     | 0,73  | 0,0084 | 0,84   |
|                              | 391,3                        | 391,3                       | 391,3                            | 391,3                    | 391,3                    | 0     | 0      | 0      |
|                              | 858,2                        | 858,2                       | 858,2                            | 858,2                    | 858,2                    | 0     | 0      | 0      |
|                              | 1169,3                       | 1167,8                      | 1167,8                           | 1167,8                   | 1168,2                   | 0,58  | 0,0005 | 0,05   |
|                              | 1655,2                       | 1648,4                      | 1648,4                           | 1648,4                   | 1650,1                   | 2,55  | 0,0015 | 0,15   |

В ГФ РФ XIV изд. отсутствует информация о допустимой величине смещения максимумов рамановского спектра, поэтому полученное максимальное смещение в 1,13% можно считать свидетельствующим о хорошей воспроизводимости и вполне допустимым.

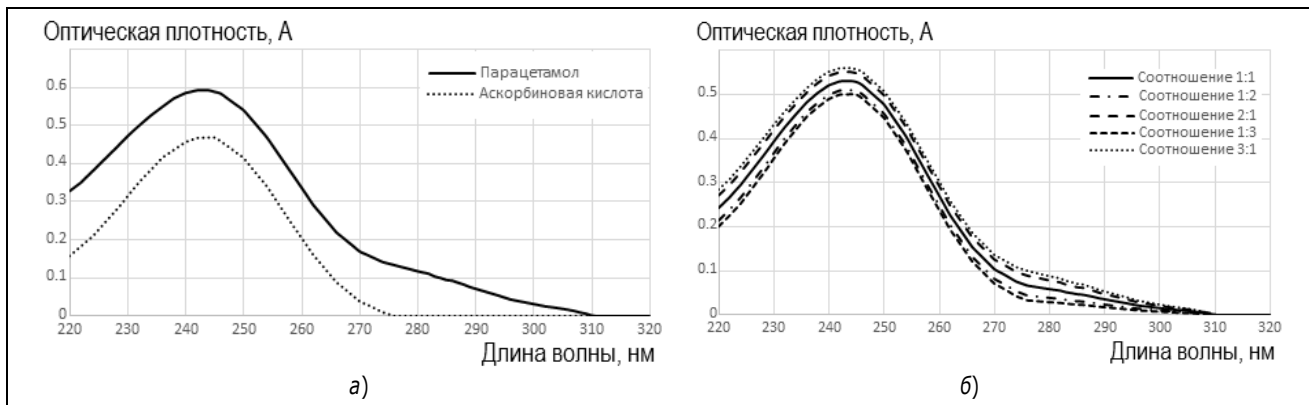
В нормативной документации суммарные спектры поглощения лекарственных препаратов сложного состава используются для идентификации отдельных ингредиентов без отделения сопутствующих веществ, если имеют участки с низким значением коэффициента поглощения сопутствующих ингредиентов или свободные от их поглощения [1–

5]. В то же время возможность идентификации отдельных ингредиентов в лекарственных средствах сложного состава с помощью суммарных УФ-спектров определяется степенью перекрытия их полос поглощения, значением удельного показателя поглощения и массовой долей в препарате.

Изучение УФ-спектров индивидуальных веществ исследуемых смесей и их суммарных спектров показали, что для некоторых смесей разрешение полос поглощения отдельных ингредиентов невозможно (рис. 3 и 4), так как расстояние между ними меньше суммы полуширины полос поглощения каждого ингредиента (табл. 3).

**Таблица 3. Характеристики УФ-спектров поглощения модельных смесей**

| Модельная смесь (1:1)<br>(растворы в 0,1 М хлористоводородной кислоты) | Максимум поглощения, нм | Расстояние между максимумами субстанций, нм | Полуширина полосы поглощения субстанции, нм |
|--|-------------------------|---|---|
| Кофеин<br>Парацетамол  | 272<br>242              | 30  | 30<br>46                                    |
| Кофеин<br>Ацетилсалициловая кислота                                    | 272<br>228, 276         | 44, 4                                       | 30<br>26                                    |
| Парацетамол<br>Аскорбиновая кислота                                    | 242<br>245              | 3   | 46<br>40                                    |
| Парацетамол<br>Ацетилсалициловая кислота                               | 242<br>228, 276         | 14, 34                                      | 46<br>26                                    |



**Рис. 3.** Спектры поглощения в 0,1 М растворе хлористоводородной кислоты: а – 0,001%-ных растворов парацетамола и аскорбиновой кислоты; б – смеси 0,001%-ных растворов парацетамола и аскорбиновой кислоты

Суммарные УФ-спектры модельных смесей парацетамола и аскорбиновой кислоты (рис. 3,б) при исследованных соотношениях по форме практически не отличаются от спектров поглощения каждой субстанции и имеют максимум поглощения при  $243 \pm 2$  нм. Единственный показатель, обусловленный массовой долей ингредиентов, – оптическая плотность. При увеличении массовой доли парацетамола оптическая плотность в макси-

муме поглощения повышается, аскорбиновой кислоты – понижается.

Такое же сходство по форме отражают УФ-спектры ингредиентов и суммарные УФ-спектры смесей парацетамола и ацетилсалициловой кислоты, но максимум в интервале 230–238 нм мигрирует в сторону преобладающего ингредиента (рис. 4,б). Плечо при 270–290 нм практически не смещается. Диапазон 240–280 нм отражает суще-

ственную разницу в оптических плотностях, обусловленную соотношением ингредиентов и величиной удельных показателей поглощения.

В таких случаях повысить надёжность оценки доброкачественности лекарственного препарата сложного состава по суммарному УФ-спектру позволит величина интегральной интенсивности, так как дополнительно отразит его количественные характеристики [2, 6–8].

Методика расчёта интегральной интенсивности суммарных УФ-спектров валидирована на модельной смеси парацетамол–кофеин (0,5 : 0,5) по

показателям: прецизионность, линейность, правильность, устойчивость (табл. 4–6). Критерием специфичности считали сходимость суммарных УФ-спектров растворов смесей стандартного состава и исследуемых образцов.

Правильность значений интегральной интенсивности оценивали методом добавок, внося известное количество стандартного раствора в исследуемый образец (табл. 4). Средняя величина полученного содержания индивидуальных веществ при использовании растворов заданных концентраций должна находиться в пределах  $100 \pm 5\%$ .

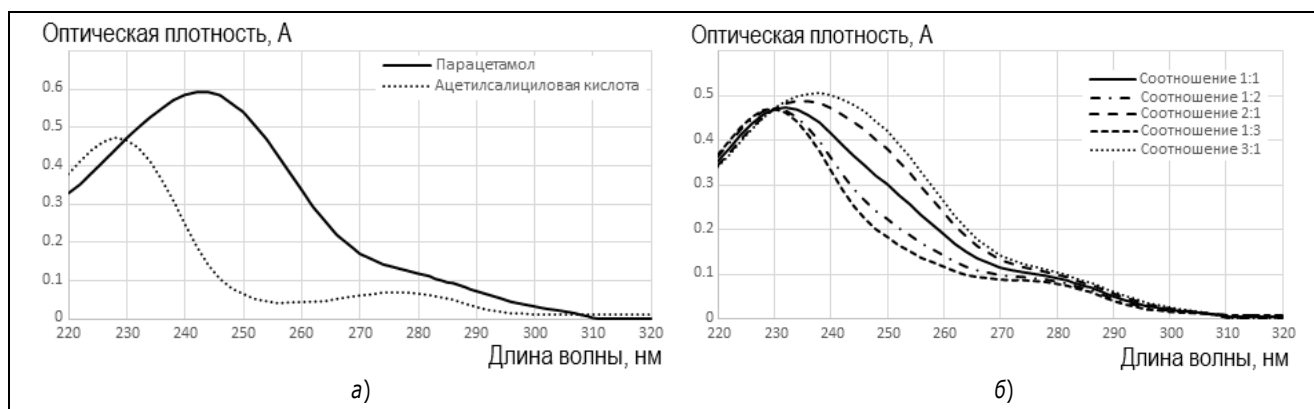


Рис. 4. Спектры поглощения в 0,1 М растворе хлористоводородной кислоты: а – 0,001%-ных растворов парацетамола и ацетилсалициловой кислоты; б – смеси 0,001%-ных растворов парацетамола и ацетилсалициловой кислоты

Таблица 4. Оценка правильности методики количественного определения ( $n = 3$ ;  $P = 95\%$ )

| Показатель                                       | Образец 1                  |               |                   | Образец 2 |           |                 | Образец 3 |       |       |
|--|----------------------------|---------------|-------------------|-----------|-----------|-----------------|-----------|-------|-------|
|  | Интегральная интенсивность | 28,4          | 28,3              | 28,3      | 28,3      | 28,4            | 28,2      | 28,2  | 28,3  |
| Рассчитанное содержание, %                       | 100,4                      | 100,0         | 99,8              | 100,1     | 100,5     | 99,5            | 99,9      | 99,9  | 99,5  |
| Добавлено CO, г                                  | 0,005                      |               |                   | 0,010     |           |                 | 0,015     |       |       |
| Содержание (ожидаемое), %                        | 105,4                      | 105,0         | 104,8             | 110,1     | 110,5     | 109,5           | 114,8     | 114,9 | 114,5 |
| Интегральная интенсивность (после добавления CO) | 29,9                       | 29,7          | 29,8              | 31,1      | 31,2      | 31,3            | 32,4      | 32,7  | 32,6  |
| Содержание (полученное), г                       | 105,7                      | 105,0         | 105,3             | 109,8     | 110,3     | 110,6           | 114,5     | 115,4 | 115,0 |
| Метрологические характеристики                   |                            |               |                   |           |           |                 |           |       |       |
| $\bar{X}$  | $S$                        | $S_{\bar{X}}$ | $S_{\bar{X}}, \%$ | $P, \%$   | $t(P, f)$ | $\Delta\bar{x}$ |           |       |       |
| 100,20   | 0,421                      | 0,140         | 0,420             | 95        | 2,31      | 0,324           |           |       |       |

Вычисленные значения  $S_{\bar{X}}, \%$  менее 2%, что соответствует критерию приемлемости ( $S_{\bar{X}}, \%$  не более 2%) [1]. Прецизионность и внутрилабораторную сходимость значений интегральной интенсив-

ности оценивали в диапазоне применения методики для трех уровней концентраций (80,0–120,0% от номинального содержания действующих веществ в разные дни на разном оборудовании) (табл. 5).

Таблица 5. Прецизионность интегральной интенсивности модельной смеси ( $n = 3$ ;  $P = 95\%$ )

| День 1                         |         |           |         |               |                   | День 2          |                         |            |            |          |         |
|--------------------------------|---------|-----------|---------|---------------|-------------------|-----------------|-------------------------|------------|------------|----------|---------|
| $S_{пл}$                       | $X, \%$ | $S_{пл}$  | $X, \%$ | $S_{пл}$      | $X, \%$           | $S_{пл}$        | $X, \%$                 | $S_{пл}$   | $X, \%$    | $S_{пл}$ | $X, \%$ |
| 22,9                           | 80,8    | 28,4      | 100,4   | 34,1          | 120,5             | 22,8            | 80,6                    | 28,5       | 100,7      | 34,3     | 121,3   |
| 22,7                           | 80,2    | 28,5      | 100,8   | 34,4          | 121,4             | 23,0            | 81,3                    | 28,8       | 101,6      | 34,6     | 122,1   |
| 22,6                           | 80,0    | 28,7      | 101,3   | 34,2          | 120,9             | 22,9            | 80,8                    | 28,6       | 101,2      | 34,4     | 121,6   |
| Метрологические характеристики |         |           |         |               |                   |                 |                         |            |            |          |         |
| Вариант опыта                  |         | $\bar{X}$ | $S$     | $S_{\bar{x}}$ | $S_{\bar{x}}, \%$ | $\Delta\bar{x}$ | $\bar{\varepsilon}, \%$ | $t_{расч}$ | $F_{расч}$ |          |         |
| Концентрация 1                 | День 1  | 80,435    | 0,4166  | 0,2405        | 0,52              | 1,0343          | 1,29                    | 1,74       | 1,65       |          |         |
|                                | День 2  | 80,883    | 0,3239  | 0,1870        | 0,40              | 0,8040          | 0,99                    |            |            |          |         |
| Концентрация 2                 | День 1  | 100,848   | 0,4594  | 0,2652        | 0,46              | 1,1404          | 1,13                    | 0,88       | 0,85       |          |         |
|                                | День 2  | 101,166   | 0,4240  | 0,2448        | 0,42              | 1,0527          | 1,04                    |            |            |          |         |
| Концентрация 3                 | День 1  | 120,919   | 0,4428  | 0,2556        | 0,37              | 1,0992          | 0,91                    | 2,10       | 1,17       |          |         |
|                                | День 2  | 121,649   | 0,4095  | 0,2365        | 0,34              | 1,0167          | 0,84                    |            |            |          |         |

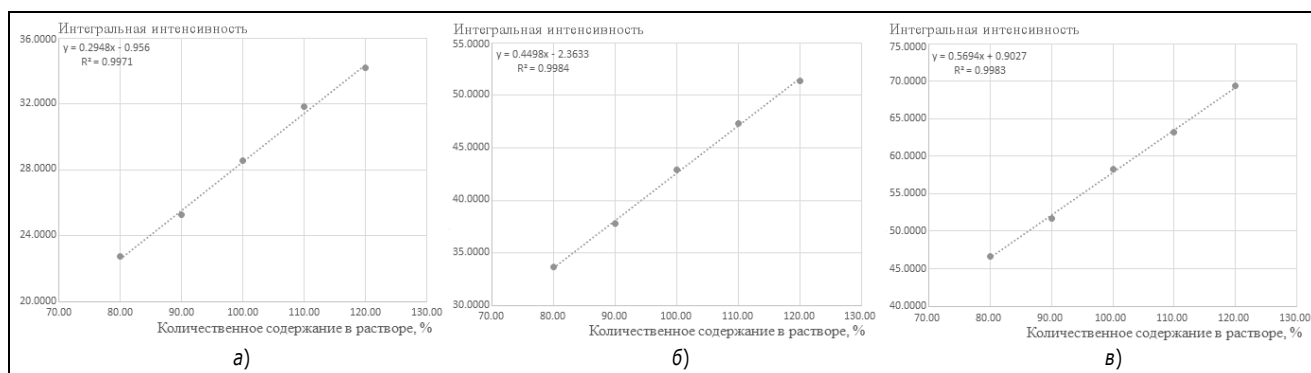


Рис. 5. Зависимость интегральной интенсивности от количественного содержания в растворе модельной смеси парацетамол-кофеин: соотношения 0,5:0,5 (а), 1,0:0,5(б) и 1,5:0,5 (в)

Отклонения средних значений относительных стандартных отклонений интегральных интенсивностей модельных смесей не превышают критериев приемлемости:  $S_{\bar{x}}, \%$  менее 2%; относительный доверительный интервал среднего значения менее 5%. Значения критериев Фишера ( $F_{расч} < F_{табл}$  ( $P = 0,05$ );  $F_{табл} = 9,28$ ) и Стьюдента ( $t_{расч} < t_{табл}$  ( $P = 95\%$ );  $t_{табл} = 4,30$ ) не превышают табличных, что отражает прецизионность методики расчёта интегральной интенсивности для исследуемых модельных смесей (табл. 5) [1].

Графики зависимости интегральной интенсивности от количественного содержания модельных смесей в растворах в исследуемом диапазоне концентраций имеют линейный характер (рис. 5) с коэффициентами корреляции ( $r$ ) выше 0,99 [1].

Установлена устойчивость значений интегральной интенсивности в зависимости от рН среды и температуры (табл. 6). Изменения рН в диапазоне 1,0–1,2 и температуры в пределах 3 °С не влияют на величину интегральной интенсивности исследованных модельных смесей (во всех случаях  $S_{\bar{x}}, \%$  не превышает 2%).

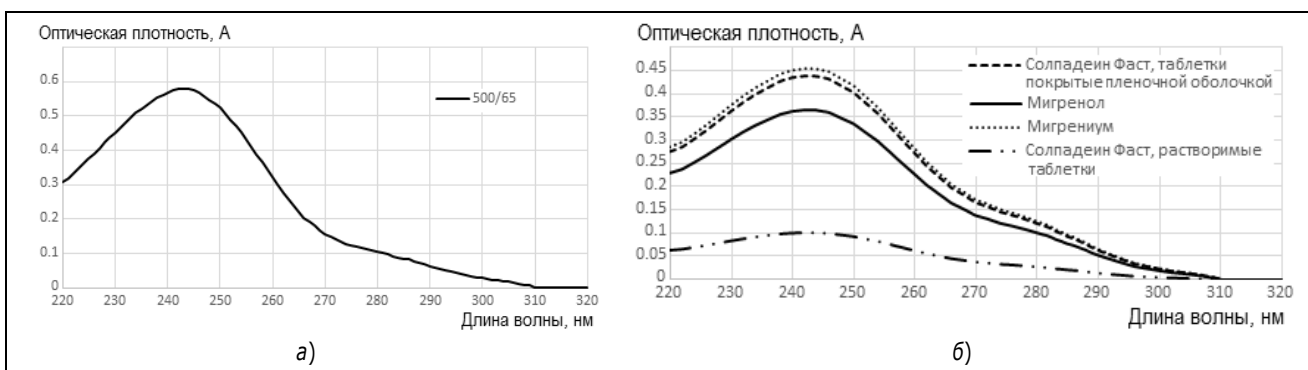


**Таблица 6. Оценка устойчивости значений интегральной интенсивности (парацетамол-кофеин 0,5 : 0,5)**

| Устойчивость к температуре   |         |          |         | Устойчивость к pH |  |          |         |          |         |
|--|---------|----------|---------|-------------------|--|----------|---------|----------|---------|
| 20 °C  |         | 5±3 °C   |         | pH=1,0            |  | pH=1,1   |         | pH=1,2   |         |
| $S_{пл}$   | $X, \%$ | $S_{пл}$ | $X, \%$ | $S_{пл}$          | $X, \%$  | $S_{пл}$ | $X, \%$ | $S_{пл}$ | $X, \%$ |
| 28,4   | 100,4   | 28,6     | 101,1   | 28,6              | 101,1  | 28,4     | 100,4   | 28,4     | 100,4   |
| 28,5   | 100,8   | 28,5     | 100,7   | 28,4              | 100,4  | 28,5     | 100,8   | 28,5     | 100,7   |
| 28,7   | 101,3   | 28,8     | 101,6   | 28,5              | 100,8  | 28,6     | 101,3   | 28,3     | 100,1   |
| Метрологические характеристики   |         |          |         |                   |  |          |         |          |         |
| $\bar{X} = 100,989$ ; $S = 0,4322$ ; $S_{\bar{x}} = 0,1764$ ;<br>$S_{\bar{x}}, \% = 0,43$ ; $\Delta\bar{x} = 0,4535$ ; $\bar{\epsilon}, \% = 0,45$ |         |          |         |                   | $\bar{X} = 100,671$ ; $S = 0,3777$ ; $S_{\bar{x}} = 0,1259$ ;<br>$S_{\bar{x}}, \% = 0,38$ ; $\Delta\bar{x} = 0,2908$ ; $\bar{\epsilon}, \% = 0,29$ |          |         |          |         |

**Таблица 7. Состав исследуемых серийно выпускаемых таблеток**

| Лекарственный препарат                                 | Парацетамол, мг | Кофеин, мг | Средняя масса таблетки, мг |
|--|-----------------|------------|----------------------------|
| Солпадеин фаст, таблетки растворимые                   | 500             | 65         | 3030                       |
| Солпадеин фаст, таблетки, покрытые пленочной оболочкой | 500             | 65         | 695                        |
| Мигренол   | 500             | 65         | 835                        |
| Мигрениум  | 500             | 65         | 675                        |



**Рис. 6.** Спектры поглощения растворов в 0,1 М растворе хлористоводородной кислоты: а - модельной смеси; б - готовых лекарственных средств на основе парацетамола и кофеина

**Таблица 8. Значения интегральных интенсивностей при нижнем и верхнем пределах содержания фармацевтических субстанций в модельных смесях**

| Состав модельной смеси |       | Интегральная интенсивность |            |
|------------------------|-------|----------------------------|------------|
|                        |       | значение                   | % от нормы |
| Кофеин 65 мг           | норма | 29,72±0,2                  | 100,00     |
| Парацетамол 500 мг     | норма |                            |            |
| Кофеин 65 мг           | норма | 28,39±0,2                  | 95,52      |
| Парацетамол 500 мг     | -5%   |                            |            |
| Кофеин 65 мг           | -7,5% | 29,48±0,15                 | 99,19      |
| Парацетамол 500 мг     | норма |                            |            |
| Кофеин 65 мг           | -7,5% | 28,15±0,2                  | 94,72      |
| Парацетамол 500 мг     | -5%   |                            |            |
| Кофеин 65 мг           | +7,5% | 31,28±0,2                  | 105,22     |
| Парацетамол 500 мг     | +5%   |                            |            |
| Кофеин 65 мг           | норма | 31,04±0,2                  | 104,44     |
| Парацетамол 500 мг     | +5%   |                            |            |
| Кофеин 65 мг           | +7,5% | 29,95±0,15                 | 100,77     |
| Парацетамол 500 мг     | норма |                            |            |



**Таблица 9. Результаты анализа двухкомпонентных лекарственных препаратов**

| Препарат<br>(производитель)                | Серия  | Интегральная интенсивность<br>раствора<br>испытуемого образца | Средняя масса<br>таблетки,<br>мг | Допустимые значения<br>интегральной интенсивности<br>при стандартном составе |
|--|--------|---|----------------------------------|--|
| Мигрениум<br>(ОАО «БИОХИМИК»)              | 021017 | 24,31   | 675                              | 23,31–26,93  |
|  | 150218 | 23,72   | 656                              |  |
|  | 210518 | 25,39   | 682                              |  |
| Мигренол®<br>(«Four Ventures Enterprises») | 17C065 | 19,70   | 835                              | 18,32–21,16  |
|  | 35C065 | 19,46   | 868                              |  |
|  | 28C065 | 20,05   | 854                              |  |

Оценка доброкачественности по значению интегральной интенсивности апробирована на некоторых серийных выпускаемых таблетках (табл. 7).

Суммарные УФ-спектры растворов готовых лекарственных средств аналогичного состава разных производителей имеют сходный характер, но разную интенсивность из-за различий в массовой доле действующих веществ в лекарственном препарате (рис. 6,б).

Значения интегральной интенсивности были предварительно рассчитаны на модельных смесях, в которых содержание действующих веществ варьировало в пределах нормы: для парацетамола  $\pm 5\%$ , для кофеина  $\pm 7,5\%$ . При стандартном составе действующих веществ модельных смесей значение интегральной интенсивности должно находиться в интервале от 28,4 до 31,5 (табл. 8).

Серийно выпускаемые таблетки аналогичного состава действующих веществ (табл. 7) отличаются массой таблеток, а, следовательно, и массовой долей ингредиентов в таблетках и интегральной интенсивностью. Допустимые значения интегральной интенсивности при стандартном составе исследуемых серийно выпускаемых таблеток приведены в табл. 9.

Установлено, что интегральная интенсивность суммарных спектров серийно выпускаемых таблеток укладывается в нормативные значения и отражает их доброкачественность по составу ингредиентов (табл. 9).

## ВЫВОДЫ

На примере субстанций парацетамола разных производителей доказана устойчивость и воспроизводимость рамановских спектров, установлено отсутствие влияния длительности анализа на по-

ложение характеристических сигналов спектра комбинационного рассеяния.

Проведенное исследование на модельных двухкомпонентных лекарственных смесях и некоторых серийно выпускаемых таблетках, содержащих парацетамол, показало, что возможно оценивать доброкачественность лекарственных средств по величине интегральной интенсивности суммарного УФ-спектра поглощения.

Валидационная оценка подтвердила, что рамановские спектры и интегральная интенсивность суммарных УФ-спектров являются устойчивыми, воспроизводимыми и стабильными показателями, которые могут использоваться в качестве дополнительной характеристики для альтернативной экспрессной оценки доброкачественности фармацевтических субстанций и двухкомпонентных готовых лекарственных форм, а также постадийного контроля этапов фармацевтического производства.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Государственная Фармакопея Российской Федерации. Изд. 14-е. В 4-х тт. [Электронный ресурс]. Режим доступа URL: [http://resource.gucml.ru/feml/pharmacopia/14\\_1/HTML/8](http://resource.gucml.ru/feml/pharmacopia/14_1/HTML/8). (Дата обращения 17.04.2020).
2. Денисов М.А., Саушкина А.С., Гаврилов Л.А. Интегральная интенсивность УФ-спектра как показатель доброкачественности на примере таблеток ацетилсалициловой кислоты, кофеина, парацетамола. Материалы VII ежегодной межвузов. науч. конф. «Актуальные вопросы развития российской фармации» – Ильинские чтения (4 декабря 2019). Вестник Российской военно-медицинской академии. 2019; 66(2): 34–37.
3. Данилина Н.И., Дубровская Н.С. Вычислительная математика. М.: Высшая школа, 1985; 472 с.
4. Тихонова В.В., Саушкина А.С., Шульц И.С. Разработка методики идентификации состава многокомпонентных твердых лекарственных форм методом спектроскопии комбинационного рассеяния на примере таблеток раство-

- римых «Панадол». Известия Российской Военно-медицинской академии. 2020; 2(S1): 175–181.
5. Тихонова В.В., Саушкина А.С. Возможности внедрения спектроскопии комбинационного рассеяния в контроль качества ЛП. Сборник материалов междунар. науч.-практич. конф. «Современное состояние фармацевтической отрасли: проблемы и перспективы». Ташкент, 20 ноября 2020; 257 с.
  6. Khalid Abdel-Salam Attia, Nasr M. El-Abasawi, Sherif Ramzy. Ratio subtraction, bivariate and area under the curve spectrophotometric methods for determination of atenolol in binary mixture with indapamide. *European Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*. 2015; 6: 176–185.
  7. Patel M., Pala K. Analytical method development and validation of cetirizine hydrochloride and phenylephrine hydrochloride in combined dosage form. *Journal of Pharmaceutical Science and Bioscientific Research*. 2015; 5: 180–186.
  8. Aparna B. Chauhan, Dipti B. Patel. Area under the curve spectrophotometric method for determination of tigecycline in pharmaceutical formulation. *Journal of Pharmaceutical Science and Bioscientific Research*. 2012; 2: 88–91.
  9. Mazurek S., Szostak R. Quantification of active ingredients in pharmaceutical suspensions by FT – Raman. *Vibrational Spectroscopy*. 2017; 93: 57–64.
  10. De Bleye C., Dumont E., Rozet E., et al. Determination of 4-aminophenol in a pharmaceutical formulation using surface enhanced Raman scattering: From development to method validation. *Talanta*. 2013; 116: 899–905.

Поступила после доработки 23 июня 2021 г.

## DETERMINATION OF THE VALIDATION CHARACTERISTICS OF RAMAN SPECTRA AND OF THE INTEGRATED INTENSITY OF UV SPECTRA OF PARACETAMOL CONTAINING MODEL MIXTURES

© Authors, 2021

**V.V. Tihonova**

Post-graduate Student,

Saint-Petersburg State Chemical Pharmaceutical University (Saint-Petersburg, Russia)

E-mail: viktoriya.tihonova@spcpcu.ru

**M.A. Denisov**

Deputy Head of the Quality Control Laboratory JSC «Pharmasyntez-Nord» (Saint-Petersburg, Russia)

**A.S. Saushkina**

Ph.D. (Pharm.), Associate Professor

Saint-Petersburg State Chemical Pharmaceutical University (Saint-Petersburg, Russia)

UV spectroscopy is used in pharmaceutical analysis to determine the quality of pharmaceutical substances and preparations as a versatile and sensitive method that allows to analyze small quantities of drugs, including in a single dose, as well as perform the analysis automatically and in a short time. Raman spectroscopy which is not inferior in its capabilities to UV spectroscopy is characterized as an express and non-destructive method.

**Purpose of the study.** To assess the possibility of using total spectra for the development of an express and economical method for the determination of the quality of industrial drugs of complex composition using Raman spectra and integral intensity.

**Material and methods.** The objects of research were the substances of paracetamol Hebei Jiheng batch № 1606107, Daru Phash batch № 309547, Anqiu Luan batch № 1730144, Zhejiang Kanglite batch № 7602925; Solpadein fast soluble tablets, Solpadein fast film-coated tablets, Migrenol, Migrenium; model mixtures that reproduce the composition of the tablets under study and contain 80–120% of active substances from the nominal amount.

Certified and calibrated equipment was used, the validation assessment was carried out in accordance with the recommendations of Russian Pharmacopoeia (14 edition).

**Results.** By the example of paracetamol substances from different manufacturers, the stability and reproducibility of the Raman spectra was shown, the absence of the influence of the analysis duration on the position of the characteristic signals of the Raman spectrum was established.

On the model two-component mixtures and some commercially available tablets containing paracetamol the possibility of assessing the quality by means of the integral intensity of the total UV absorption spectrum was studied.

**Conclusions.** The validation assessment showed that the Raman spectra and the integrated intensity of the total UV spectra are stable and reproducible indicators that can be used as an additional characteristic for an alternative rapid assessment of the quality of pharmaceutical substances and two-component preparations. They may be recommended as methods for the implementation of step-wise control of pharmaceutical production.

**Key words:** Raman spectroscopy, ultraviolet spectroscopy, integrated intensity value, total UV-spectrum, paracetamol, validation characteristics.

**For citation:** Tihonova V.V., Denisov M.A., Saushkina A.S. Determination of the validation characteristics of Raman spectra and of the integrated intensity of UV spectra of paracetamol containing model mixtures. Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry. 2021;24(9):30-40. <https://doi.org/10.29296/25877313-2021-09-05>

## REFERENCES

1. Gosudarstvennaja Farmakopeja Rossijskoj Federacii. Izd. 14-e. V 4-h tt. [Elektronnyj resurs]. Rezhim dostupa URL: [http://resource.rucml.ru/feml/pharmacopia/14\\_1/HTML/8](http://resource.rucml.ru/feml/pharmacopia/14_1/HTML/8). (Data obrashhenija 17.04.2020).
2. Denisov M.A., Saushkina A.S., Gavrilov L.A. Integral'naja intensivnost' UF-spektra kak pokazatel' dobrokachestvennosti na primere tabletok acetilsalicilovoj kisloty, kofeina, paracetamola. Materialy VII ezhegodnoj mezhvuzov. nauch. konf. «Aktual'nye voprosy razvitiya rossijskoj farmacii» – il'inskie chtenija (4 dekabrja 2019). Vestnik Rossijskoj voenno-meditsinskoj akademii. 2019; 66(2): 34-37.
3. Danilina N.I., Dubrovskaja N.S. Vychislitel'naja matematika. M.: Vysshaja shkola, 1985; 472 s.
4. Tihonova V.V., Saushkina A.S., Shul'c I.S. Razrabotka metodiki identifikacija sostava mnogokomponentnyh tverdyh lekarstvennyh form metodom spektroskopii kombinacionnogo rassejanija na primere tabletok rastvorimyh «Panadol». Izvestija Rossijskoj Voenno-meditsinskoj akademii. 2020; 2(S1): 175-181.
5. Tihonova V.V., Saushkina A.S. Vozmozhnosti vnedrenija spektroskopii kombinacionnogo rassejanija v kontrol' kachestva LP. Sbornik materialov mezhdunar. nauch.-praktich. konf. «Sovremennoe sostojanie farmacevticheskoj otrasli: problemy i perspektivy». Tashkent, 20 nojabrja 2020; 257 s.
6. Khalid Abdel-Salam Attia, Nasr M. El-Abasawi, SherifRamzy. Ratio subtraction, bivariate and area under the curve spectrophotometric methods for determination of atenolol in binary mixture with indapamide. European Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences. 2015; 6: 176-185.
7. Patel M., Pala K. Analytical method development and validation of cetirizine hydrochloride and phenylephrine hydrochloride in combined dosage form. Journal of Pharmaceutical Science and Bioscientific Research. 2015; 5: 180-186.
8. Aparna B. Chauhan, Dipti B. Patel. Area under the curve spectrophotometric method for determination of tigecycline in pharmaceutical formulation. Journal of Pharmaceutical Science and Bioscientific Research. 2012; 2: 88-91.
9. Mazurek S., Szostak R. Quantification of active ingredients in pharmaceutical suspensions by FT – Raman. Vibrational Spectroscopy. 2017; 93: 57-64.
10. De Bleye C., Dumont E., Rozet E., et al. Determination of 4-aminophenol in a pharmaceutical formulation using surface enhanced Raman scattering: From development to method validation. Talanta. 2013; 116: 899-905.



## Лекарственные препараты, разработанные ВИЛАР

**Камадол** (масляный экстракт) (рег. № 96/432/13) – противовоспалительное средство, получаемое из травы ромашки аптечной (ромашки ободранной) *Chamomilla recutita* (L.) Rauschert (*Matricaria recutita* L., *M. chamomilla* L.) и травы ноготков лекарственных (календулы лекарственной) – *Calendula officinalis* L., экстракцией маслом из плодов расторопши пятнистой – *Silybum marianum* (L.) Gaertn.

**Леспефлан** (экстракт жидкий очищенный) (рег. №№ 001423/01; 000571; 001865/01) – гипозотемическое, диуретическое и противовоспалительное средство в комплексном лечении хронической почечной недостаточности различного генеза, получаемое из побегов леспедецы двуцветной (*Lespedeza bicolor* Turcz.).

**Хелепин** (таблетки, мазь) рег. №№ 87/1186/10; 87/1186/7 – противовирусное средство при заболеваниях, вызываемых ДНК-геномными вирусами группы герпеса, получаемое из травы дикорастущего растения леспедецы копеечниковой (*Lespedeza hedysaroides* (Pall.) Kitag.).

**Хелепин Д** (таблетки, мазь, глазные капли), рег. №№ 94/108/6; 94/108/7; 99/47/11 – противовирусное средство, получаемое из травы культивируемого растения десмодиума канадского (*Desmodium canadense* D.C.).

Тел. контакта: 8(495)388-55-09; 8(495)388-61-09; 8(495)712-10-45

Факс: 8(495)712-09-18;

e-mail: vilarnii.ru; www.vilarnii.ru