



научный центр
экспертизы средств
медицинского применения

НИР: «Разработка методологии применения спектральных методов анализа при экспертизе качества лекарственных средств»

Этап № 1 «Научно-информационный анализ перспектив применения современных инструментальных спектральных методов для оценки качества лекарственных средств»

**Рабочая программа п.5: «Формирование «Атласа спектров ЯМР лекарственных субстанций» и разработка на его основе методик подтверждения подлинности ЛС из «Перечня ЖНВЛП» без использования ФСО»
(3 квартал 2021 г.)**

Ответственный исполнитель НИР
Моисеев Сергей Владимирович,
главный эксперт лаборатории СМА,
к.х.н., доцент



Актуальность исследования

Важным этапом контроля качества фармацевтических субстанций является подтверждение подлинности действующего вещества. На практике эта процедура осуществляется, как правило, путем сравнения испытуемого образца субстанции с фармакопейным стандартным образцом (далее – ФСО). Следует отметить, что в настоящее время отечественные ФСО практически не производятся, а зарубежные стандартные образцы имеют высокую стоимость.

В связи с этим было **актуально** разрабатывать методики идентификации соединений с использованием прямых методов, не требующие применения каких-либо стандартных образцов (далее – СО). Одним из наиболее эффективных методов определения строения соединения является метод ЯМР спектроскопии, который решает задачу идентификации соединения напрямую, фиксируя наличие определенных структурных фрагментов и их последовательность соединения в молекуле друг с другом.

Следует отметить, что достаточно один раз осуществить подбор оптимальных условий проведения ЯМР эксперимента, для конкретной лекарственной субстанции и провести структурную интерпретацию полученных спектральных данных, чтобы использовать эти данные для подтверждения подлинности действующего вещества различных лекарственных препаратов (далее – ЛП) без ФСО.



Цель и задачи исследования

Цель исследования – разработать методики и получить структурно-интерпретированные ЯМР спектры (^1H , ^{13}C , ^{19}F , ^{31}P) фармацевтических субстанций из «Перечня ЖНВЛП» и внести их в «Атлас спектров ЯМР лекарственных субстанций».

Задачи исследования:

- подобрать оптимальные условия (растворитель, концентрация, температура, параметры настройки прибора) проведения ЯМР эксперимента, обеспечивающие появление разрешенных интенсивных сигналов;
- осуществить структурную интерпретацию одномерных спектральных данных с помощью двумерных экспериментов ЯМР;
- показать возможность использование «Атласа спектров ЯМР лекарственных субстанций» для подтверждения подлинности ЛС из «Перечня ЖНВЛП» при оценке качества ЛП.



Оптимальные условия проведения ЯМР эксперимента

Дейтерированные растворители - ДМСО-d₆; D₂O; CDCl₃; CD₃OD

Концентрации испытуемого вещества в растворе - около 20 мг/мл

Температура проведения ЯМР эксперимента - 25 ÷ 27 °С
при отсутствии динамических эффектов

Количество накоплений сигналов спада свободной индукции ЯМР-спектров:

-для ¹H – не менее 8;

-для ¹³C – 10000 или 16000

Калибровка шкалы химических сдвигов под сигнал остаточного недеийтерированного растворителя



Алгоритм структурной интерпретации ЯМР спектральных данных

- Соотнесение сигналов спектров ^1H и ^{13}C с конкретными углеводородными фрагментами (метильными, метиленовыми, метиновыми группами) на основе данных ^1H - ^{13}C gHSQC эксперимента.
- Определение соседних водородсодержащих фрагментов, связанных ковалентной связью, и составление из них последовательности в цикле или алифатической цепочке на основе данных ^1H - ^1H gCOSY и ^1H - ^1H TOCSY.
- Установление последовательности соединения водородсодержащих и безводородных структурных фрагментов на основе данных ^1H - ^{13}C gHMBC эксперимента.
- Сведение результата расшифровки одномерных спектров с помощью двумерных в таблицы структурного соответствия спектральных данных для каждой субстанции, внесенной в Атлас.

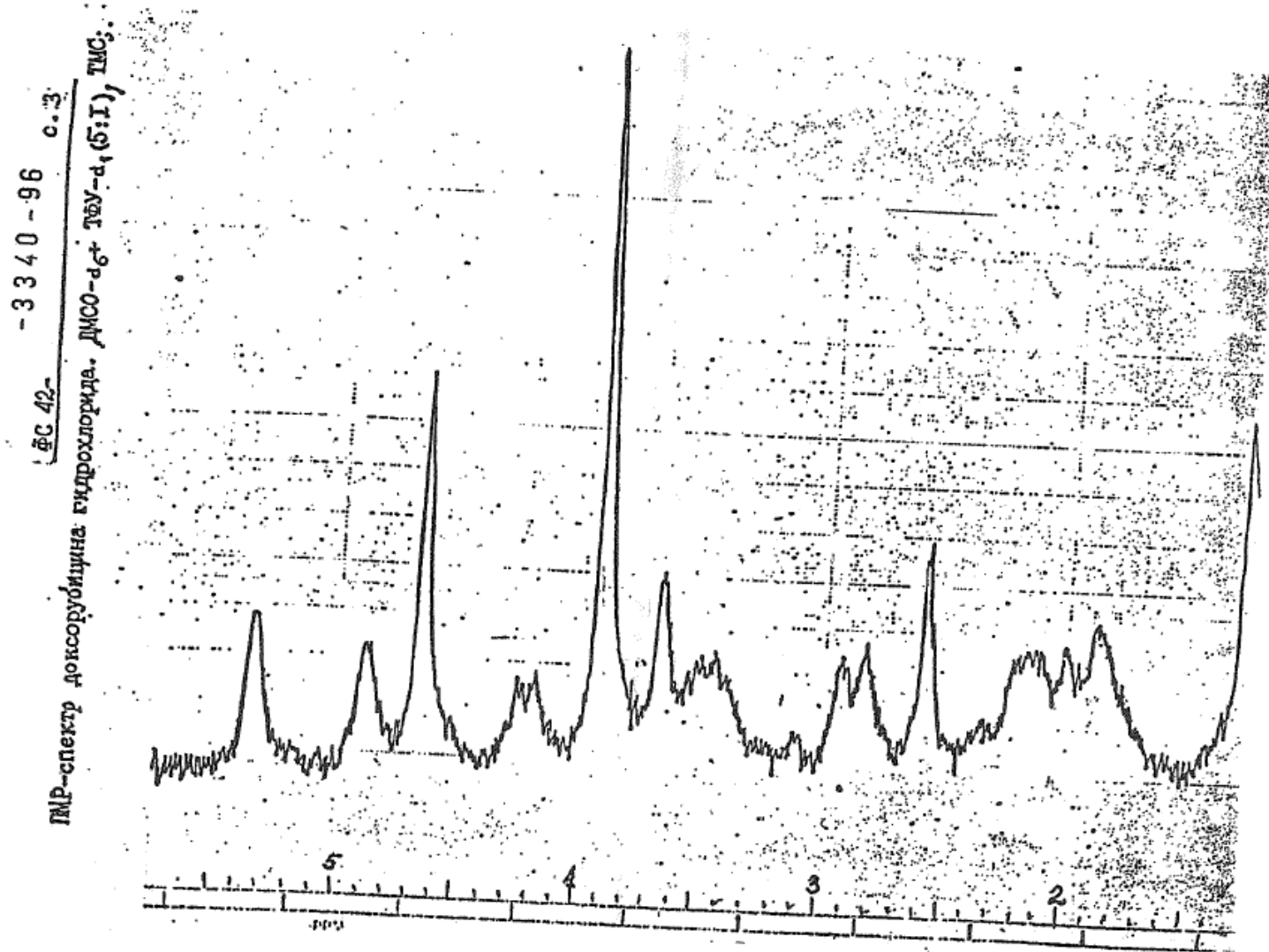


Фармакологические группы объектов исследования

- глюкокортикостероиды, противовирусные и противовоспалительные средства, α - и β -адреноблокаторы, гипоглемические средства, антимаболиты, иммунодепрессанты, различные типы противоопухолевых препаратов, витамины и витаминоподобные средства, андрогены, антиандрогены, антидепрессанты, пенициллины, блокаторы кальциевых каналов, нейролептики, антикоагулянты, средства для коррекции нарушений при алкоголизме, токсико- и наркомании, местные анестетики, антиаритмические средства, ноотропы, алкилирующие средства, средства, препятствующие образованию и способствующие растворению конкрементов, желчегонные средства и препараты желчи, заменители плазмы и других компонентов крови, средства для энтерального и парентерального питания, статины, другие метаболиты, противоэпилептические средства, аминогликозиды, противодиарейные средства, средства для лечения ВИЧ-инфекции, производные пропионовой кислоты, диуретики, тетрациклины, холинолитики, макролиды и азалиды, противогрибковые средства, амфениколы, слабительные средства, α -адреномиметики, ансамицины, средства, влияющие на обмен мочевой кислоты, другие сердечно-сосудистые средства, другие антибиотики (41 Фармакологическая группа)

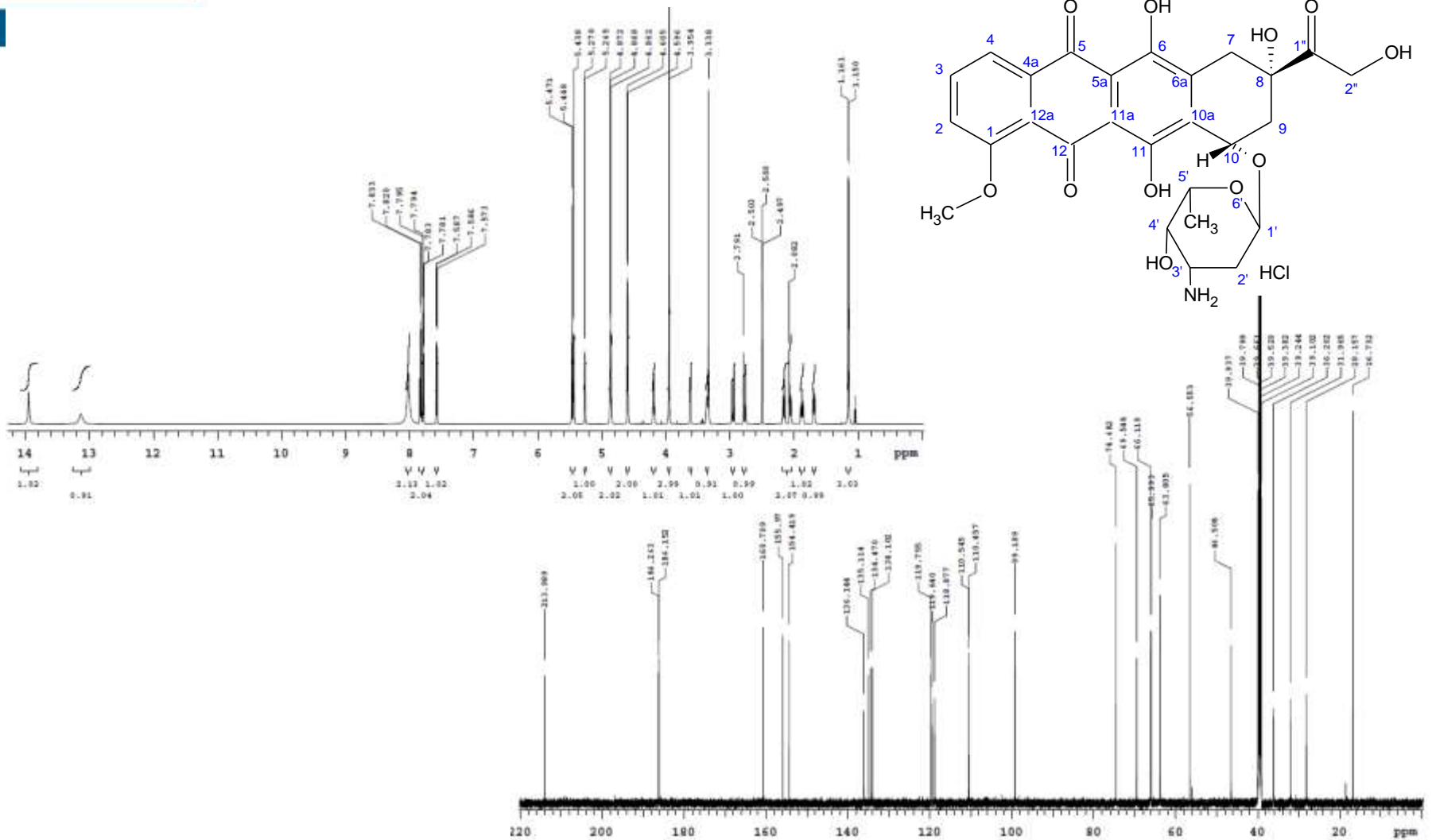


ЯМР – спектр доксорубина гидрохлорида из ФС 42-3340-96





Подтверждение подлинности СО Доксорубицина гидрохлорида





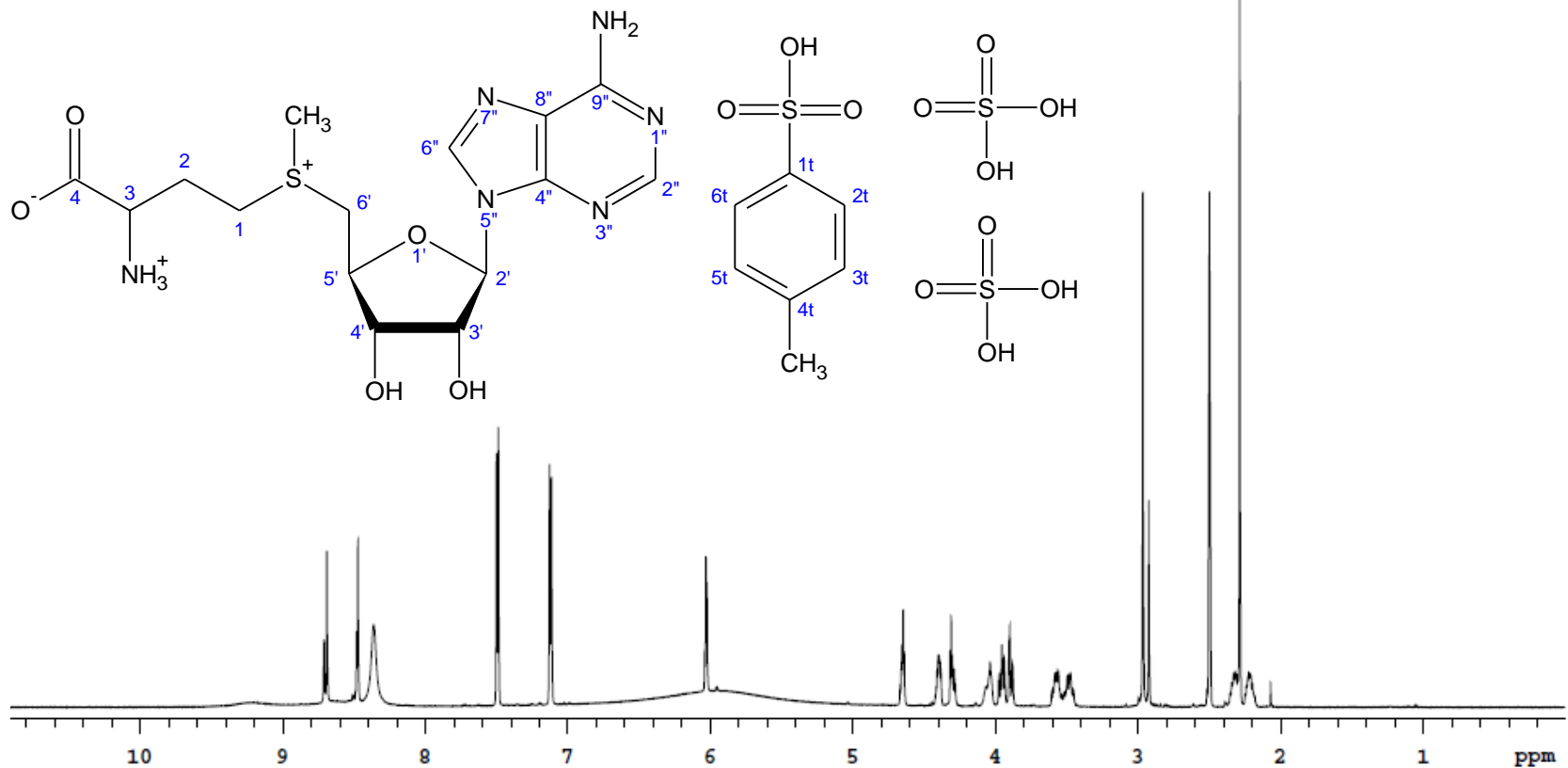
**Спектральные характеристики Доксорубина
гидрохлорида**
(ДМСО-d₆, калибровка под растворитель
($\delta=2,50$ м.д. (^1H) и $39,52$ м.д. (^{13}C)), $c=39,8$ мг/мл, $t=27^0\text{C}$)

№ атома	Химический сдвиг		№ атома	Химический сдвиг	
	^1H	^{13}C		^1H	^{13}C
1		160,71	12a		119,75
2	7,79 дд (J=7,6; 1,1)	119,64	1'	5,27 уш.д (J=3,2)	99,19
3	7,83 дд (J=8,6; 7,6)	136,14	2'	1,69 дд (J=12,5; 4,1) 1,88 ддд (J=12,5; 12,5; 3,5)	28,16
4	7,58 дд (J=8,6; 1,1)	118,88	3'	3,36 м	46,51
4a		134,10	4'	3,62 уш.д (J=6,0)	65,99
5		186,15	5'	4,19 уш.к (J=6,6)	66,12
5a		110,46	1"		213,99
6		155,98	2"	4,60 д (J=5,7)	63,80
6a		134,47	1- <u>OCH₃</u>	3,95 с	56,55
7	2,78 д (J=18,3) 2,96 д (J=18,3)	31,97	6- <u>OH</u>	13,95 уш.с	
8		74,68	8- <u>OH</u>	5,47 с	
9	2,06 дд (J=14,3; 5,3) 2,16 уш.д (J=14,3)	36,20	11- <u>OH</u>	13,13 уш.с	
10	4,86 дд (J=5,3; 2,6)	69,55	3'- <u>NH₂</u>	8,02 уш.с	
10a		135,11	4'- <u>OH</u>	5,44 д (J=6,0)	
11		154,42	5'- <u>CH₃</u>	1,16 д (J=6,6)	16,73
11a		110,54	2''- <u>OH</u>	4,87 т (J=5,7)	
12		186,26			



Подлинность адеметионина тозилата

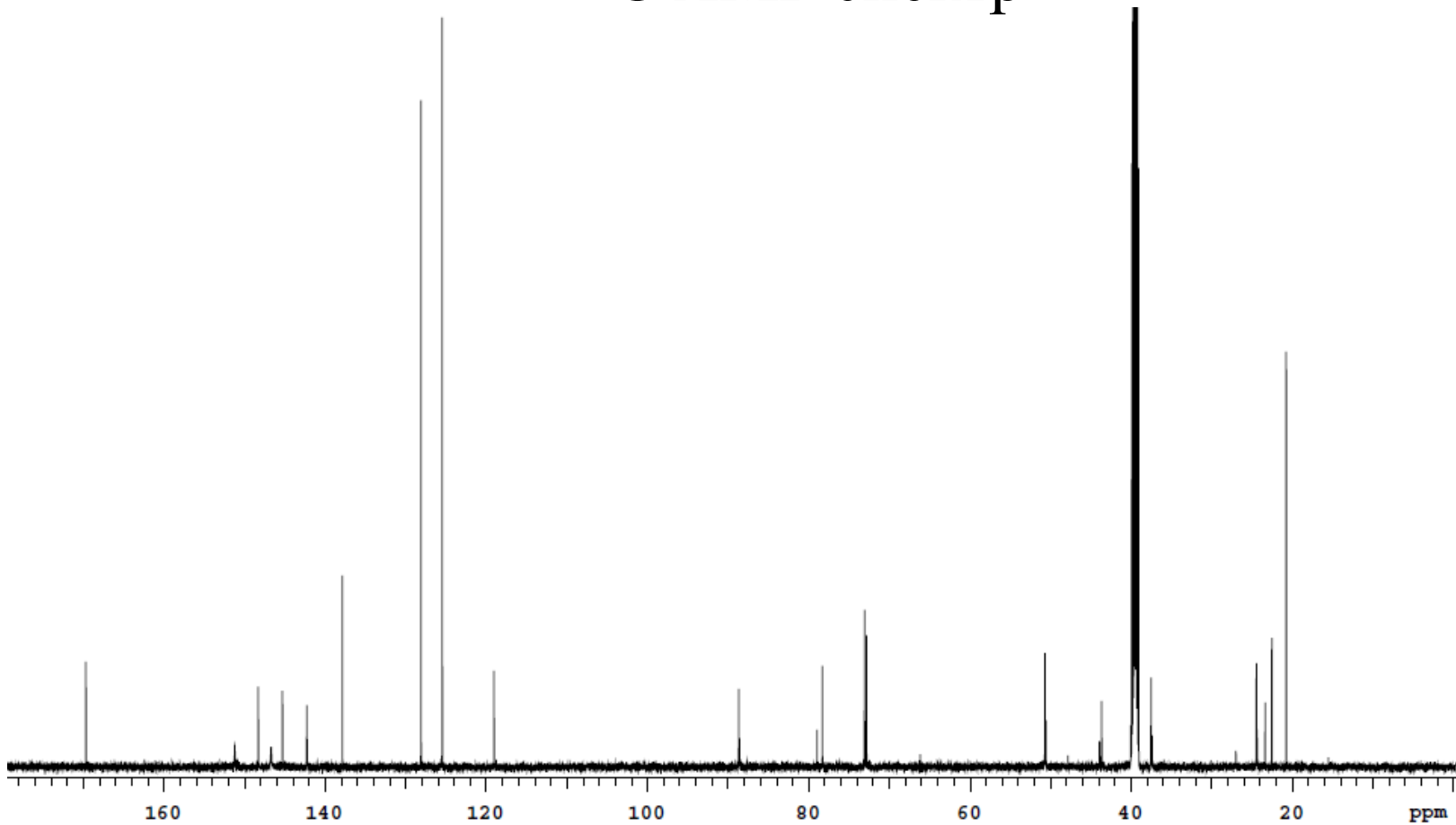
^1H ЯМР спектр





Подлинность адеметионина тозилата

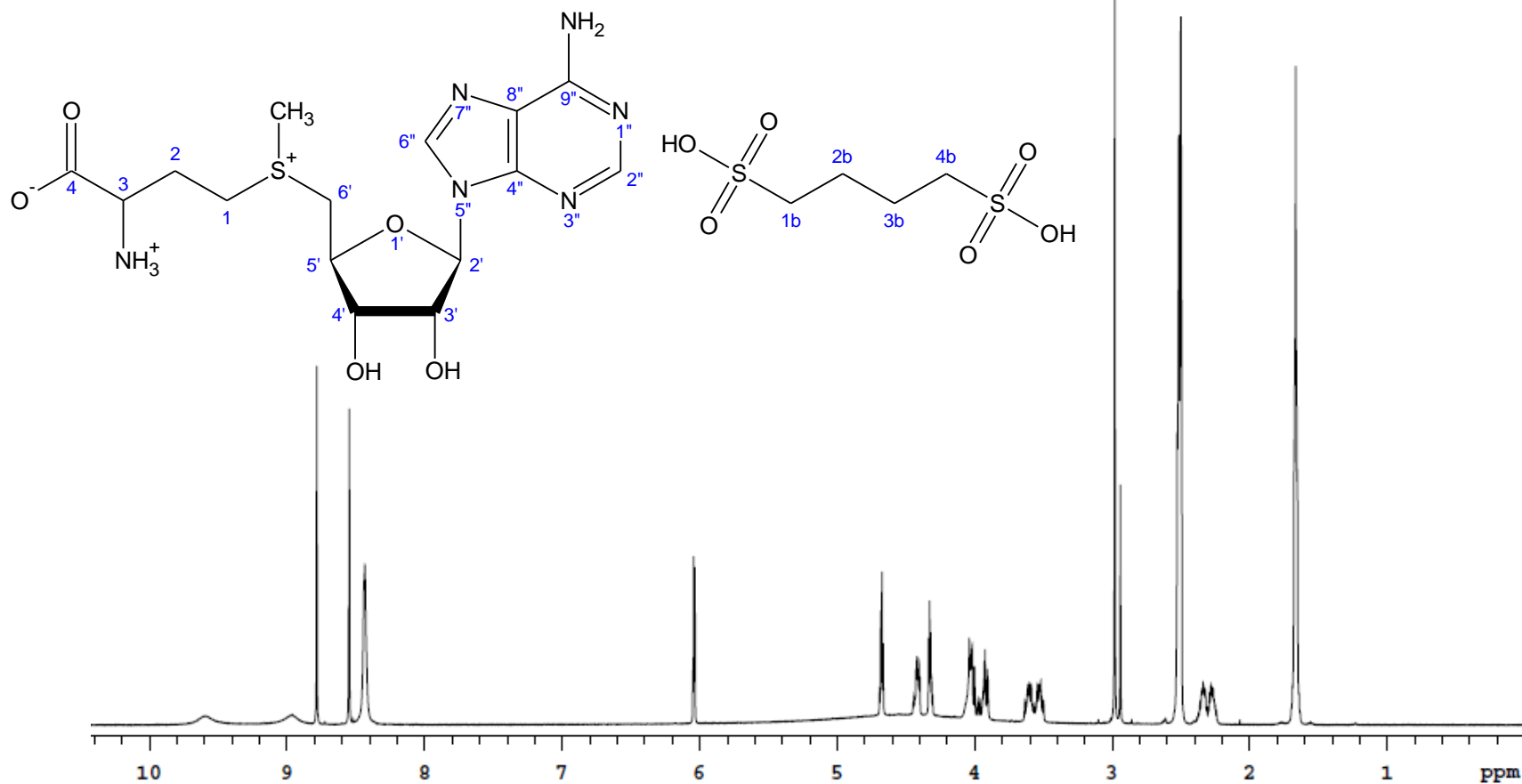
^{13}C ЯМР спектр





Подлинность адеметионин 1,4-бутандисульфоната

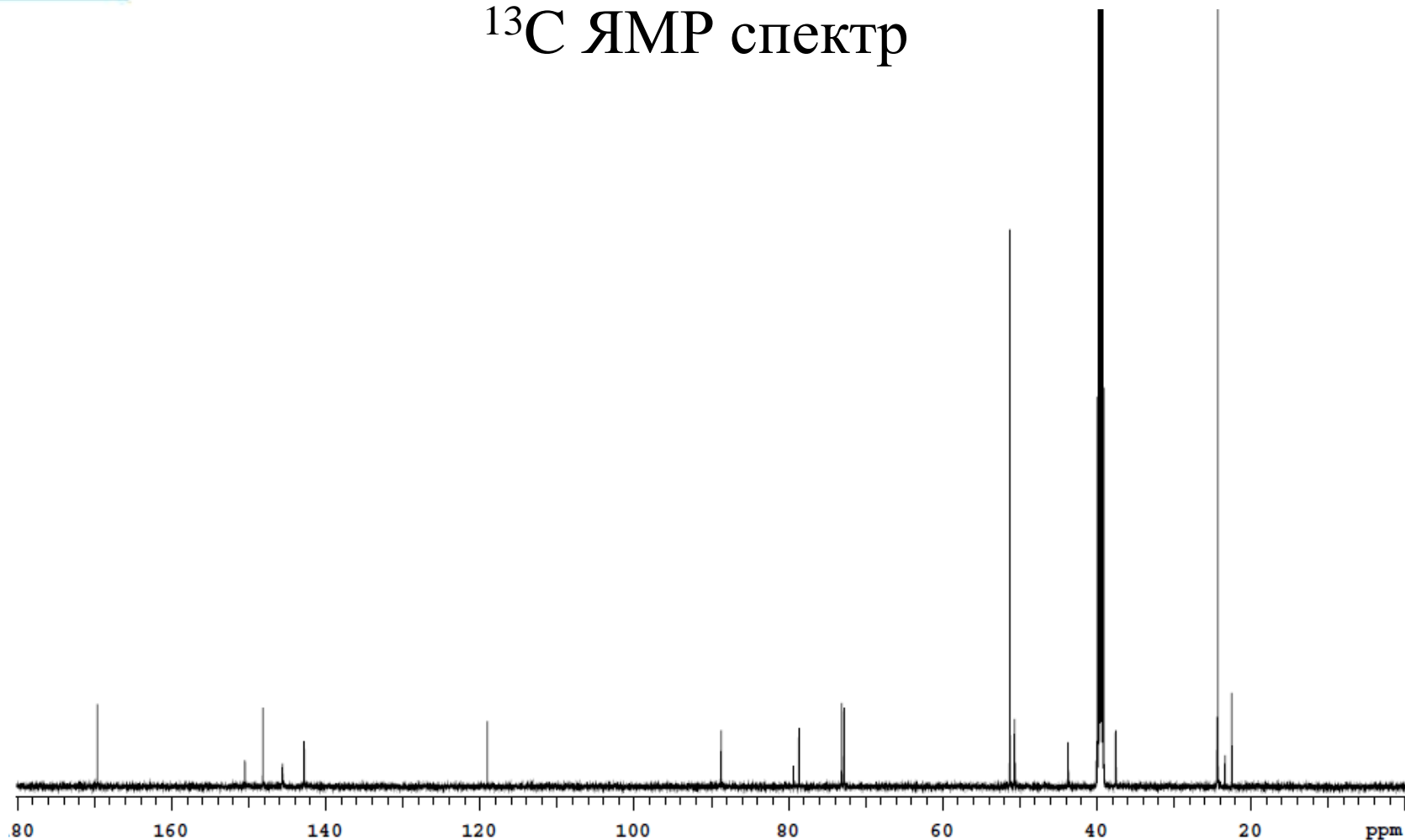
^1H ЯМР спектр





Подлинность адеметионин 1,4-бутандисульфоната

^{13}C ЯМР спектр





Выводы

- Подобраны оптимальные условия проведения ЯМР эксперимента, обеспечивающие появление разрешенных интенсивных сигналов.
- Осуществлена структурная интерпретация одномерных спектральных данных с помощью двумерных экспериментов ЯМР для 62 ЛС.
- Показана возможность использование «Атласа спектров ЯМР лекарственных субстанций» для подтверждения подлинности ЛС из «Перечня ЖНВЛП» при оценке качества ЛП и аттестации стандартных образцов.

Спасибо за внимание!



научный центр
экспертизы средств
медицинского применения