



Методы контроля подлинности фармацевтических препаратов



Команда №8
Сенина Алина
Парфенова Сюзанна
Хабибуллин Роман

Санкт-Петербургский государственный университет
www.spbu.ru

Введение

Последствия фармацевтических препаратов низкого качества:

- Увеличение расходов на здравоохранение
- Повышение смертности населения
- Утрата доверия потребителей

Основные цели преступной деятельности при фальсификации лекарств

В *развитых* странах – препараты для поддержания определенного стиля жизни

- Гормоны
- Стероиды
- Аноректики
- Препараты для лечения эректильной дисфункции
- Психотропные препараты

В *развивающихся* странах – лекарства, спасающие жизни от смертельных болезней

- Антибиотики
- Противомаларийные препараты
- Противотуберкулезные препараты
- Антиретровирусные препараты

2 P. Bottoni et al./ Microchemical Journal, 149 (2019) 104053. IF = 3.206

Фармацевтические препараты низкого качества могут повлечь серьезные последствия для здоровья человека из-за неэффективности лечения и побочных реакций лекарств. Это может значительно подорвать доверие потребителей к системам здравоохранения, привести к увеличению расходов на здравоохранение и повышению смертности. Проблема качества фармацевтических препаратов существует во всем мире. Так в развивающихся странах сообщалось о смертельных случаях из-за использования поддельных лекарств. Например, в 1995 году в Нигерии в результате инъекции поддельной вакцины от менингита умерло около 2500 детей. Более 100 пациентов умерли в Панаме из-за сиропа от кашля, изготовленного с нарушением технологии: глицерин был заменён на токсичный и дешёвый диэтиленгликоль. По информации Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), в Африке более 120 000 человек в год умирают от противомаларийных лекарств ненадлежащего качества.

Проблема фальсификации лекарств стоит особенно остро не только в развивающихся странах, но и в развитых. Основными целями преступной деятельности в промышленно развитых странах являются дорогостоящие лекарственные препараты для поддержания определенного стиля жизни (гормоны, стероиды, аноректики, препараты для лечения эректильной дисфункции и психотропные препараты), в то время как в более бедных странах целью являются лекарства, спасающие жизни (антибиотики, противомаларийные, противотуберкулезные и антиретровирусные препараты).



Декандрол - новое торговое название нандролона деканоата, популярный анаболик в мире

Виды поддельных фармацевтических препаратов

- идеальная имитация оригинального лекарства с теми же активными фармацевтическими ингредиентами (АФИ) в правильной концентрации в той же упаковке;
- упаковка для лекарств такая же, как и для оригинального лекарственного средства, но содержит АФИ в концентрациях, отличных от заявленных;
- лекарство выглядит как оригинальный продукт, но оно совсем не содержит АФИ;
- лекарство содержит ингредиенты, отличные от заявленных;
- упаковка продукта была сфальсифицирована.

Преступления в области фармацевтики действительно имеют много аспектов, а именно:

- подделка может быть идеальной имитацией оригинального лекарства с теми же активными фармацевтическими ингредиентами (АФИ) в правильной концентрации и в той же упаковке;
- упаковка для лекарств такая же, как и для оригинального лекарственного средства, но содержит АФИ в концентрациях, отличных от заявленных;
- лекарство выглядит как оригинальный продукт, но оно совсем не содержит АФИ;
- лекарство содержит ингредиенты, отличные от заявленных;
- упаковка продукта была сфальсифицирована.

Санкт-Петербургский государственный университет
www.spbu.ru

Введение

Технология контроля качества фармацевтических препаратов должна демонстрировать все следующие характеристики:

- а) трудность копирования
- б) широкое применение
- в) возможность быстрой идентификации продукта
- г) дешевизна
- д) не токсичность для потребителя

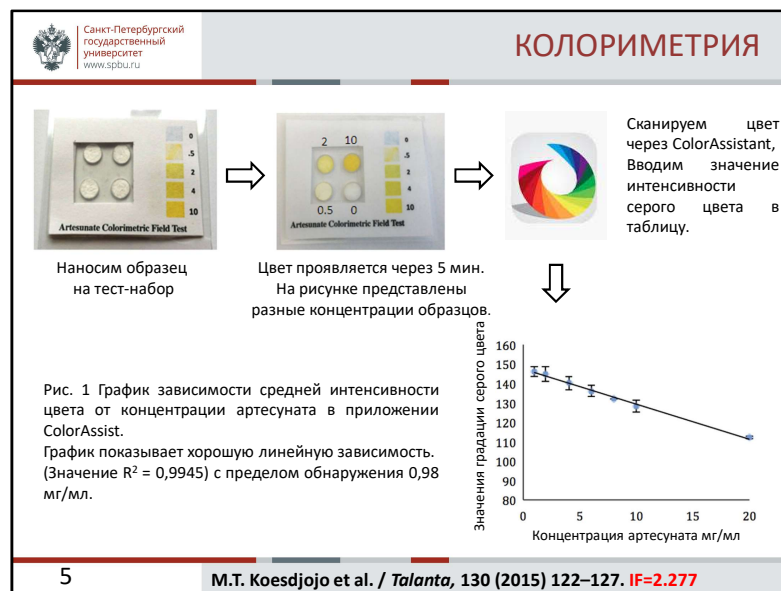
Методы контроля качества фармацевтических препаратов:

- а) Аналитические методы:
 - Хроматография
 - Спектроскопия ЯМР
 - Масс-спектрометрия
- б) Материаловедение:
использование микро- и наноматериалов для защиты таблеток.

4 Н. Zhang et al. / *Advanced Materials*, 32 (2020) 1-13. IF = 25.8

Технология контроля качества фармпрепаратов должна обладать следующими характеристиками: а) трудность копирования, б) широкая применимость в) возможность быстрой идентификации продукта, г) низкая стоимость и д) не токсичность для потребителя.

На данный момент существует большое количество методов контроля качества лекарственных средств. Самыми простыми и быстрыми методами остаются визуальные полуколичественные методы, например, колориметрия. Последние десятилетия набирают популярность аналитические методы, основанные на использовании высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), спектроскопии ЯМР, как самые надежные методы идентификации поддельных лекарств. Также распространены и популярны технологии маркировки лекарств на основе микро- и наноматериалов для таблеток и капсул. При анализе литературы было отмечено, что разработка новых способов контроля качества опираются на методы материаловедения.



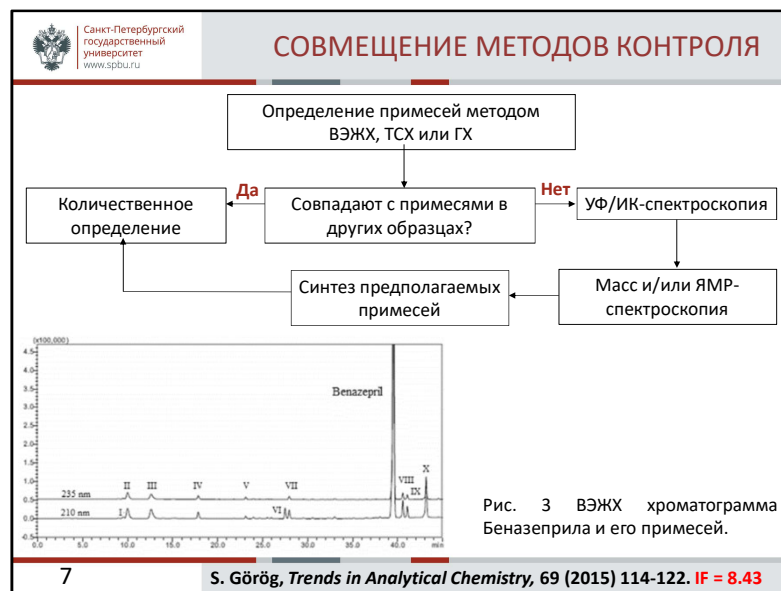
С появлением в Юго-Восточной Азии и странах Африки артезунатной противомаларийной контрафакции был представлен быстрый, недорогой и простой колориметрический набор для выявления подделок. Этот набор работает на основе бумажной микрофлюидики и имеет большой потенциал для создания дешевых, быстрых и одноразовых диагностических устройств. Авторами был разработан тест-набор, представляющий собой колориметрическую тест-полоску, который специфичен для артезуната и набор становится желтым при добавлении образца лекарственного средства. Испытание может быть выполнено в течение нескольких минут и позволяет проводить полуколичественный анализ таблеток артезуната путем сравнения проявленного желтого цвета на бумажном тесте с цветовой кодовой диаграммой, которая входит в комплект. Образец наносили на бумажный чип и оставляли на 5 минут для проявления цвета. Более точный анализ выполняется с помощью цветного анализатора на камере iPhone, который измеряет интенсивность проявленного цвета на бумажном чипе. Анализ изображения проводился путем измерения значения RGB для каждого пятна и преобразования в среднюю интенсивность серого. График зависимости средней интенсивности серого от концентрации субстрата был создан с использованием Excel. Результаты показывают, что интенсивность желтого цвета, проявленного в бумажном тесте, была постоянной и пропорциональной количеству артезуната, присутствующего в образце. При концентрациях артезуната в диапазоне от 0,0 до 20 мг/мл был получен линейный калибровочный график с пределом обнаружения 0,98 мг/мл.



В следующей работе была использована ^1H ЯМР-спектроскопия для анализа составов, содержащих анаболические стероиды. Было изучено несколько типов анаболических стероидов (тестостерон пропионат, метилтестостерон, ацетат метенолон, оксандролон, нандролон деканоат и станозолол) с анализом 16 образцов анаболических препаратов, которые выпускаются в инъекционных, таблетированных и капсульных формах. Спектроскопические измерения спектроскопии ^1H ЯМР выполняли с использованием 600 МГц спектрометра с дейтерированным хлороформом (CDCl_3), содержащим 0,03% ТМС в качестве растворителя. Из 16 проанализированных образцов четыре показали отсутствие активного вещества, указанного на этикетке.

Маркерные сигналы для образцов с тестостерон пропионатом и нандролон деканоатом в спектрах образцов отсутствовали, что явно указывало на фальсификацию. Более подробный анализ этих образцов показал, что они состояли только из эксципиента (арахисового масла), поскольку спектры ^1H ЯМР образцов и эксципиента были идентичными. Результаты показали, что эти составы не содержат анаболических стероидов.

Качественный анализ спектров ЯМР ^1H коммерческих образцов позволил оценить их подлинность, а также предоставил информацию о других компонентах (эксципиентах), присутствующих в составах. Одно измерение спектра ^1H ЯМР может предоставить ценную информацию об активном веществе, добавках и вспомогательных веществах, в дополнение к количественному анализу присутствующих препаратов. Все это в совокупности позволяет эффективно, просто и быстро контролировать качество фармацевтических продуктов.

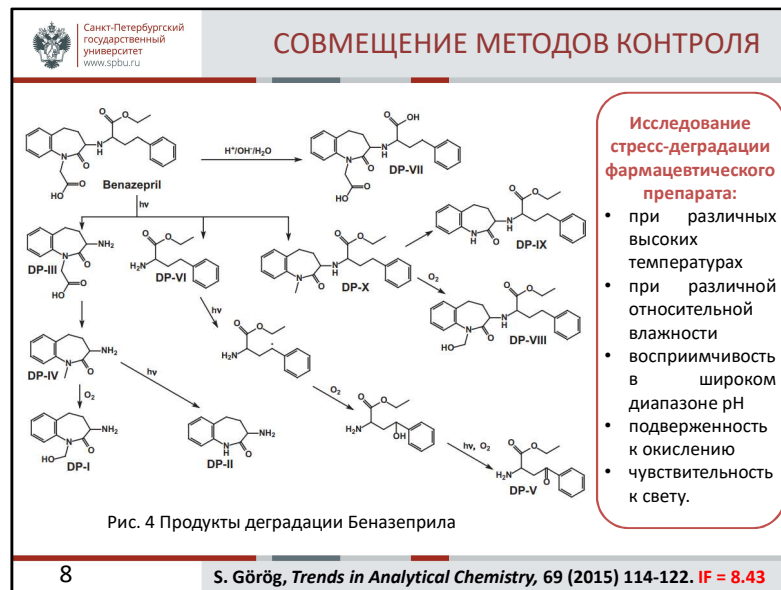


Для выявления побочных соединений в медицинских препаратах используют совокупность спектроскопических и хроматографических методов. Упрощенная схема подобного анализа на примеси представлена на слайде.

Сначала несколько проб одного препарата анализируют методом ВЭЖХ, ТСХ или ГХ. Затем проверяют содержат ли данные образцы одинаковые примеси и известны ли их структуры. Если нет, то в ход идет метод УФ- или ИК-спектроскопии. После определения наличия примесей, необходимо определить строение примесей. Для этого используют методы масс-спектрометрии и спектроскопии ЯМР. После определения предполагаемых структур примесей производят их синтез. Затем сравнивают синтезированные примеси с исходной пробой методами масс-спектропии или спектроскопии ЯМР.

Если образцы содержат одинаковые примеси, то прибегают к количественному определению данных примесей в препарате.

В качестве примера авторами был рассмотрен процесс идентификации продуктов деградации препарата Беназеприл. Это лекарство назначают при сердечной недостаточности и от повышенного кровяного давления. ВЭЖХ хроматограмма препарата показала наличие большого количества пиков, относящихся к примесям и один большой пик, относящийся к беназеприлу. Для точного определения строения деградантов был произведен ряд синтезов, которые представлены на следующем слайде.



Идентификация и выяснение структуры потенциальных деградантов, образующихся в ходе совокупности исследований, является важным этапом в разработке нового лекарственного средства или лекарственной формы для того, чтобы увидеть путь деградации лекарственного вещества в более тяжелых условиях, чем обычные условия хранения. Этот метод позволяет прогнозировать реальные примеси, образующиеся в процессе хранения препарата в нормальных условиях. Для исследований стресс-деградации лекарственное вещество рассматривают при различных высоких температурах и относительной влажности, проверяют его восприимчивость к гидролизу путем обработки растворов или суспензий в широком диапазоне pH, подверженность к окислению в присутствии окислителя (предпочтительно H₂O₂). Стресс-тестирование должно также включать в себя тестирование чувствительности лекарственного вещества к свету. После проведения авторами необходимого стресс-тестирования было получено 10 примесей. Совмещение данных масс-спектрометрии и ВЭЖХ показало, что полученные примеси – это продукты деградации беназеприла.

МАРКИРОВКА IN-DRUG

1. Печать на поверхности лекарственных препаратов

Рис. 5
 (а) Процесс создания на поверхности ПММА QR-кода;
 (б) Схема маркировки поверхности капсулы.

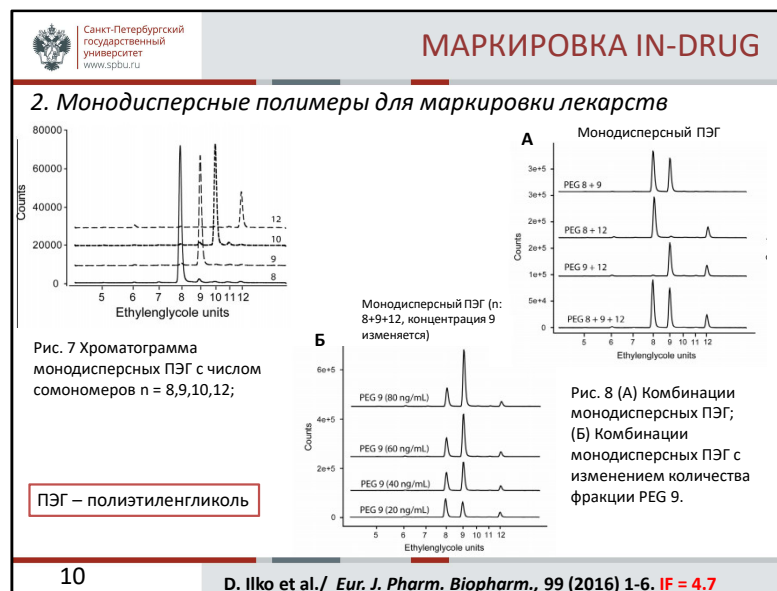
Рис. 6 (а) Капсула с QR-кодом; (б) Успешное сканирование.

9 J. Fei et al./ *Materials Science and Engineering, C* (2016) 657-662. IF = 4.96

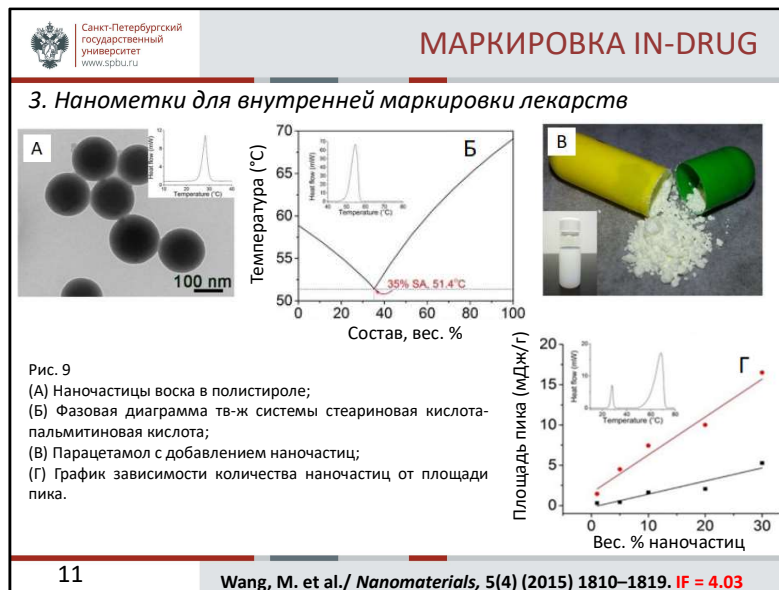
Во избежание подделки медицинской продукции многие производители используют маркировку упаковок определенным штрихкодом. К сожалению, недобросовестные поставщики подделывают или меняют упаковку, а значит данные методы неэффективны. Для решения этой проблемы были разработаны способы маркировки не самой упаковки, а непосредственно лекарства (таблеток и капсул). Одним из таких методов является печать информации на поверхности соответствующих капсул.

На слайде представлен способ покрытия QR кода на поверхность капсулы. Авторы использовали полиметилметакрилат в качестве подложки. Затем на поверхности ПММА с помощью CO₂-лазера вырезали QR код, содержащий полную информацию о производителе. (Рис. 5а). Далее на подложку накладывали жидкий полидиметилсилоксан (Рис. 5б-Б), который после высыхания являлся точной копией формы ПММА с функциональной микроструктурой QR-кода. Буква В на Рисунке 5б показывает, что поверх ПММА заливается биоматериал и образует пленку со штрихкодом (Г). Рисунки Д и Е представляют собой процесс в объеме капсулы.

Согласно источнику толщина пленки составила 0,05 мм, она биоразлагаема, а QR код хорошо читается. (Рис. 6).




Теоретически любой сополимер, содержащий упорядоченные последовательности сомономеров, допускает молекулярное кодирование. Так, авторы покрывали монодисперсным полиэтиленгликолем таблетки, а затем использовали молекулярную массу и количество ПЭГ, как кодирующий элемент соответствующего препарата. Таблетки покрывали фракциями полиэтиленгликоля с различным числом сомономеров $n=8, 9, 10, 12$. Каждая таблетка была исследована методом жидкостной хроматомасс-спектрометрии. На рисунке 7 представлены полученные хроматограммы, которые соответствуют монодисперсным ПЭГ с различным числом сомономеров. Для кодирования препарата использовали различные комбинации монодисперсных ПЭГ. (Рис. 8а). Из графика видно, что пики хорошо разделяются, а также высокой интенсивности. То есть монодисперсные ПЭГ-фракции даже низкой концентрации могут быть эффективно идентифицированы. Также код может быть модулирован путем изменения количества одной или нескольких фракций (Рис. 8б). Таким образом, с помощью монодисперсных полимеров различной ММ и концентрации можно кодировать лекарственные препараты.



Следующая научная группа описала еще один способ контроля лекарственных препаратов с помощью наночастиц. В данной работе использовали наночастицы с фазовым переходом твердое вещество-жидкость и точкой эвтектики, которые добавляли в таблетку и использовали в качестве термического штрих-кода. Температуру плавления (или фазового перехода твердое вещество-жидкость в точке эвтектики) определяли дифференциальной сканирующей калориметрией (ДСК). Для достижения высокой кодирующей способности синтезировались наночастицы с большим интервалом температур плавления.

Авторами были рассмотрены наночастицы органических твердых веществ: стеариновой и пальмитиновой кислот и парафиновый воск. Для предотвращения адгезии частицы были покрыты полистирольной оболочкой. С помощью трансмиссионного электронного микроскопа было получено изображение наночастиц воска в оболочке, которое отображено на слайде (Рис. 9а). Была рассчитана точка эвтектики смеси стеариновой и пальмитиновой кислот, которая была подтверждена экспериментально с помощью ДСК и составляла 52°C (Рис. 9б). Органические кислоты в определенном соотношении, соответствующем точке эвтектики, а также наночастицы воска были смешаны с парацетамолом. Как видно из рисунка 9в, порошок абсолютно белый, а наночастицы неотличимы от самого препарата. Соответствующий порошок был протестирован с помощью ДСК, характерные пики плавления хорошо отображаются. (Рис. 9г маленький). Была определена линейная зависимость количества наночастиц от величины площади пиков на диаграмме ДСК. Видно, что с увеличением количества наночастиц воска площадь пика растет не значительно, а увеличение количества стеариновой кислоты ведет к стремительному увеличению. Эти данные необходимы для подбора оптимального соотношения наночастиц в препарате. Также, авторами был проведен тест наночастиц на клетки HeLa, который не показал заметной токсичности.


 Санкт-Петербургский
государственный
университет
www.spbu.ru

ВЫВОДЫ

АНАЛИТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ

<p style="text-align: center;">Преимущества:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Высокая точность; • Качественный и количественный анализ; • Разнообразие методов. 	<p style="text-align: center;">Недостатки:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Высокая стоимость; • Необходимость в квалифицированном персонале и лаборатории;
--	---

МАРКИРОВКА IN-DRUG

<p style="text-align: center;">Преимущества:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Трудность копирования ЛП; • Быстрая и простая идентификация; • Доступность по цене. 	<p style="text-align: center;">Недостатки:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Применимы только к твердым лекарственным препаратам; • Ущерб для состава.
--	---

12

Нами были рассмотрены как традиционные, так и более передовые технологии борьбы с подделкой фармацевтических препаратов. Аналитические методы считаются наиболее эффективными методами количественной и качественной аутентификации как активных фармацевтических ингредиентов, так и примесей в лекарственных средствах. Несмотря на многочисленные преимущества, большинство этих методов аналитического тестирования являются дорогостоящими и требуют как квалифицированного персонала, так и надежной лабораторной инфраструктуры и приборов.

Очевидно, что технологии маркировки упаковки эффективны только в том случае, если лекарственные средства не переупаковываются. Однако, есть риск переупаковки лекарств, поскольку фармацевтические производители не отправляют лекарства непосредственно в больницы или покупателям. Поэтому маркировка таблеток и капсул вместо маркировки упаковки лекарств может стать мощным инструментом защиты лекарств от подделки. Появились некоторые новые технологии маркировки внутри лекарств, которые демонстрируют отличные характеристики, такие как трудности копирования, быстрая идентификация, доступность по цене, которые не всегда предлагают традиционные технологии. Ожидается, что новые технологии борьбы с контрафактом внутри продукции будут приобретать все большее значение в качестве инструментов защиты фармацевтических продуктов. Также ясно, что внедрение таких идентификаторов в фармацевтическое производство без ущерба для состава, безопасности и эффективности лекарственных средств остается сложной задачей. Кроме того, до сих пор включение идентифицирующих меток рассматривалось только для защиты твердых лекарственных форм.



1. P. Bottoni et al./ *Microchemical Journal*, 149 (2019) 104053. **IF = 3.206**
2. H. Zhang et al./ *Advanced Materials*, 32 (2020) 1-13. **IF = 25.8**
3. M.T. Koesdjojo et al. / *Talanta*, 130 (2015) 122–127. **IF=2.277**
4. M. Ribeiro et al. / *Anal. Methods*, 10 (2018) 1140-1150. **IF=2.378**
5. S. Görög, *Trends in Analytical Chemistry*, 69 (2015) 114-122. **IF = 8.43**
6. J. Fei et al./ *Materials Science and Engineering, C* (2016) 657-662. **IF = 4.96**
7. D. Ilko et al./ *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 99 (2016) 1-6. **IF = 4.7**
8. Wang, M. et al./ *Nanomaterials*, 5(4) (2015) 1810–1819. **IF = 4.03**