Рентгеновская порошковая дифрактометрия: контроль качества лекарственных средств

В. С. Кузьмин^{1,*}, В. В. Чернышев², А. И. Лутцева¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»

Министерства здравоохранения Российской Федерации,
Петровский бульвар, д. 8, стр. 2, Москва, 127051, Российская Федерация

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования

«Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова»,
Ленинские Горы, д. 1, стр. 3, Москва, 119991, Российская Федерация

Резюме. Рентгеновская порошковая дифрактометрия является одним из методов, использующихся для обнаружения и исследования полиморфных модификаций фармацевтических субстанций. Приведено понятие полиморфизма, кратко изложен физический смысл данного явления, условия полиморфных переходов и распространенность полиморфных модификаций среди субстанций лекарственных средств. Отмечено, что полиморфизм выявлен для лекарственных веществ самых различных фармакологических групп. Полиморфные модификации одного и того же лекарственного вещества обладают различной растворимостью, температурой плавления, стойкостью к окислению и другим деструктивным процессам и, следовательно, неодинаковыми поверхностными свойствами, от которых зависит как скорость абсорбции лекарственных веществ, так и их стабильность в лекарственных формах. В связи с этим сформулирована необходимость контроля качества фармацевтических субстанций на возможность наличия полиморфных модификаций. На примере изучения дифракционными методами криомодифицированных форм различных биологически активных соединений, полученных испарением с последующим осаждением при низких температурах, установлено получение поликристаллических веществ с новыми свойствами. Приведены данные об исследованиях кристаллических модификаций феназепама в виде α - и β -полиморфов, тилорона, фабомотизола, золендроновой кислоты и дегидроэпиандростерона. Показано, что применение метода рентгенофазового анализа при изучении и контроле полиморфных модификаций лекарственных средств необходимо при оценке их качества по показателю «Подлинность».

Ключевые слова: экспертиза качества; полиморфизм; полиморфные модификации; рентгенофазовый анализ; феназепам; тилорон; фабомотизол; золендроновая кислота; дегидроэпиандростерон

Для цитирования: Кузьмин ВС, Чернышев ВВ, Лутцева АИ. Рентгеновская порошковая дифрактометрия: контроль качества лекарственных средств. *Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2018;8(3):158–161. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2018-8-3-158-161>

***Контактное лицо:** Кузьмин Владимир Семенович; KuzminVS@expmed.ru

X-ray Powder Diffraction in Quality Control of Medicines

V. S. Kuzmin^{1,*}, V. V. Chernyshev², A. I. Luttseva¹

¹ Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products,
8/2 Petrovsky Blvd, Moscow 127051, Russian Federation

² M.V. Lomonosov Moscow State University,
1/3 Leninskie Gory, Moscow 119991, Russian Federation

Abstract. X-ray powder diffraction is one of the methods used for detection and analysis of polymorphic forms of pharmaceutical substances. The article elucidates the concept of polymorphism, briefly explains physical characteristics of this phenomenon, conditions of polymorphic transformations and the prevalence of polymorphic forms among drug substances. It should be noted that polymorphism is observed in drug substances belonging to different pharmacologic classes. Polymorphic forms of the same drug substance have different solubility, melting point, resistance to oxidation and to other destructive processes, and, consequently, different surface properties which affect both the rate of absorption of the drug substances and their stability as components of dosage forms. This calls for the need to control the quality of drug substances for potential presence of polymorphic forms. The use of diffraction methods for examination of cryomodified forms of various biologically active compounds obtained by evaporation and subsequent precipitation at low temperatures resulted in obtaining polycrystalline substances with new properties. The article provides results of examination of crystalline modifications of phenazepam in the form of α - and β -polymorphs, tilorone, fabomotizole, zolendronic acid and dehydroepiandrosterone. It was demonstrated that the use of X-ray diffraction analysis for examination and quality control of polymorphic forms of drugs is a necessary component of identification testing.

Key words: quality control; polymorphism; polymorphic forms; X-ray diffraction analysis; phenazepam; tilorone; fabomotizole; zolendronic acid; dehydroepiandrosterone

For citation: Kuzmin VS, Chernyshev VV, Luttseva AI. X-ray powder diffraction in quality control of medicines. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya* = *The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2018;8(3):158–161. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2018-8-3-158-161>

***Corresponding author:** Vladimir S. Kuzmin; KuzminVS@expmed.ru

Экспертиза качества лекарственных средств предусматривает их анализ по целому ряду показателей, в том числе по показателю «Подлинность». Объективная оценка подлинности фармацевтических субстанций, представляющих собой мелкокристаллический или аморфный порошок, может быть проведена с использованием метода рентгеновской порошковой дифрактометрии (метода рентгенофазового анализа, РФА).

Цель работы — обоснование необходимости использования метода РФА при контроле качества фармацевтических субстанций на примере отдельных лекарственных средств.

Основные принципы метода РФА и некоторые примеры его применения изложены в работе [1]. Помимо подтверждения кристаллической формы субстанции метод РФА позволяет не только оценивать степень ее кристалличности, но и устанавливать возможность наличия полиморфных модификаций.

В Государственной фармакопее Российской Федерации XIII издания (ГФ XIII) ОФС 1.1.0017.15 «Полиморфизм» приведено определение полиморфизма как «способности вещества существовать в различных кристаллических формах при одинаковом химическом составе» [2].

Физический смысл явления полиморфизма заключается в разных способах упаковки молекул в кристалле, что может быть вызвано либо различиями во взаимной ориентации молекул относительно друг друга, либо изменением конформации молекул с последующим изменением их взаимного расположения в кристалле. Это явление широко распространено среди молекулярных кристаллов, к которым относится большинство лекарственных субстанций. Полиморфные переходы могут происходить при растворении, плавлении, изменении температуры или давления, поскольку полиморфные модификации являются термодинамическими фазами, устойчивыми лишь в определенных внешних условиях. Полиморфные модификации весьма распространены среди фармацевтических субстанций.

Исследование полиморфизма биологически активных органических соединений и, прежде всего, лекарственных веществ началось в конце 30-х годов прошлого столетия. В 1937 г. был обнаружен полиморфизм сульфаниламида, в 1941 г. выделены и изучены рентгенографически его полиморфные модификации. Первый обзор о полиморфизме веществ, применяемых в фармацевтической практике, был опубликован в 1969 г.

В настоящее время полиморфизм выявлен более чем для 70 % лекарственных веществ самых различных фармакологических групп [3]. Наличие полиморфизма было отнесено к тем чрезвычайно важным факторам, которые оказывают существенное влияние на параметры биологической активности лекарственного средства и которые нельзя не учитывать в процессе изучения терапевтических свойств лекарственных форм на их основе.

Полиморфные модификации одного и того же лекарственного вещества обладают различной рас-

творимостью, температурой плавления, стойкостью к окислению и другим деструктивным процессам и, следовательно, неодинаковыми поверхностными свойствами, от которых зависит как скорость абсорбции лекарственных веществ, так и их стабильность в лекарственных формах. Поэтому «различные полиморфные модификации одной и той же фармацевтической субстанции могут оказывать разное влияние на технологию получения лекарственной формы, ее стабильность, биодоступность, фармакологическую активность и терапевтическую эффективность» [3]. Необходимо учитывать, что полиморфные изменения фармацевтических субстанций могут быть причиной быстрой инактивации препаратов, изменений физических показателей готовых лекарственных форм, химической несовместимости ингредиентов в составе одной лекарственной формы. Полиморфные модификации ряда широко применяемых лекарственных веществ различаются по химической стабильности, гигроскопичности, способности к прессованию [4].

Наличие полиморфных модификаций при контроле качества лекарственных средств оценивается методом РФА. Так, в работе И.Г. Смирновой и др. [4] рассмотрено применение РФА наряду с другими спектральными методами для контроля качества двух образцов субстанции верапамила различных производителей. Показано, что «техника X-Ray powder diffraction, инфракрасная Фурье-спектроскопия, дифференциальная сканирующая калориметрия, оптическая микроскопия могут с успехом применяться для контроля качества твердых кристаллических субстанций, при этом в качестве образца сравнения необходимо использовать субстанцию вещества фирмы-инноватора» [4]. В работе Е.Ю. Демченковой и др. [5] проводилось сравнение кристаллических свойств субстанций верапамила различных производителей, «показана возможность изучения качества твердых субстанций по показателям кристалличности, размера и агломерации фармацевтических субстанций».

Подробно о полиморфизме как характеристике, определяющей ключевые свойства активной фармацевтической субстанции, написано в работе Г.Н. Гильдеевой [6], которая указывает, что «наибольшую ценность с точки зрения оценки полиморфных модификаций субстанций и для контроля качества лекарственных средств представляют собой рентгеновская дифракция и термоаналитические методы — дифференциальная сканирующая калориметрия и термогравиметрия».

В качестве примеров изучения дифракционными методами полиморфных модификаций различных фармацевтических субстанций можно привести результаты исследования криомодифицированных форм биологически активных соединений (феназепам и дегидроэпиандростерона), которые подвергали испарению с последующим осаждением при низких температурах. Работы проведены группой ученых Химического факультета МГУ им. М. В. Ломоносова. При этом для феназепама было получено поликристаллическое

вещество с новыми свойствами, отличающимися от свойств исходного вещества. Наиболее вероятной причиной изменения свойств являются изменения в кристаллической структуре вещества. Для подтверждения этой гипотезы в Кембриджской базе структурных данных (Cambridge Structural Database, CSD¹) был проведен поиск данных о структуре феназепам, который позволил установить, что база содержит описание только одной кристаллической структуры, названной α -полиморфом феназепам [7].

На основе данной структурной информации с помощью программы MRUA [8] была построена вычисленная рентгеновская дифрактограмма, представленная на рисунке. Рентгеновская дифрактограмма криомодифицированного препарата (рис. 1) существенно отличалась от дифрактограммы исходного α -полиморфа и позволила установить, что модифицированный препарат имеет другую кристаллическую структуру.

Используя методы порошкового рентгеноструктурного анализа [9], удалось установить эту новую структуру на основании полученной дифрактограммы [10]. Новая структура названа β -полиморфом феназепам. Кристаллические структуры α - и β -полиморфов феназепам отличаются только системами слабых межмолекулярных взаимодействий, что приводит к различным системам упаковки молекул в кристаллах и, в конечном итоге, к различиям в некоторых свойствах, например, различным скоростям растворения в жидкостях. Исследование экспериментальной дифрактограммы β -полиморфа также показало присутствие дифракционных пиков α -полиморфа, а последующие расчеты позволили дать количественную оценку его содержания в образце $4,3 \pm 0,3$ %. Повторные рентгеновские измерения этого же образца через год показали, что содержание α -полиморфа в нем увеличилось до $14,5 \pm 0,6$ %. Предположительно, β -полиморф является метастабильной формой феназепам. В результате этой работы способ получения новой полиморфной модификации феназепам был запатентован [11], а кристаллическая структура β -полиморфа включена в Кембриджскую базу CSD.

В настоящее время рентгеновская порошковая дифракция широко используется для установления структурных характеристик новых полиморфных модификаций. Так, были проведены исследования кристаллических структур трех полиморфов препарата тилорон [12] в 2012 году, определение структуры полиморфов фабомотизола [13] и золедроновой кислоты [14] в 2013 году, установление структуры нового полиморфа стероида дегидроэпиандростерона [15] в 2016 году. Способы получения всех вышеперечисленных полиморфов охраняются патентами на изобретение.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате анализа опубликованных ранее работ по изучению кристаллических модификаций лекарственных средств на примере феназепам,

¹ <http://www.ccdc.cam.ac.uk/products/csd/>

Рис. 1. Рентгеновские дифрактограммы двух полиморфных модификаций феназепам: α -полиморфа [7] (кривая красного цвета) и β -полиморфа [9] (кривая зеленого цвета)

Fig. 1. X-ray diffractograms of two polymorphic forms of phenazepam: α -polymorph [7] (red curve) and β -polymorph [9] (green curve)

тилорона, фабомотизола, золедроновой кислоты и дегидроэпиандростерона обоснована необходимость оценки полиморфизма фармацевтических субстанций при определении их подлинности. Одним из методов, позволяющих качественно и количественно определить различные поликристаллические фазы и их смеси в образце субстанции, является метод рентгеновской порошковой дифрактометрии.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00023-18-02 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР AAAA-A18-118021590049-0).

Acknowledgements. The study reported in this publication was supported by the FSBI "SCEEMP" of the Ministry of Health of Russia and was carried out as part of a publicly funded research project (R&D public accounting No. AAAA-A18-118021590049-0).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.
Conflict of interest. Authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Кузьмин ВС, Чернышев ВВ, Яшкир ВА, Меркулов ВА. Рентгеновская порошковая дифрактометрия. Практическое применение в экспертизе лекарственных средств. *Вестник Научного Центра экспертизы средств медицинского применения*. 2015;(2):13–16. [Kuzmin VS, Chernyshev VV, Yashkir VA, Merkulov VA. X-ray powder diffractometry. Practical application in the examination of medicines. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya = The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2015;(2):13–6 (In Russ.)]
2. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII изд. Т. 1. М.; 2015. [State pharmacopoeia of the Russian Federation. 13th ed. V. 1. Moscow; 2015 (In Russ.)]
3. Рудакова ИП, Ильина ИГ, Скачилова СЯ, Мелентьева ТА, Михалев ОВ, Самылина ИА. Полиморфизм и свойства лекарственных средств. *Фармация*. 2009;(8):42–4. [Rudakova IP, Ilyina IG, Skachilova

- va SYa, Melent'eva TA, Mikhalev OV, Samylina IA. The polymorphism and properties of drugs. *Farmatsiya = Pharmacy*. 2009;(8):42–4 (In Russ.)]
4. Смирнова ИГ, Гильдеева ГН, Чистяков ВВ. Анализ кристаллической и пространственной структуры лекарственных веществ. *Вестник Московского Университета. Серия 2: Химия*. 2012;53(4):234–40. [Smirnova IG, Gildeeva GN, Chistyakov VV. Analysis of crystal and three dimensional structures of drug substances. *Moscow University Chemistry Bulletin*. 2012;67(4):196–201 (In Russ.)]
  5. Демченкова ЕЮ, Чистяков ВВ. Сравнительное изучение качества кристаллических субстанций верапамила. *Биомедицина*. 2006;(5):22–3. [Demchenkova EYu, Chistyakov VV. A comparative study of the quality of crystalline substances Verapamil. *Biomeditsina = Biomedicine*. 2006;(5):22–3 (In Russ.)]
  6. Гильдеева ГН. Полиморфизм: влияние на качество лекарственных средств и актуальные методы анализа. *Качественная клиническая практика*. 2017;(1):56–60. [Gildeeva GN. Polymorphism: influence on the quality of medicines and current methods of analysis. *Kachestvennaya klinicheskaya praktika = Qualitative Clinical Practice*. 2017;(1):56–60 (In Russ.)]
  7. Карапетян АА, Андрианов ВГ, Стручков ЮТ, Богацкий АВ, Андронати СА, Коротенко ТИ. Кристаллическая и молекулярная структура 7-бром-5-(о-хлорфенил)-1,3-дигидро-2Н-1,4-бензодиазепин-2-она. *Биоорганическая химия*. 1979;5(11):1684–90. [Karapetyan AA, Andrianov VG, Struchkov YuT, Bogatskiy AV, Andronati SA, Korotenko TI. Crystal and molecular structure of 7-bromine-5-(o-chlorophenyl)-1,3-dihydro-2H-1,4-benzodiazepine-2-on. *Bioorganicheskaya khimiya = Bioorganic Chemistry*. 1979;5(11):1684–90 (In Russ.)]
  8. Zlokazov VB, Chernyshev VV. MR1A — a program for a full profile analysis of powder multiphase neutron-diffraction time-of-flight (direct and Fourier) spectra. *J Appl Cryst*. 1992;25:447–51. <https://doi.org/10.1107/S0021889891013122>
  9. Чернышев ВВ. Определение кристаллических структур методами порошковой дифракции. *Известия Академии наук. Серия химическая*. 2001;(12):2174–90. [Chernyshev VV. Structure determination from powder diffraction. *Russian Chemical Bulletin. International edition*. 2001;50(12):2273–92] <https://doi.org/10.1023/A:1015006807065>
  10. Sergeev GB, Sergeev BM, Morosov YN, Chernyshev VV. β -Polymorph of phenazepam: a powder study. *Acta Crystallogr Sect E Struct Rep Online*. 2010;66(Pt 10):o2623. <https://doi.org/10.1107/S1600536810037402>
  11. Морозов ЮН, Сергеев БМ, Колотилов ПН, Шабатин ВП, Сергеев ГБ, Чернышев ВВ и др. Кристаллическая β -модификация 7-бром-1,3-дигидро-5-(2-хлорфенил)-2Н-1,4-бензодиазепин-2-она и способ ее получения. Патент Российской Федерации, № 2430094; 2011. [Morozov YuN, Sergeev BM, Kolotilov PN, Shabatin VP, Sergeev GB, Chernyshev VV, et al. Crystalline β -modification of 7-bromine-1,3-dihydro-5-(2-chlorophenyl)-2H-1,4-benzodiazepine-2-it and the method of its production. Patent of Russian Federation, № 2430094; 2011 (In Russ.)]
  12. Chernyshev VV, Yatsenko AV, Pirogov SV, Nikulenkova TF, Tumanova EV, Lonin IS, et al. Two anhydrous and a trihydrate form of tilorone dihydrochloride: hydrogen-bonding patterns and reversible hydration/dehydration solid-state transformation. *Cryst Growth Des*. 2012;12(12):6118–25. <https://doi.org/10.1021/cg3012475>
  13. Chernyshev VV, Petkune S, Actins A, Auzins R, Davlyatshin DI, Nosyrev PV, et al. Two polymorphs of afobazole from powder diffraction data. *Acta Crystallogr C*. 2013;69(Pt 3):299–302. <https://doi.org/10.1107/S0108270113004502>
  14. Chernyshev VV, Shkavrov SS, Paseshnikchenko KA, Puryaeva TP, Velikodny YA. Zoledronic acid: monoclinic and triclinic polymorphs from powder diffraction data. *Acta Crystallogr C*. 2013;69(Pt 3):263–6. <https://doi.org/10.1107/S0108270113003089>
  15. Chernyshev VV, Morozov YN, Bushmarinov IS, Makoed AA, Sergeev GB. New Polymorph of Dehydroepiandrosterone Obtained via Cryomodification. *Cryst Growth Des*. 2016;16(2):1088–95. <https://doi.org/10.1021/acs.cgd.5b01666>

ОБ АВТОРАХ

Кузьмин Владимир Семенович, д-р хим. наук, ведущий эксперт сектора спектральных методов исследования лаборатории биотехнологических препаратов Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-2533-8142>

Чернышев Владимир Васильевич, д-р физ.-мат. наук, ведущий научный сотрудник химического факультета МГУ им. М. В. Ломоносова, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-8514-7471>

Лутцева Анна Ивановна, канд. фарм. наук, начальник Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-8752-5245>

AUTHORS

Vladimir S. Kuzmin, Dr. Sci. (Chem.), Leading Expert of the Spectral Methods Sector of the Laboratory of Biotechnological Products of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Products' Quality of the FSBI «SCEEMP» of the Ministry of Health of Russia, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-2533-8142>

Vladimir V. Chernyshev, Dr. Sci. (Phys.-Math.), Leading Research Associate of the Department of Chemistry of M. V. Lomonosov Moscow State University, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-8514-7471>

Anna I. Luttseva, Cand. Sci. (Pharm.), Head of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Products' Quality of the FSBI «SCEEMP» of the Ministry of Health of Russia, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-8752-5245>

Статья поступила 14.03.2018

Принята к печати 22.08.2018

Article was received 14 March 2018

Accepted for publication 22 August 2018