**Разработка экспресс-метода контроля подлинности жидких форм лекарственных препаратов для ветеринарного применения с использованием КР-спектроскопии**

|  |  |
| --- | --- |
| **Тема** | Разработка экспресс-метода контроля подлинности жидких форм лекарственных препаратов для ветеринарного применения с использованием КР-спектроскопии |
| **Период выполнения** | 2020-2021 гг. |
| **Актуальность** | Существует три основных разновидности контрафактных фармацевтических товаров: замена активного действующего вещества или его полиморфной формы; замена заявленных вспомогательных веществ и наполнителей; переупаковка просроченных лекарственных средств.  В последние годы наблюдается значительное повышение интереса испытательных лабораторий в области анализа качества лекарственных препаратов к методу спектроскопии комбинационного рассеяния света (КР-спектроскопия, рамановская спектроскопия). Так специалистами Росздравнадзора разработан портативный КР-спектрометр МиниРам532. Данный прибор активно используется в передвижных лабораториях на территории РФ для выявления контрафакта инъекционных препаратов. Кроме этого большинство производителей КР-спектрометров в настоящее время выпускают портативные модели для передвижных лабораторий. Это свидетельствует о потребности рынка в быстром, недорогом и эффективном методе анализа образцов на водной основе которые нельзя проводить другими методами спектрального анализа – спектроскопией в ближнем и среднем ИК-диапазоне. Спектроскопия комбинационного рассеяния света является быстрым, простым в использовании и достоверным инструментом контроля качества лекарственных средств. Важным отличием ее от классических методов анализа (например, ВЭЖХ, УФ-спектрофотометрия, титрование, качественные реакции) является практически полное отсутствие необходимости в использовании расходных материалов и химических реактивов. Использование стандартных образцов необходимо только на этапе создания базы данных, на основе которой формируется аналитический метод, на этапе рутинных анализов расход стандартных образцов не требуется.  Метод комбинационного рассеяния, наряду со спектроскопией в ближнем и среднем инфракрасном диапазоне относится, к колебательной молекулярной спектроскопии. Колебания возникают в молекулах за счет смещения ядер от положения равновесия. Колебательные спектры регистрируют в форме инфракрасных спектров и спектров комбинационного рассеяния (Рамановских спектров). Рамановский спектр возникает при облучении вещества монохроматическим светом ультрафиолетового или видимого диапазона. Под воздействием света молекулы вещества поляризуются и рассеивают свет. При этом рассеянный свет отличается от частоты исходного излучения на величину, соответствующую частоте нормальных колебаний молекулы. Индивидуальность этой характеристики обусловливает высокую селективность метода. Таким образом метод КР-спектроскопии дает возможность получить индивидуальный спектральный отпечаток, уникальный по отношению к рассматриваемой молекуле или целой молекулярной структуре. По сравнению с методом ИК-Фурье спектроскопии КР-спектроскопия имеет ряд преимуществ: Метод КР- спектроскопии может быть использован для анализа водных растворов, поскольку высокий абсорбционный эффект воды в отличии от ИК-Фурье метода не оказывает на него существенного влияние. Обычно пики в рамановском спектре более четкие и имеют лучшее разрешение, чем БИК спектры, поэтому о химическом составе неизвестных образцов можно получить больше информации.  Интенсивность спектральных линий в растворе прямо пропорциональна концентрации специфических соединений; Рамановский спектр не зависит от изменений температуры раствора; Метод КР-спектроскопии практически не требует пробоподготовки, применения реагентов, и не подвержен влиянию материала ячейки, например, стекла. К преимуществам Рамановской спектрометрии следует также отнести: возможность бесконтактного анализа твердых, жидких и газообразных веществ при этом метод не требует большого количества вещества (около 50 мг или 50мкл). Также КР-спектроскопия может быть использована для анализа таких физических свойств, как кристалличность, фазовые переходы и полиморфные состояния.  Спектры комбинационного рассеяния очень чувствительны к природе химических связей – как в органических молекулах и полимерных материалах, так и в кристаллических решетках и кластерах, что обуславливает индивидуальность спектра конкретного вещества. Спектры КР органических материалов в основном состоят из линий, отвечающих деформационным и валентным колебаниям химических связей углерода с водородом, кислородом и азотом, а также характеристическим колебаниям различных малополярных функциональных групп: связей С–С, С=С и С≡С, а также гидроксильной –OH, аминогруппы –NH2 и т.д. Эти линии проявляются в диапазоне от 600 см-1 (валентные колебания одинарных С–С связей) до 3600 см-1 (колебания OH–группы). Кроме того, в спектрах ряда органических соединений в диапазоне 250-400 см-1 проявляются деформационные колебания алифатических цепочек.  В результате анализа можно идентифицировать молекулярные фрагменты - определять строение вещества или изучать внутримолекулярные взаимодействия, наблюдая положение и интенсивность полос в КР-спектре. При этом достаточно просто идентифицировать фрагменты, используя поиск по библиотекам спектров.  Лекарственные препараты в большинстве случаев представляют из себя сравнительно сложную смесь из действующих и вспомогательных веществ, поэтому для построения калибровочной модели используются хемометрические методы, суть которых заключатся в статистическом анализе изменений спектральных характеристик и их зависимости от содержания анализируемого вещества.  Важной особенность анализа методом КР-спектроскопии является: надежность, высокая селективность, скорость проведения анализа - время получения одного спектра не превышает нескольких минут, а также возможность многокомпонентного анализа и анализ некоторых образцов без предварительной подготовки. Существенным является то, что для КР-спектроскопии отсутствует потребность в расходе реактивов и стандартных образцов (при рутинном анализе на основе созданной базы данных). |
| **Цель исследования** | Целью данной научно-исследовательской работы является разработка методологии экспресс-анализа жидких форм лекарственных препаратов для ветеринарного применения с использованием КР-спектроскопии, а также создание базы данных КР-спектров лекарственных препаратов |
| **Планируемые результаты** | 1. Разработанная методология регистрации спектров лекарственных препаратов для ветеринарного применения.  1.1. Будет определен универсальный спектральный диапазон регистрации спектров комбинационного рассеяния света, который будет в дальнейшем применим для каждого лекарственного препарата.  1.2. Для каждого лекарственного средства будут оптимизированы энергия лазерного излучения, область регистрации спектральных данных, спектральное разрешение, усиление сигнала, коррекция аппаратных шумов, скорость сканирования, математическая обработка спектральных данных. Целью данного этапа является разработка универсальных условий проведения анализа, подходящих для анализа максимального количества образцов среди предложенного списка лекарственных препаратов.  2. Разработанная методология пробоподготовки лекарственного препарата перед анализом.  2.1. Будет оценена степень искажения спектральных данных при регистрации спектра через товарную упаковку. На основании полученных данных будет сформирован список лекарственных препаратов для которых применим неразрушающий метод контроля.  2.2. Будет проведена оценка применимости метода путем дополнительного анализа препаратов методом КР-спектроскопии прошедших испытание в рамках Государственного задания по мониторингу качества лекарственных средств. Это позволит значительно улучшить достоверность результатов за счет увеличения межсерийной вариабельности спектральных характеристик лекарственных препаратов.  3. На основе статистической обработки для каждого лекарственного средства, выдерживающего испытание на подлинность, будет вычислен допустимый диапазон изменчивости спектральных характеристик. |