

УДК 66.047

**СПОСОБ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПОДЛИННОСТИ И СОДЕРЖАНИЯ ОСТАТОЧНОЙ
ВЛАЖНОСТИ В ВАКЦИНАХ МЕТОДОМ БИК-СПЕКТРОСКОПИИ**

А.Ю. Хрущев, Ю.С. Ходькова, Т.Н. Лихих, С.В. Антонова, В.О. Бондаренко

*Всероссийский государственный центр качества и стандартизации лекарственных средств
для животных и кормов, Москва, Россия*

Остаточное содержание влаги оказывает значительное влияние на стабильность биофармацевтических препаратов, в том числе, вакцин. Вода играет ключевую роль в конформационном и химическом состоянии белка, поэтому точное определение влажности имеет важное значение для решения вопросов стабильности [1]. Неустойчивость вакцин в водных растворах обусловлена различными химическими и физическими процессами. Во многих случаях удаление воды путем лиофилизации может значительно уменьшить разложение вакцин, однако необходимо контролировать содержание остаточной влажности [2]. Спектроскопия ближнего инфракрасного диапазона (БИК-спектроскопия) является быстрым, простым в использовании и достоверным инструментом контроля качества лекарственных средств. Важным отличием ее от классических методов анализа является практически полное отсутствие пробоподготовки и необходимости в использовании расходных материалов и химических реактивов [3–5]. В данной работе предложен способ определения остаточной влажности лиофилизированных вакцин, предназначенных для ветеринарного применения методом спектроскопии в ближнем инфракрасном диапазоне без вскрытия товарной упаковки. В отличие от предложенного ранее метода определения остаточной влажности вакцин с помощью БИК-спектроскопии [6,7] в данной работе показано, что для построения единой калибровочной модели для количественного определения возможно использование образцов разных торговых наименований. Таким образом был создан универсальный расчетный метод для 24 наименований вакцин. Работа заключалась в последовательном выполнении следующих этапов: 1) Анализ остаточной влажности образцов вакцин титрованием по методу К. Фишера; 2) Регистрация БИК-спектров образцов проверенной серии препарата через стеклянную стенку флакона; 3) Построение калибровочной модели с использованием хемометрических алгоритмов; 4) Проверка

модели на тестовых образцах, коррекция. В рамках данной работы был разработан способ определения подлинности вакцин, основанный на дискриминантном анализе по БИК-спектрам образцов (см. Рис. 1). Этот метод позволяет провести предварительную классификацию неизвестных образцов, что повышает достоверность результатов последующего количественного анализа.

Для построения калибровочной модели, учитывающей высокую изменчивость образцов вследствие индивидуальных спектральных характеристик, был использован метод многомерной калибровки основанный на методе главных компонент – PLS (метод проекции на латентные структуры). Проверка калибровочной модели была проведена методом перекрестной валидации (Cross-validation), а также с использованием проверочных образцов вакцин с известным содержанием воды. Для образцов, содержащих воду в количестве 20–50 мг/г ошибка определения составляет не более 5 % относительно результатов, полученных по аттестационному методу (титрование по методу К. Фишера). Доказательством применимости построенной калибровочной модели является также близость значений ошибки калибровки (RMSEC = 0,206) и проверки (RMSEP = 0,207), а также значение коэффициента корреляции калибровки – 0.9853 (см. рис. 2)

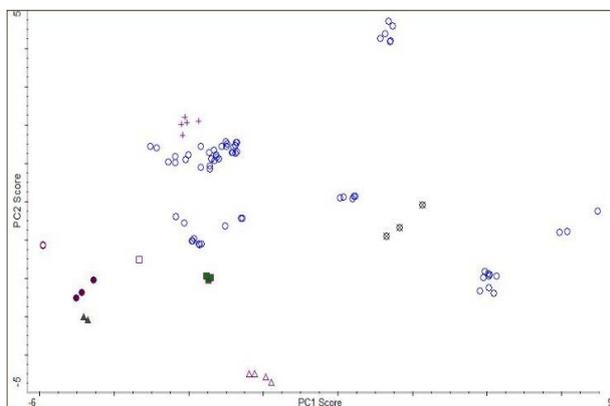


Рисунок 1. График счетов в координатах двух первых главных компонент БИК-спектров образцов вакцин

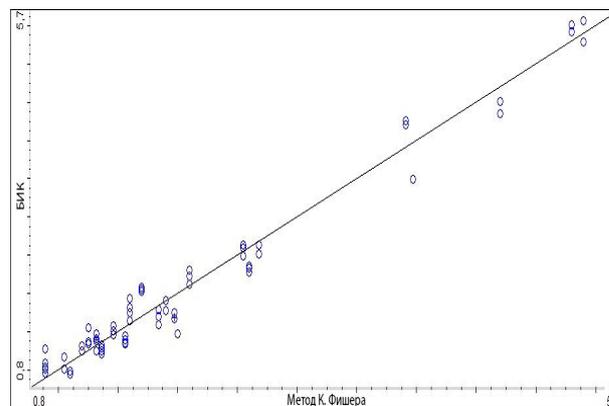


Рисунок 2. График корреляции результатов содержания остаточной воды полученных методом К. Фишера и БИК-спектроскопии

Разработанный способ позволяет значительно сократить время на проведение анализа по установлению подлинности и определению остаточной влажности вакцин. Данный подход также позволяет существенно снизить финансовые затраты, ввиду отсутствия необходимости в использовании реактивов при проведении испытаний методом БИК-спектроскопии, что также снижает степень загрязнения окружающей среды. Кроме этого разработанный способ относится к неразрушающим методам анализа, что предоставляет возможность вернуть выдерживающие испытание препараты на рынок лекарственных средств после проведения анализа.

ЛИТЕРАТУРА

Jason Rexroad, Christopher M. Wiethoff, Latoya S. Jones, and C. Russell Middaugh, Lyophilization and the Thermostability of Vaccines, Cell preservation technology. Volume 1, Number 2, 2002.

Moisture content in proteins: its effects and measurement, John K. Towns, Journal of chromatography A, 705 (1995) 115–127.

Д.А. Верескун, О.Е. Родионова, А.В. Титова. Изучение возможности использования БИК-спектроскопии в анализе таблеток комбинированного противомикробного препарата. Вестник Росздравнадзора № 2–2016: 62–66.

Арзамасцев А.П., Садчикова Н.П., Титова А.В. Метод ближней ИК-спектроскопии в системе контроля качества лекарственных средств (обзор). Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии, 2010, 1: 63–67.

Roggo Y, Chalou P, Lene Maurer L, Lema-Martinez C, Edmond CA, Jent N. A review of near infrared spectroscopy and chemometrics in pharmaceutical technologies. J. Pharm. Biomed. Anal., 2007, 44: 683–700.

Yiwu Zheng, Xuxin Lai, Susanne Wrang Bruun, Henrik Ipsen, Jorgen Nedergaard Larsen, Henning Lowenstein, Ib Søndergaard, Susanne Jacobsen. Determination of moisture content of lyophilized allergen vaccines by NIR spectroscopy. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 46 (2008) 592–596.

L. Sukowski. NIR-based process analytical technology: In-line residual moisture determination for a complete batch inspection of lyophilized end-products, PhD. Thesis, University of Basel, Deutschland, 2003.