

Д.В.Баринов<sup>1,2</sup>, А.С.Калькова<sup>1,2</sup>, З.Б.Сакипова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Казахский национальный медицинский университет им. С.Д.Асфендиярова;

<sup>2</sup>АО «Научный центр противомикробных препаратов», Алматы  
(E-mail: dbarinov@inbox.ru)

## Идентификация субстанции ФС-1 спектральными методами

В статье представлены результаты исследования по идентификации субстанции ФС-1 спектральными методами. Установлено, что идентификацию субстанции по УФ спектру необходимо проводить по результатам записи УФ спектра 0,05 % раствора в диапазонах от 500 до 190 нм, по ИК спектру приготовленной в КВг-таблетки или полученному на приставке методом внутреннего отражения.

*Ключевые слова:* субстанция ФС-1, идентификация, спектральный анализ, инфракрасная спектроскопия, ультрафиолетовая спектроскопия, стандартизация субстанции, электронный переход, функциональная группа.

### Введение

Для идентификации и установления подлинности лекарственных средств или лекарственных субстанций широко применяются спектральные методы исследования [1–3]. Сочетание в нем спектроскопии и статистических методов исследования многофакторных зависимостей делает его уникальным не только для подтверждения подлинности и определения содержания действующего вещества в лекарственной форме, но и выявления различий между лекарственными средствами, выпускаемыми разными производителями [4]. В настоящей работе представлены данные по стандартизации разработанной лекарственной субстанции ФС-1 спектральными методами.

В области разработки новых лекарственных средств уделяется особое внимание созданию лекарственных препаратов на основе оригинальных субстанций. К таковым относится лекарственное средство ФС-1. Данная субстанция обладает высоким потенциалом применения в лекарственной терапии, поскольку проявляет ряд биоцидных и вирулицидных свойств в отношении широкого спектра бактерий, вирусов и грибов [5, 6]. В настоящее время завершена фаза II клинических испытаний энтеральной лекарственной формы субстанции ФС-1 — изучение эффективности и безопасности, установление эффективной дозы и способа применения (на выборке пациентов с мультирезистентной формой туберкулеза легких в количестве не менее 100 человек).

Целью исследовательской работы являлось установление функционального состава и изучение электронного спектра оригинальной субстанции ФС-1, а также разработка критериев идентификации субстанции ФС-1 спектральными методами, для возможности применения ИК- и УФ-спектроскопии в анализе субстанции ФС-1.

### Экспериментальная часть

*Объекты исследования.* Разработанная субстанция ФС-1 представляет собой комплексное соединение йода с полидентатными лигандами, в качестве которых выступают ассоциаты карбогидратов и пептидов. Активным компонентом субстанции ФС-1 является йоднополимерный комплекс, выполняющий роль матрицы, способной удерживать в крови молекулу йода, входящую в состав препарата, таким образом, обеспечивая транспорт и размещение I<sub>2</sub> в межклеточном пространстве [5, 6].

Для исследования были синтезированы пять серий субстанции ФС-1 в лабораторных условиях (01110113, 02110113, 03170113, 04180113 и 01130312). Были записаны и интерпретированы их инфракрасные и ультрафиолетовые спектры.

*Подготовка проб для исследования.* Субстанция ФС-1 в нормальных условиях является кристаллическим порошком, окрашенным в чёрный цвет. Экспериментальным путем была определена оптимальная концентрация субстанции ФС-1 для идентификации методом УФ-спектроскопии, составляющая 0,05 % в воде. В качестве растворителя применяли очищенную воду, с величиной электропроводности 18,2 кмСм. 0,0250 г сухой субстанции ФС-1 поместили в мерную колбу вместимостью 50 мл, добавили 30 мл очищенной воды. Хорошо перемешали, до растворения твёрдой фазы. Довели объём очищенной водой до метки (до 50 мл). Полученные растворы субстанции ФС-1 имели слабо фиолетовый оттенок.

Приготовление проб для инфракрасного исследования проводили следующим образом: метод А — навеску сухой субстанции ФС-1 0,0010 г и 0,1000 г безводного бромида калия поместили в агаговую ступку и гомогенизировали. Из полученной смеси изготовили таблетку, приложив давление 10 т. Метод Б — для записи спектра методом внутреннего отражения на кристалле ZnSe использовали навески субстанции ФС-1. 0,1000 г помещали на кристалл, прижимали прижимным устройством и проводили сканирование в указанных ниже диапазонах.

*Получение спектров.* ИК спектральное исследование проводили на приборе Nicolet 6700 фирмы Thermo Electron в диапазоне от 500 до 4000  $\text{см}^{-1}$ .

УФ спектральное исследование проводили на приборе Lambda-35 фирмы Perkin Elmer в диапазоне от 500 до 190 нм.

### Результаты и их обсуждение

Проведённые исследования показали, что спектры субстанции ФС-1, полученные по методу А, отличаются большей детализацией, данному методу характерно проявление сверхпоглощения, что выражается в расщеплении полос спектра (рис. 1а). Тогда как спектры, полученные по методу Б, характеризуются повышенной шумностью (рис. 1б). Кроме того, при записи ИК спектра по методу Б в ближней ИК области ( $500\text{--}700\text{ см}^{-1}$ ) наблюдался эффект размытия полос поглощения ввиду технических возможностей приставки. Поэтому диапазон частот при сканировании методом внутреннего отражения на кристалле ZnSe следует устанавливать  $4000\div 750\text{ см}^{-1}$ .

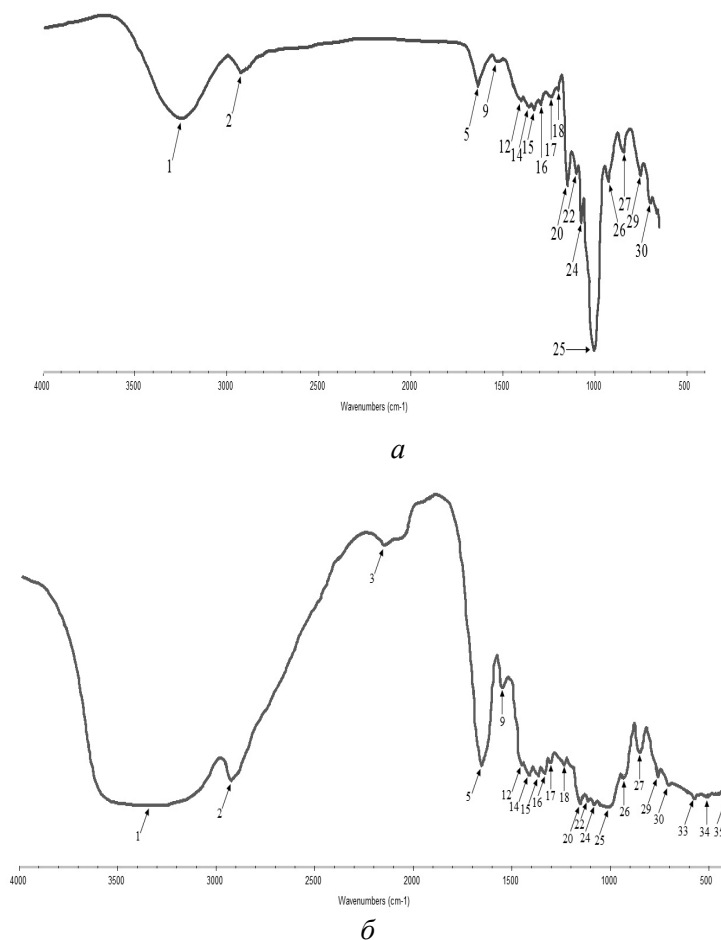
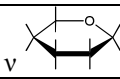


Рисунок 1. Инфракрасный спектр субстанции ФС-1

Результаты интерпретации полученного ИК спектра представлены в таблице 1.

Т а б л и ц а 1

## ИК спектр субстанции ФС-1 и его интерпретация

№	Полоса поглощения, см <sup>-1</sup>		Отнесение	Интерпретация
	Метод А	Метод Б		
1	3394,9 ± 28	3217,3 ± 12	$\nu$ –ОН	Валентные колебания гидроксильной группы органических молекул, а также кристаллизационной и свободной воды
2	2926,9 ± 2	2898,5 ± 75	$\nu_s, \nu_{as}$ >CH <sub>2</sub> , –CH <sub>3</sub>	Симметричные и асимметричные валентные колебания метиленовых и метильных групп органических молекул
3	2156,6 ± 5	–	$\nu$ –C–O–C–	Валентные колебания простых эфирных групп
4	1653,1 ± 5	1645,7 ± 6	$\nu$ >C=O	Валентные колебания карбонильной группы органических молекул
5	1544,2 ± 2	1538,7 ± 6	$\delta$ –N–H	Деформационные колебания аминогруппы
6	1414,1 ± 3	1412,0 ± 6	$\delta$ C–H	Плоские деформационные колебания
7	1371,2 ± 1	1359,6 ± 5	$\delta_s$ –CH <sub>3</sub>	Симметричные колебания метильных групп
8	1336,7 ± 1	1333,3 ± 3	$\delta$ –CH <sub>2</sub>	Верные и крутильные деформационные колебания метиленовых групп
9	1298,4 ± 6	1294,9 ± 5		
10	1244,1 ± 2	1234,4 ± 7	$\delta$ –CH <sub>3</sub>	Маятниковые деформационные колебания метильной группы
11	1203,4 ± 3	1202,9 ± 2		
12	1154,4 ± 1	1148,3 ± 1		
13	1102,6 ± 1	1104,9 ± 2	$\nu$ –C–N–	Валентные колебания аминогруппы
14	1074,7 ± 5	1075,4 ± 3	$\nu$ –C–OH	Валентные колебания гидроксильной группы
15	1022,6 ± 4	1017 ± 3		Валентные колебания карбогидратного цикла
16	936,1 ± 1	929,0 ± 6	$\nu_s$ C–O–C	Симметричные колебания алкоксильных групп
17	850,3 ± 4	844,3 ± 3	$\delta$ C–H	Деформационные колебания углерод-водородных связей
18	760,7 ± 1	758,1 ± 3		
19	706,8 ± 1	702,4 ± 5		
20	574,2 ± 2	+		
21	524,5 ± 6	+	$\nu$ C–I	Валентные колебания йодпроизводных соединений

В диапазоне от 3000 до 3300 см<sup>-1</sup> проявляются полосы поглощения всех гидроксильных групп, относящихся и к органическим молекулам, и к неорганическим, и к воде, в том числе кристаллизационной — удерживаемой в кристаллической решетке сухих веществ, и свободной. Субстанция ФС-1 является сухим кристаллическим веществом, однако в структуре субстанции могут содержаться молекулы кристаллизационной воды, так как высушивание субстанции происходит конвекционным способом при температуре 39 °С. Кроме того, субстанция ФС-1 гигроскопична, что обуславливает наличие в её составе еще и свободной воды. Поэтому в интерпретации полос в диапазоне 3394,9 ± 28 (по методу А) и 3217,3 ± 12 (по методу Б) учитывается проявление валентных колебаний гидроксильных групп органических молекул, а также кристаллизационной и свободной воды.

Характеристичными полосами поглощения были выбраны те, которые различимы при исполнении исследования обоими методами, и те, которые характерны основным компонентам субстанции:

1. Полоса № 2 — характерна симметричным валентным колебаниям метильных и метиленовых функциональных групп органических соединений. Как показала статистическая обработка, эта полоса обладает самым большим смещением по энергии от серии к серии и составляет 2912,3 см<sup>-1</sup> ± 2,0 %. Это заметно при исследовании методом Б.

2. Полоса № 5 — характерна валентным колебаниям карбонильных групп органических соединений, и диапазон проявления этих колебаний составил 1649,4 см<sup>-1</sup> ± 0,6 %.

3. Полоса № 15 — характерна для деформационных колебаний метиленовых групп, которые проявляются в диапазоне 1335,3 см<sup>-1</sup> ± 0,2 %.

4. Полоса № 17 — характерна для деформационных колебаний метильных групп, которые проявляются в диапазоне 1239,3 см<sup>-1</sup> ± 0,7 %.

5. Полоса № 20 — характерна деформационным колебаниям метильных групп, которые проявляются в диапазоне  $1151,4 \text{ см}^{-1} \pm 0,6 \%$ .

6. Полоса № 22 — характерна валентным колебаниям аминогрупп, которые проявляются в диапазоне  $1103,8 \text{ см}^{-1} \pm 0,2 \%$ .

7. Полоса № 24 — характерна валентным колебаниям гидроксильных групп, которые проявляются в диапазоне  $1075,1 \text{ см}^{-1} \pm 0,5 \%$ .

8. Полоса № 25 — характерна валентным колебаниям карбогидратных циклов, которые проявляются в диапазоне  $1019,9 \text{ см}^{-1} \pm 0,5 \%$ .

9. Полоса № 34 — характерна валентным колебаниям йодпроизводных, которые проявляются в диапазоне  $524,5 \text{ см}^{-1} \pm 1,9 \%$ . Данная полоса проявляется в низкочастотном диапазоне видимого излучения и может быть определена только первым методом.

УФ спектр субстанции ФС-1 показал ряд электронных переходов, повторяющихся во всех исследованных сериях. Всего определено пять электронных переходов. Из них второй, третий и четвертый имеют как максимумы, так и минимумы. Первый переход обладает только минимумом, а пятый — только максимумом. Для отнесения рассмотрены только максимумы. Второй переход наблюдался при  $352 \text{ нм} \pm 0,3 \%$ , характерен для перехода  $I_2 \pi^* \rightarrow \sigma^*$ . Третий переход наблюдался при  $288 \text{ нм} \pm 0,7 \%$ , характерен для перехода  $I_n^- \sigma^* \rightarrow H_2O$ . Четвёртый переход наблюдался при  $224 \text{ нм} \pm 0,4 \%$ , характерен для образования внутримолекулярных и межмолекулярных водородных связей  $OH \cdots OS$ . Пятый переход наблюдался при  $194 \text{ нм} \pm 3,1 \%$ , характерен для нескольких электронных взаимодействий, а именно для  $\pi-\pi^*$  перехода  $C=O$ ;  $n-\sigma^* C-O-C$  и  $n-\sigma^* C-OH$ . Интерес для идентификации по УФ спектру представляют второй и пятый переходы. Полосы электронных переходов растворов исследуемых серий субстанции ФС-1 представлены в таблице 2.

Т а б л и ц а 2

УФ спектры субстанции ФС-1

Серия субстанции / Компонент	Полосы электронных переходов, нм							
	1	2		3		4		5
	min	max	min	max	min	max	min	max
ФС-1 (серия 01110113)	–	352	323	287	260	224	212	192
ФС-1 (серия 02110113)	–	352	321	287	259	225	211	197
ФС-1 (серия 03170113)	–	352	321	288	260	225	211	194
ФС-1 (серия 04180113)	408	351	318	290	258	224	213	197
ФС-1 (серия 01130312)	409	352	391	288	261	224	213	192

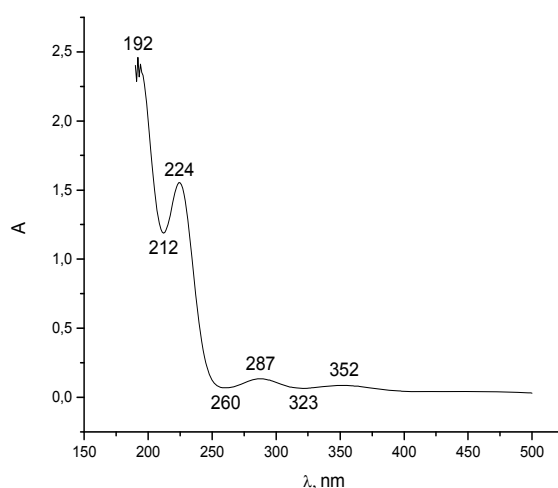


Рисунок 2. Общий спектр субстанции ФС-1

### Выводы

В результате проведенного исследования было установлено, что данные спектральных методов анализа субстанции ФС-1 дают надёжную информацию о строении соединения и могут быть исполь-

зованы для идентификации субстанции ФС-1 в разделе «Подлинность», как рекомендовано в Государственной фармакопее Республики Казахстан [7].

Идентификацию субстанции по УФ спектру необходимо проводить по результатам записи УФ спектра 0,05 % раствора в диапазонах от 500 до 190 нм, по ИК спектру приготовленной KBr-таблетки или полученному на приставке методом внутреннего отражения. Субстанцию ФС-1 следует считать подлинной, если ИК спектр содержит полосы поглощения в диапазонах: 2959,2÷2888,5; 1658,0÷1642,2; 1336,9÷1323,9; 1259,2÷1229,5; 1156,0÷1147,8; 1106,9÷1102,2; 1070,1÷1081,4; 1023,7÷1015,5; 529,1÷510,3 см<sup>-1</sup>, а также максимумы в диапазонах: 350÷353; 286÷291 и 223÷226 нм.

#### Список литературы

- 1 Британская фармакопея. — 5-е изд. — Лондон: Stationery Office, 2001. — 227 с.
- 2 Европейская фармакопея. — 4-е изд. — Страсбург: Council of Europe, 2002.
- 3 Фармакопея США. Национальный формуляр: USP 27-NF 22. — Роквил, Мэриленд: United States Pharmacopeial, 2004.
- 4 Арзамасцев А.П., Садчикова Н.П., Титова А.В. Современное состояние проблемы применения ИК-спектроскопии в фармацевтическом анализе лекарственных средств // Хим.-фарм. журн. — 2008. — Т. 42, № 8. — С. 47–51.
- 5 Ильин А.И., Кулманов М.Е. Патент № 2010/1816.1, РК. — 2010. 30 дек.
- 6 Баринов Д.В., Калыкова А.С., Сакипова З.Б. Изучение некоторых физических и технологических характеристик субстанции ФС-1 // Вестн. КазНМУ. — Алматы, 2013. — № 5(3). — С. 82–85.
- 7 Государственная фармакопея Республики Казахстан. — Т. 1. — Алматы: Жібек жолы, 2008. — 592 с.

Д.В.Баринов, Ә.С.Қалықова, З.Б.Сақыпова

#### ФС-1 субстанциясын спектралды әдіспен идентификациялау

Мақалада ФС-1 субстанциясын спектралды әдіспен идентификациялау зерттеулерінің қорытындылары көрсетілген. Субстанцияның УК спектрінің идентификациясын УК спектрінің 0,05 % ертіндісінің 500-ден 190 нм дейінгі диапазонда, ИҚ спектрі дайындалған KBr-таблеткаларымен немесе сүйеуде алынған ішкі шағылыс қорытындыларының жазбасы бойынша жүргізу қажет.

D.V.Barinov, A.S.Kalykova, Z.B.Sakipova

#### Identification of FS-1 substance by spectral methods

The article presents the results of study on the identification of FS-1 substances by spectral methods. It was established that the identification of substance by UV spectrum should be carried out on the results of recording the UV spectrum of a 0.05 % solution in the range from 500 to 190 nm, in the infrared spectrum in prepared KBr-tablets or received on the device by the internal reflection.

#### References

- 1 British Pharmacopoeia, 5th ed., London: Stationery Office, 2001, 227 p.
- 2 European Pharmacopoeia, 4th ed., Strasbourg: Council of Europe, 2002.
- 3 The United States Pharmacopoeia, USP 27-NF 22, Rockville, Maryland: United States Pharmacopeial, 2004.
- 4 Arzamascev A.P., Sadchikova N.P., Titova A.V. *Chem.-pharm. J.*, 2008, 42, 8, p. 47–51.
- 5 Il'in A.I., Kulmanov M.E. *Patent Appl. № 2010/1816.1*, Republic of Kazakhstan, 2010, 30 Dec.
- 6 Barinov D.V., Kalykova A.S., Sakipova Z.B. *Bull. KazNMU*, Almaty, 2013, 5(3), p. 82–85.
- 7 State Pharmacopoeia of Republic of Kazakhstan, 1, Almaty: Zhybek zholy, 2008, 592 p.