

УДК 54.063

## ОЦЕНКА РАЗМЕРА И ФОРМЫ ЧАСТИЦ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ СУБСТАНЦИЙ МИКРОСКОПИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

Новик Е.С., Доренская А.В., Борисова Н.А., Гунар О.В.

*ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения»*

*Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, e-mail: Novik@expmed.ru*

С использованием метода микроскопии были изучены формы частиц фармацевтических субстанций 26 наименований, предложен модифицированный подход к классификации частиц по форме с включением дополнительной группы частиц – «призмы». Описана методика приготовления микропрепаратов, фотографирования частиц и обработки изображений с помощью программы ВидеоТест-Размер 7.0. Приведены сравнительные характеристики форм частиц субстанций в соответствии с требованиями ГФ XIII издания и американской фармакопеи. В группах субстанций с различной формой частиц определен фракционный состав порошков. Отмечается важность определения размеров не только доминирующей фракции, но и всех значимых фракций порошков изучаемых субстанций. Выявлена необходимость изучения и классификации форм и размеров частиц фармацевтических субстанций, показана целесообразность включения этих требований в нормативную документацию производителя.

**Ключевые слова:** фармацевтические субстанции, размер частиц, форма частиц, метод микроскопии, классификация частиц

## ASSESSMENT OF PARTICLE SIZE AND SHAPE OF FARMACEUTICAL SUBSTANCES WITH MICROSCOPIC TECHNIQUE

Novik E.S., Dorenskaya A.V., Borisova N.A., Gunar O.V.

*Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, e-mail: Novik@expmed.ru*

Particle shapes of 26 names of pharmaceutical substances have been studied with the microscopic technique. Modified approach to particle classification by shape which uses additional particle group «prisms» has been proposed. Methods for prepare micropreparates, to make its photoes, digital picture processing with VideoTest-Size 7.0 programme has been described. Comparative characteristics of particle size and shape of substances in accordance with the demands of current pharmacopoeias have been performed. Importance particle size of different fraction detection has been established. The need to study and classify particle size and shape of pharmaceutical substances has been revealed. Practicability of inclusion of these requirements in manufacturer's regulatory documents has been shown.

**Keywords:** pharmaceutical substances, particle size, particle shape, microscopic technique, particle classification

Необходимость изучения физико-химических и технологических характеристик фармацевтических субстанций и вспомогательных веществ, а также оценки их физического состояния, в частности размеров частиц и их морфологии (формы и вида поверхности), сегодня не вызывает сомнений [1, 7, 8]. Форма и размер частиц определяют большинство технологических характеристик порошков, таких как насыпная масса, сыпучесть, угол откоса, пресуемость, электризуемость, что, в свою очередь, сказывается на качестве готовой лекарственной формы (ЛФ) [4]. Форма частиц может оказывать влияние на процесс обработки и на свойства конечного продукта, например на текучесть или абразивность [7].

Дисперсность лекарственных веществ (ЛВ) имеет непосредственное отношение к их терапевтическому эффекту: с уменьшением размера частиц увеличивается поверхностная энергия измельчаемого ЛВ, которое

лучше растворяется, быстрее и полнее участвует в химических реакциях. От размера частиц зависит скорость и полнота всасывания ЛВ, его концентрация в биожидкостях при любых способах назначения в виде различных ЛФ. Так, например, противовирусный препарат Ацикловир в форме мази проявляет свое терапевтическое действие лишь при размере его частиц в готовой форме не более 50 мкм [6].

В работе Е.К. Гузева и др. [3] показано, что при сходном составе пяти серий крема Клотримазол в каждой из них обнаружены кристаллы разных размеров и форм, при этом изученные серии были изготовлены из субстанций разных производителей. Измерение размеров кристаллов показало, что препараты отличаются по долевого распределению частиц разных размеров.

Применение метода оптической микроскопии для выявления различий форм и размеров кристаллов лекарственных субстанций в препаратах от разных производителей

позволяет при необходимости либо выявить фальсификат, либо подтвердить авторство истинного производителя.

Показатель «Размер частиц» характеризует качество препарата, а также подтверждает правильность проведения технологического процесса. Например, при выборе оптимального состава и технологии производства таблеток пара-аминосалициловой кислоты (ПАСК) было установлено, что свойства субстанций разных серий одной и той же фирмы отличаются, в частности, по форме и размеру частиц, контроль которых не предусмотрен нормативной документацией (НД) фирм-изготовителей. Именно поэтому изучение таких характеристик субстанций является одной из важных стадий исследований при разработке ЛФ препарата, так как от результата этих исследований зависит выбор технологии и основных параметров процесса получения таблеток [5].

Наибольшее влияние на технологические свойства порошков оказывает доминирующая фракция, однако в работах, проведенных на химико-фармацевтическом комбинате «Акрихин» авторы показали, что характеристика всех значимых фракций порошка необходима не только для стабилизации технологических параметров производства таблеток, но и повышения качества таблеток [4].

В настоящее время действующая Государственная фармакопея XIII издания (ГФ XIII изд.), НД фирм-производителей фармацевтических субстанций в основном не предусматривает требования к размеру частиц. Это приводит к тому, что субстанции, удовлетворяющие требованиям к качеству по имеющимся в НД показателям, оказываются порой непригодными для получения качественной ЛФ [4].

Показатель «Размер частиц» включен в крайнее ограниченное число НД, а именно на субстанцию папаверина гидрохлорид (страна-производитель – Италия), эналаприла малеат (Индия), сальбутамол (Россия), кальция полистиролсульфонат (Япония), валсартан (Венгрия). При этом требования к размеру частиц и рекомендуемые методы не стандартизованы.

**Целью представленной работы** является изучение формы и размеров частиц фармацевтических субстанций с помощью метода микроскопии.

#### **Материалы и методы исследования**

Объектами исследования явились отечественные и зарубежные фармацевтические субстанции 26 наименований, используемые для производства различных ЛФ.

*Методика приготовления микропрепарата.* На предметное стекло наносили небольшое количество порошка субстанции (примерно 0,01 г), добавляли каплю иммерсионного масла, равномерно распределяли смесь стеклянной палочкой, накрывали покровным стеклом, аккуратно придавливали, избегая сильного нажима. Препарат закрепляли на предметном столике микроскопа, частицы изучали при увеличениях  $\times 100$  или  $\times 200$ , в зависимости от размера частиц каждой субстанции. Если размер частиц находился в широком диапазоне, измерение и фотографирование проводили последовательно при двух увеличениях, что давало возможность охарактеризовать форму частиц и определить средний линейный размер всех фракций. Увеличение подбирали так, чтобы измеряемые изображения частиц имели размер не менее 1 мкм.

*Оборудование.* Определение формы и размера частиц исследуемых субстанций проводили при помощи оптического микроскопа Olympus BX41 (Япония) (диапазон увеличений  $\times 100 - \times 400$ ) с дополнительным источником освещения – Olympus KL 1500. Для документирования и обработки изображений использовали программу «ВидеоТест – Размер 7.0» (г. Санкт-Петербург), предварительно фотографируя три поля зрения с помощью цифровой фотокамеры DP-20.

#### **Результаты исследования и их обсуждение**

##### *Форма частиц фармацевтических субстанций*

Рассмотрение большого количества образцов субстанций показало, что все многообразие форм их кристаллов в плоскостной проекции может быть сведено к нескольким геометрическим фигурам. При этом необходимо отметить, что некоторые порошки могут содержать кристаллы разных форм и/или их фрагменты. Существование в практике большого количества методов для оценки формы частиц, которые часто дают несопоставимые результаты, вызывает трудности в понимании важности и необходимости проведения такого рода исследований. На данном этапе более приемлемым методом оценки формы частиц фармацевтических порошков можно считать метод, описанный в ГФ XIII изд., ОФС.1.2.1.0009.15 «Оптическая микроскопия» [2], требования которой гармонизированы с подобной статьей USP38-NF33 [9]. В ГФ XIII изд. приведена форма 6 групп частиц кристаллических порошков (рисунок).

Ряд авторов [4] предлагают внести некоторую корректировку в описание формы частиц групп 3, 4 и 5, а именно: термины «колоннообразные», «чешуйчатые», «пластинчатые» дополнить соответственно терминами «палочковидные», «пластинчатые» и «пластинчатые – объемные». Вместо 6-й группы (планкообразные) предлагается ввести новую группу – призматические и пирамидальные частицы, так как такая форма

частиц достаточно широко представлена на рынке фармацевтических субстанций и вспомогательных веществ.

На рисунке представлены частицы следующей формы:

1 – равносторонние: частицы с одинаковой длиной, шириной и толщиной, включая кубические и сферические частицы;

2 – игольчатые: тонкие, похожие на иглу частицы, или сходные с ней по соотношению длины и толщины;

3 – колоннообразные: длинные тонкие частицы с шириной и толщиной больше, чем игольчатые;

4 – чешуйчатые: тонкие, плоские с одинаковой шириной и длиной;

5 – пластинчатые: плоские, одинаковые по длине и ширине, но с большей толщиной, чем чешуйчатые;

6 – планкообразные: крупные, тонкие, пластинчатые частицы.

Частицы могут быть иной, неопределенной формы.

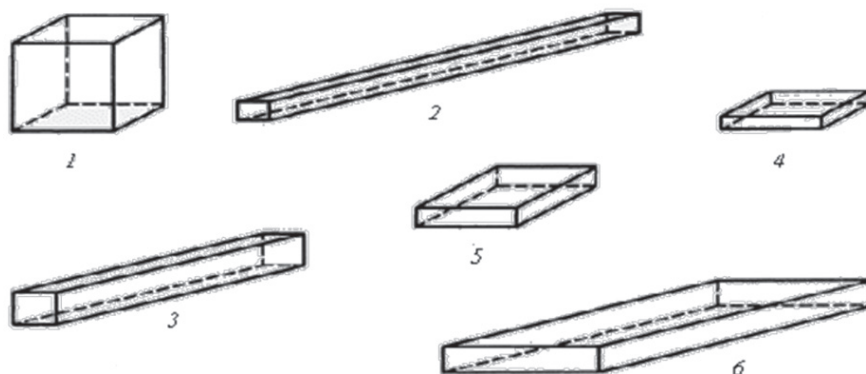
В фармакопее США те же группы частиц описываются следующими терминами: 1 – изодиаметрическая – частица примерно равной длины, ширины и толщины, включаются как кубические, так и сферические частицы; 2 – игольчатая – узкая иглообразная частица примерно равной ширины и толщины; 3 – колоннообразная – длинная, тонкая частица с шириной и толщиной большей, чем у игольчатой частицы; 4 – хлопьевидная – тонкая плоская частица примерно равной длины и ширины; 5 – пластинчатая – плоские частицы примерно равной длины и ширины с большей толщиной, чем у хлопьевидных; 6 – лейста – длинная тонкая лезвиеподобная частица.

Нами была изучена форма частиц 26 наименований фармацевтических субстанций.

Среди них было выявлено 7 основных форм, 6 из которых нам удалось разделить на группы согласно ГФ XIII изд. В изученных субстанциях преобладали частицы колоннообразной (включая палочкообразную) и пластинчатой формы – по 32%. Далее в порядке убывания: сферические – 16%, чешуйчатые – 12% и по 4% – игольчатых и планкообразных. В название группы № 3 (колоннообразная форма) нами было внесено уточнение («колоннообразная, включая палочкообразную»), так как форму частиц ряда субстанций (например, кетотифен, белсеразида гидрохлорид) можно более точно описать термином «палочки», чем «колонны». По этой причине мы предлагаем группе «колоннообразные» дополнить термином «палочкообразные». Частицы ряда субстанций имели другую форму, например призматическую (рисперидон, пираретам), в связи с чем мы выделили их в отдельную дополнительную группу (№ 7).

В табл. 1 представлена классификация частиц по форме основной фракции, в правом столбце присутствуют фотографии частиц некоторых субстанций из каждой группы.

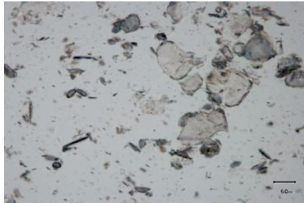
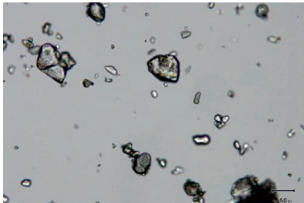
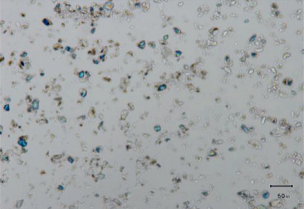
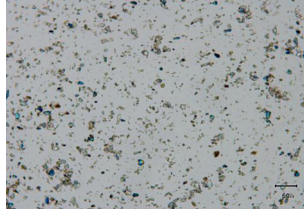

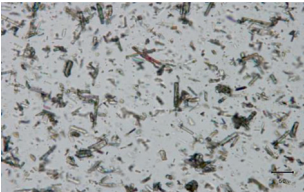
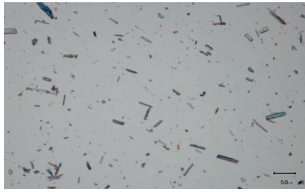
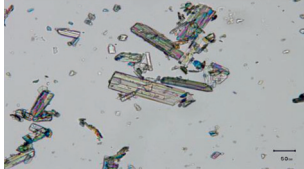

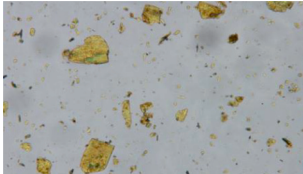
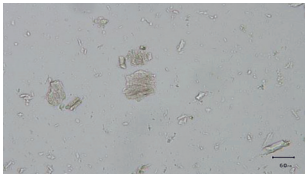
Согласно полученным данным, некоторые субстанции состояли в основном из частиц одной формы (порошок магния аспарагината – сферической, мемантина гидрохлорида – игольчатой, биспролола – пластинчатой, флуоксетина – колоннообразной и т.д.). В других субстанциях отмечали наличие двух или нескольких видов частиц различной формы: так, в порошке субстанции валсартан были обнаружены частицы чешуйчатой и палочкообразной формы, составлявшие 57% и 43% от общего числа частиц соответственно. В субстанции янтарной кислоты в основном наблюдались кристаллы планкообразной формы в присутствии палочек.



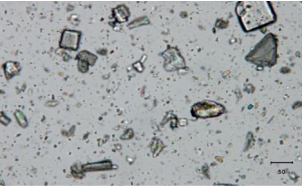
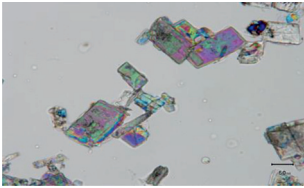
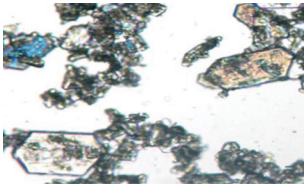
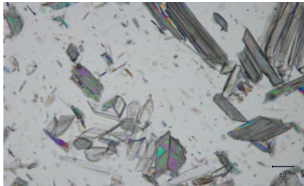
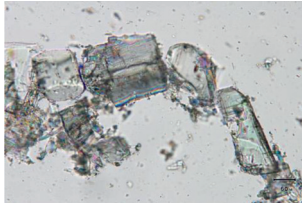
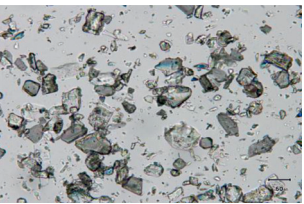
Форма частиц согласно ГФ XIII изд.

Таблица 1

Классификация фармацевтических субстанций по форме частиц основной фракции

Форма частиц	Название субстанций	
1	2	
№ 1 сферическая:  борная кислота, винпоцетин, диазолин, магния аспарагинат		
	Борная кислота	Винпоцетин
		
	Магния аспарагинат	Диазолин
№ 2 игольчатая:  мемантина гидрохлорид		
	Мемантина гидрохлорид	
№ 3 колоннообразная (включая палочкообразную): бенсерзида гидрохлорид, галодиф, ипратропия бромид, карведилол, кетотифен, лоратадин, фенибут, флуоксетина гидрохлорид		
	Кетотифен	Бенсерзида гидрохлорид
		
	Карведилол	Флуоксетина гидрохлорид
№ 4 чешуйчатая:  валсартан, клопидогрел, фурацилин		
	Фурацилин	Валсартан

Окончание табл. 1

1	2
<p>№ 5 пластинчатая: альфа-липоевая кислота, аскорбиновая кислота, бисопролола фумарат, инсулин, парацетамол, торасемид, фамцикловир</p>	<div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="text-align: center;">  <p>Аскорбиновая кислота</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>Бисопролола фумарат</p> </div> </div> <div style="text-align: center; margin-top: 20px;">  <p>Торасемид</p> </div>
<p>№ 6 планкообразная: янтарная кислота</p>	<div style="text-align: center;">  <p>Кислота янтарная</p> </div>
<p>№ 7 призматическая: пирацетам, рисперидон</p>	<div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="text-align: center;">  <p>Пирацетам</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>Рисперидон</p> </div> </div>

Таким образом, при всем многообразии форм частиц фармацевтических субстанций нам удалось охарактеризовать их в соответствии с требованиями ГФ XIII изд. Дополнительно мы предлагаем ввести группу частиц призматической формы, так как она достаточно часто встречается.

Наличие на фармацевтическом рынке большого количества субстанций, состоящих из разнообразных кристаллических форм, свидетельствует о необходимости их изучения с целью обоснованного выбора субстанций надлежащего качества для производства готовых ЛФ. На данном этапе необходимо рекомендовать производителям постепенно включать эти требования в НД на субстанции.

*Размер частиц фармацевтических субстанций*

Вторая часть исследований касалась изучения размера частиц субстанций, которые были поделены на 7 групп (табл. 2).

Из данных, приведенных в таблице, видно, что фракция с самыми малыми размерами (менее 10 мкм) определяется в порошках с частицами только сферической формы. Судя по форме частиц, можно предположить, что такие порошки (например, диазолин, магния аспарагинат) будут обладать оптимальными технологическими характеристиками, что подтверждается данными литературных источников [7].

Размер большинства частиц изученных субстанций с игольчатой, колонно-

бразной (палочкообразной) и чешуйчатой формой (группы 2, 3 и 4 соответственно) колебался в диапазоне от 10 до 100 мкм, причем большее количество частиц приходилось на группу с размерами от 10 до 50 мкм. Частицы более 100 мкм в этих группах обнаружены только в порошках флуоксетина и карведилола (22 и 15 % от общего числа частиц, соответственно). Размеры частиц субстанций пластинчатой формы (группа 5) колебались в более широких диапазонах по сравнению с предыдущими группами: размеры частиц 50 % субстанций находились в основном в пределах от 10 до 50 мкм, однако в субстанциях биспролола и альфа-липоевой кислоты встречались частицы размером более 100 мкм (81 и 26 % соответственно). Группа 6 (планкообразная форма частиц) пред-

ставлена в наших исследованиях только одной субстанцией – янтарной кислотой. Все частицы планкообразной формы были крупными – более 100 мкм: размер самой мелкой из этих частиц составлял 114 мкм, самой крупной – 443 мкм.

Следует отметить, что в порошке янтарной кислоты также встречаются частицы палочкообразной формы, большая часть которых имеет размеры от 10 до 50 мкм. В группе субстанций с частицами призматической формы (группа 7) встречались частицы размером от 10 до 100 мкм (при этом в рисперидоне 71 % составляли частицы от 10 до 50 мкм), тогда как частицы субстанции пирацетам в основном представляли собой крупные кристаллы призматической формы размером более 100 мкм (86 % частиц).

Таблица 2

Соотношение частиц различных размеров в изученных фармацевтических субстанциях

Наименование субстанции	Размер частиц, мкм			
	менее 10	10–50	50–100	более 100
группа 1 – частицы сферической формы				
Диазолин	97%	3%	–	–
Магния аспарагинат	16%	84%	–	–
Борная кислота	50%	28%	16%	6%
Винпоцетин	5%	66%	17%	2%
группа 2 – частицы игольчатой формы				
Мемантина гидрохлорид	–	94%	6%	–
группа 3 – частицы колоннообразной и палочкообразной формы				
Кетотифен	2%	76%	20%	2%
Фенибут	–	99%	1%	–
Флуоксетина гидрохлорид	–	41%	37%	22%
Карведилол	–	81%	4%	15%
Бенсеразид гидрохлорид	75%	19%	6%	–
Лоратадин	–	–	87%	13%
группа 4 – частицы чешуйчатой формы				
Инсулин	–	62%	38%	–
Клопидогрел	–	85%	15%	–
Валсартан	–	–	50%	50%
группа 5 – частицы пластинчатой формы				
Торасемид	–	90%	10%	–
Фамциклоvir	–	100%	–	–
Биспролол	–	–	19%	81%
Альфа-липоевая кислота	–	21%	53%	26%
Аскорбиновая кислота	–	70%	25%	5%
группа 6 – частицы планкообразной формы				
Янтарная кислота	–	–	–	100%
дополнительная группа 7 – частицы призматической формы				
Рисперидон	–	71%	29%	–
Пирацетам	–	–	14%	86%

### Заключение

Изучение размеров и формы частиц имеет важное значение для характеристики технологических свойств субстанций при разработке состава различных готовых лекарственных форм, обеспечивая необходимую биодоступность и, соответственно, эффективность, стабильность при хранении и безопасность лекарственного препарата.

Метод микроскопии с программным обеспечением является доступным и достаточно точным для определения линейных размеров и форм частиц, в связи с чем его можно рекомендовать для оценки качества фармацевтических субстанций.

Наличие на фармацевтическом рынке большого количества субстанций, состоящих из разнообразных кристаллических форм, свидетельствует о необходимости изучения последних с целью обоснованного выбора субстанций надлежащего качества для производства готовых ЛФ. Целесообразно включать требования, характеризующие размер и форму частиц субстанций, в НД.

### Список литературы

1. Высокоэффективные технологии измерения формы и размера частиц при разработке и обеспечении качества твердых лекарственных форм. Фармацевтическая отрасль – 2013. – № 3(38). – С. 96–100.
2. Государственная фармакопея Российской Федерации. 13-е изд. Т. 1. ОФС.1.2.1.0009.15 «Оптическая микроскопия». Available from: <http://femb.ru/feml>.
3. Гузев Е.К., Гузев К.С., Раменская Г.В. Изучение показателей «Размер частиц» и «Дисперсность эмульсий» в препаратах-дженериках клотримазола. Фармация. – 2014. – № 5. – С. 28–34.
4. Емшанова С.В., Абрамович Р.А., Потанина О.Г. Влияние формы и размера частиц субстанций на качество готовых лекарственных средств. Научно-производственный журнал. – 2014. – № 7. – С. 45–63.
5. Емшанова С.В., Рябова Л.К., Зуев А.П., Тюляев И.И., Садчикова Н.П. Разработка таблетированной формы противотуберкулезного препарата. Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2005. – № 2. – С. 173–8.
6. Емшанова С.В., Садчикова Н.П., Зуев А.П. О контроле размера и формы частиц лекарственных веществ. Химико-фармацевтический журнал. – 2007. – № 41(1). – С. 41–49.
7. Accuracy of particle analysis impacts manufacturing process and final product. Available from: <http://www.pharmaceuticalonline.com>.
8. Particle shape – an important parameter in pharmaceutical manufacturing. Malvern Instruments Ltd. Category: Pharmaceutical Manufacturing.
9. United States Pharmacopeia. 38th ed. 2016. Available from: <http://www.uspnf.com>.