

УДК 615.07:665.213

<https://www.doi.org/10.34907/JPQAI.2023.31.63.003>

ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ СКАНИРУЮЩАЯ КАЛОРИМЕТРИЯ В АНАЛИЗЕ РЫБЬЕГО ЖИРА ДЛЯ МЕДИЦИНСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ

В.В. Лопатин, кафедра Химии Института Фармации им. А.П. Нелюбина, ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» (Сеченовский университет), vasilii_rabota@mail.ru

А.Н. Фетисова, доктор фармацевтических наук, профессор кафедры Химии Института Фармации им. А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» (Сеченовский университет), doctor.fan01@gmail.com

Дифференциальная сканирующая калориметрия (ДСК) широко применяется для качественного и количественного анализа различных биологических веществ. Традиционно метод используется для определения термической и окислительной стабильности, а также для установления кристаллического полиморфизма, температуры плавления, холодной кристаллизации и стеклования. В данной работе исследовался представленный на российском рынке рыбий жир для медицинского применения отечественного и зарубежного производителей. В результате исследования были получены четкие кривые термограмм. Эти термограммы можно использовать в качестве «эталонов сравнения» для выявления бракованной партии лекарственного препарата в производстве. ДСК также может использоваться при анализе жирнокислотного состава рыбьего жира в качестве дополнительного метода анализа подлинности к фармакопейным методам.

Ключевые слова: дифференциальная сканирующая калориметрия, стандартизация, рыбий жир для лекарственного применения, жирно-кислотный состав.

ДСК используется в качестве метода контроля качества на производстве, поскольку с его

помощью можно определить чистоту образца и обнаружить наличие примесей, например, в лекарственной форме. Он дает обширную информацию о физических и энергетических свойствах веществ [1–6]. Метод ДСК вычисляет разницу между количеством тепла, необходимого для повышения температуры испытуемого образца, и количеством тепла, необходимым для повышения эталонной температуры. ДСК позволяет определять различные тепловые процессы. Учитывая свойства метода и воспроизводимость результатов анализа, он активно используется в фармацевтической промышленности, в частности, при оценке качества рыбьего жира. Обычно ДСК используют для определения температуры стеклования, кристаллизации или температуры плавления [3,7–8].

Целью настоящего исследования является изучение температурных характеристик и установление областей применения метода дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) в оценке качества субстанции рыбьего жира и лекарственных препаратов на его основе.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования служили образцы рыбьего жира 10 серий, обобщенные

результаты которых ниже будут представлены как серии А и В российского производства – ООО «Тульская фармацевтическая фабрика», и 6 серий производства «Тева Фармацесьютикал Воркс Прайвэт Лимитед Компани» (Венгрия), обобщенные результаты которых ниже будут представлены как серии С и D.

Рыбий жир представляет собой жирное масло, получаемое из печени рыб: трески атлантической – *Gadus morrhua* Linne, трески балтийской – *Gadus morrhua callarial* Linne, пикши – *Melanogrammus aeglefinus* L., путассу северной – *Micromesistius poutaoussou* (Risso) семейства тресковых – Gididae или печени макруруса тупорылого – *Coryphaenoides rupestris* G. семейства макрурусовые – Macrouridae, содержащее ретинол, колекальциферол и омега-3 жирные кислоты (эйкозопентаеновой кислоты – не менее 13%, докозагексаеновой кислоты – не менее 9%, сумма полиненасыщенных жирных кислот – не менее 28%), и применяемое в качестве лекарственного средства. Лекарственная форма препарата рыбьего жира отечественного производства – масло для приема внутрь, представляющее собой прозрачную маслянистую жидкость от светло-желтого до желтого цвета со специфическим непрогорклым запахом. Лекарственные формы препарата рыбьего жира производства Тева – мягкие желатиновые капсулы, заполненные желтым, прозрачным, без видимых частиц, слегка вязким маслом с характерным запахом.

Для анализа использовали определенный объем пробы каждого рыбьего жира. Навески исследуемых образцов (около 10 мг) помещали в алюминиевые тигли объемом 40 мкл.

Термический анализ

Термический анализ исследуемых образцов проводили с использованием дифференциального сканирующего калориметра DSC3+ Mettler Toledo при следующих температурных условиях:

- [1] 25,0– -80,0°C, – 3,00 К/мин, N2 50,0 мл/мин;
- [2] -80,0°C, 10,00 мин, N2 50,0 мл/мин;
- [3] -80,0–50,0°C, 5,00 К/мин, N2 50,0 мл/мин.

Необходимым условием проведения эксперимента с использованием метода ДСК является наличие системы, которая позволяет запрограммировать определенную температурную программу: линейное нагревание, при котором скорость остается постоянной, выдерживание в изотермическом режиме, резкое охлаждение объекта и затем нагревание с постоянной скоростью. С целью получения воспроизводимого результата все измерения проводились при постоянных условиях, при постоянной массе образца, а также при постоянном давлении в печи (рис. 1) [9].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При анализе рыбьего жира отечественного производства были выделены пики, соответствующие тепловому эффекту, в области

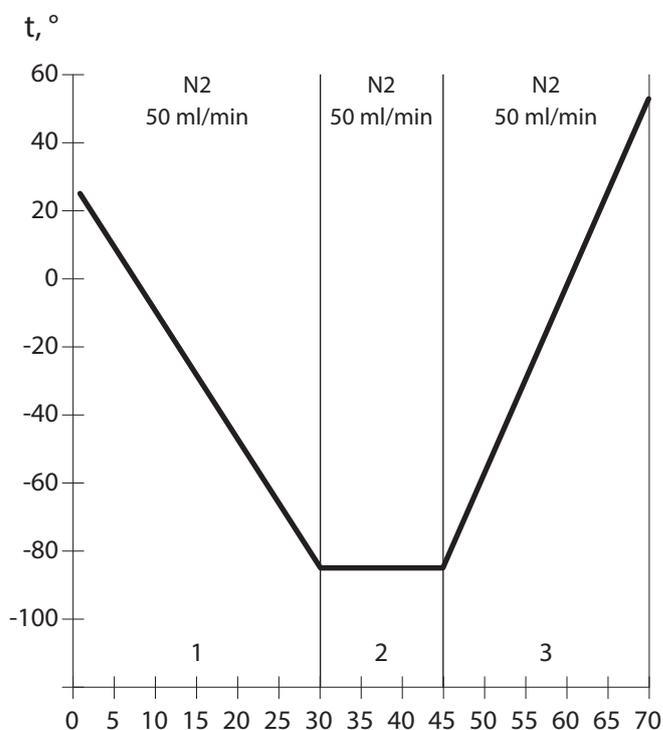


РИС. 1. Температурный режим исследования рыбьего жира для медицинского применения методом ДСК-анализа

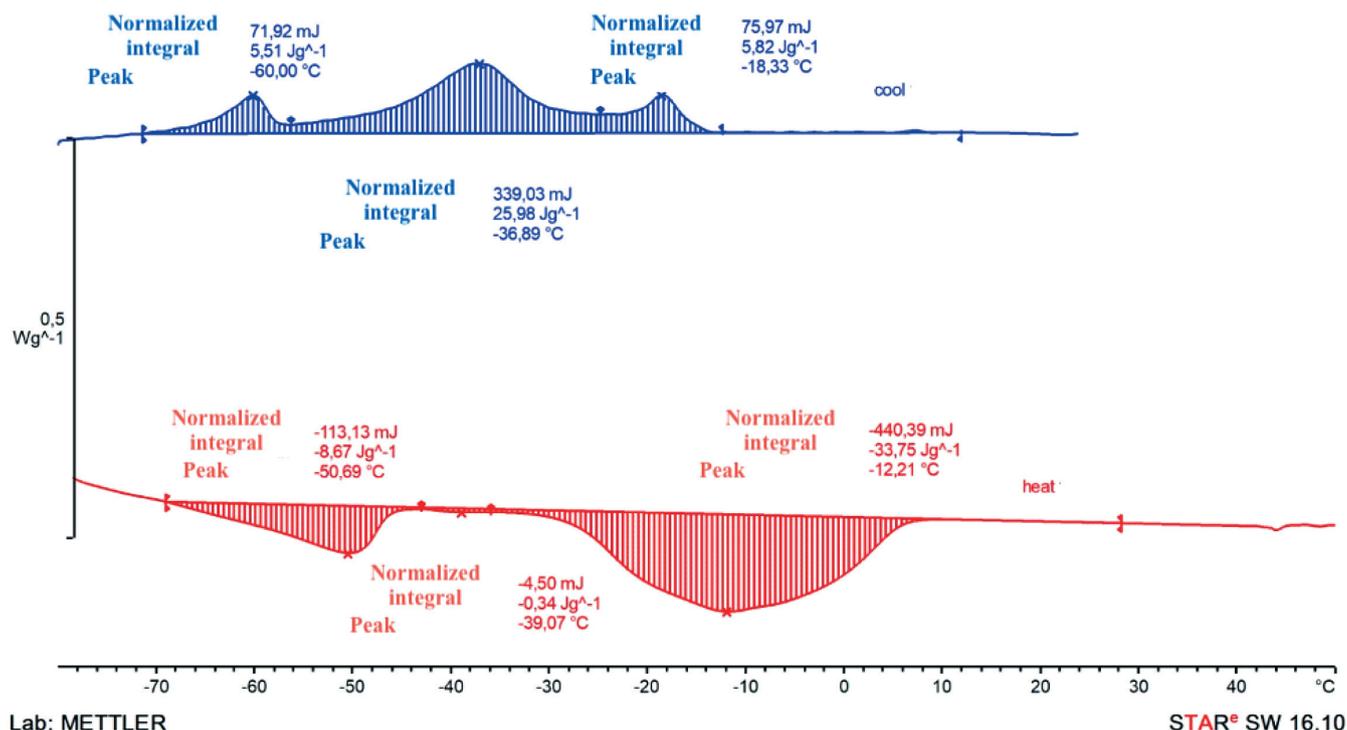


РИС. 2. Термограмма образцов рыбьего жира очищенного для внутреннего применения отечественного производства серии А

отрицательных температур: 1) минус 60,14°С – 12,21°С – минус 12,02°С. При анализе рыбьего жира иностранного производства пики, соответствующие тепловому эффекту, выявлены в области отрицательных температур: 1) минус

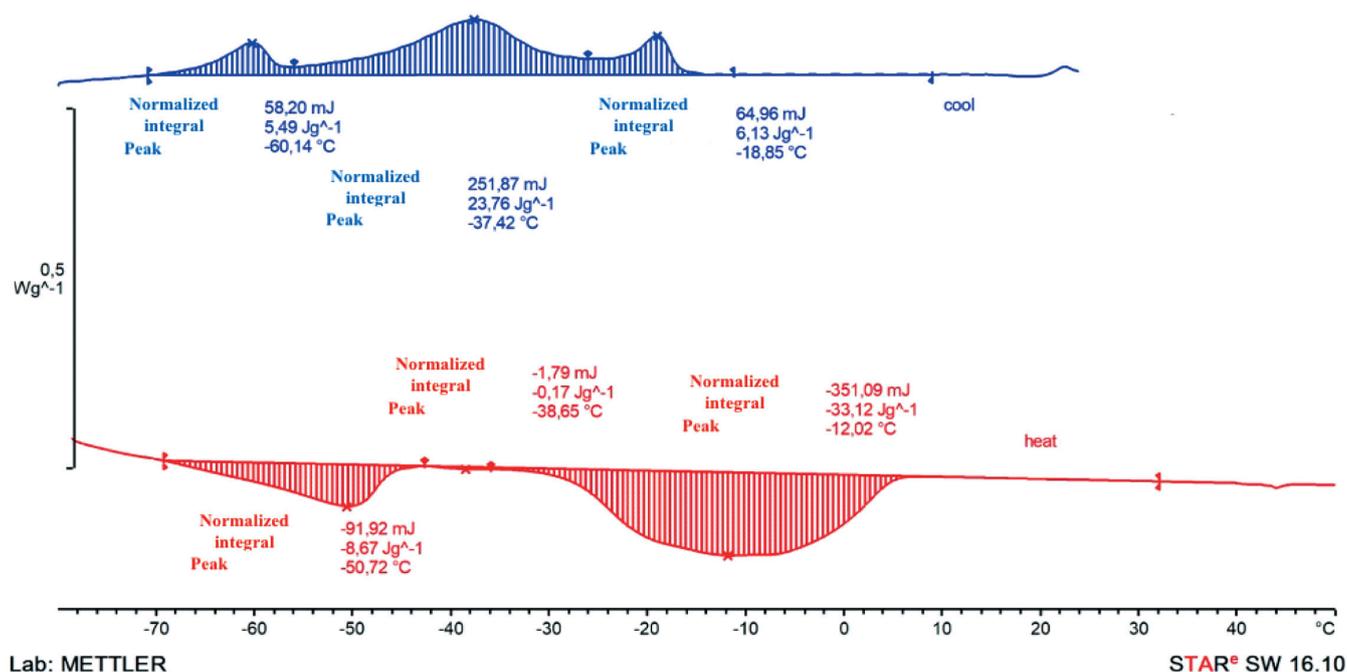


РИС. 3. Термограмма образцов рыбьего жира очищенного для внутреннего применения отечественного производства серии В

41,35°C – минус 40,57°C; (2) минус 38,70°C – минус 38,43°C; (3) минус 11,15°C – минус 10,40°C; (4) минус 6,26°C – минус 6,17°C.

На рис. 2 и 3 представлены термограммы образцов рыбьего жира очищенного для внутреннего применения отечественного производства серий А и В.

Проанализированные образцы рыбьего жира дают четкие графики термограммы. Установлено, что образцы исследованных серий рыбьего жира дают идентичные ДСК-кривые. Известно, что при анализе химических субстанций методом ДСК чем чище вещество, тем резче выражено отклонение от базовой линии и тем круче наклон получающегося пика, соответствующего тепловому эффекту. Рыбий жир является субстанцией природного происхождения, содержащей комплекс липофильных биологически активных веществ. Поэтому пики, соответствующие тепловым эффектам изученных образцов рыбьего жира, не имеют резко выраженного отклонения от базовой линии на полученных ДСК-кривых [8].

Проанализированные образцы рыбьего жира производства Тева также дают четкие

графики термограммы. Однако в отличие от ДСК-кривых препарата рыбьего жира отечественного производства на ДСК-кривых лекарственного препарата рыбий жир Тева более сильно выражено отклонение от базовой линии и круче наклон пика, что говорит о том, что препарат более очищен от примесей и сопутствующих веществ.

При сравнении термограмм видно, что число пиков в образце серии С совпадает с числом пиков образцов серии D. Из этого следует, что образцы двух серий не отличаются по своему составу (рис. 4).

На рис. 5 и 6 представлены термограммы образцов препарата рыбий жир Тева серий С и D.

Различие в термограммах препарата рыбьего жира отечественного производства и препарата рыбьего жира зарубежного производителя объясняется не только разным качественным составом активных компонентов, но и количественным. На кривизну графика и отклонение от базовой линии также могут влиять примеси, от которых вещество не было очищено.

При сравнении термограмм видно, что число пиков в образце серии С совпадает с числом

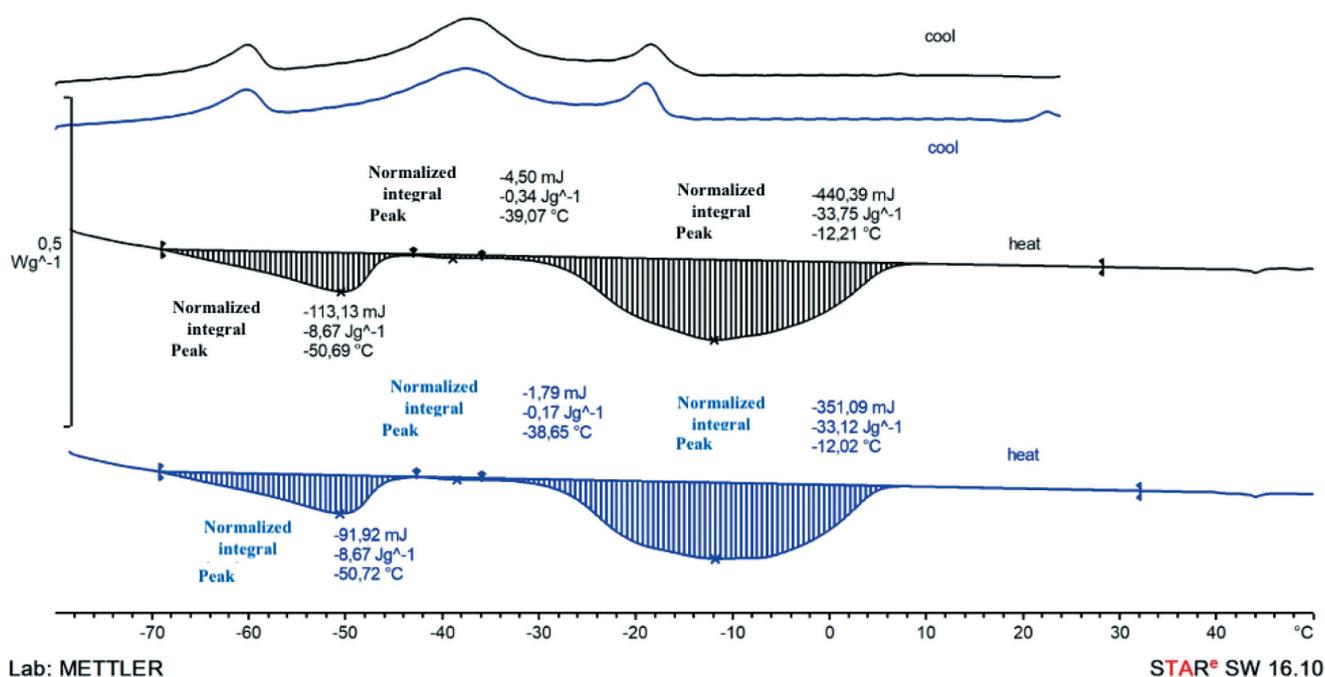


РИС. 4. Сравнение термограмм рыбьего жира отечественного производства серий А и В

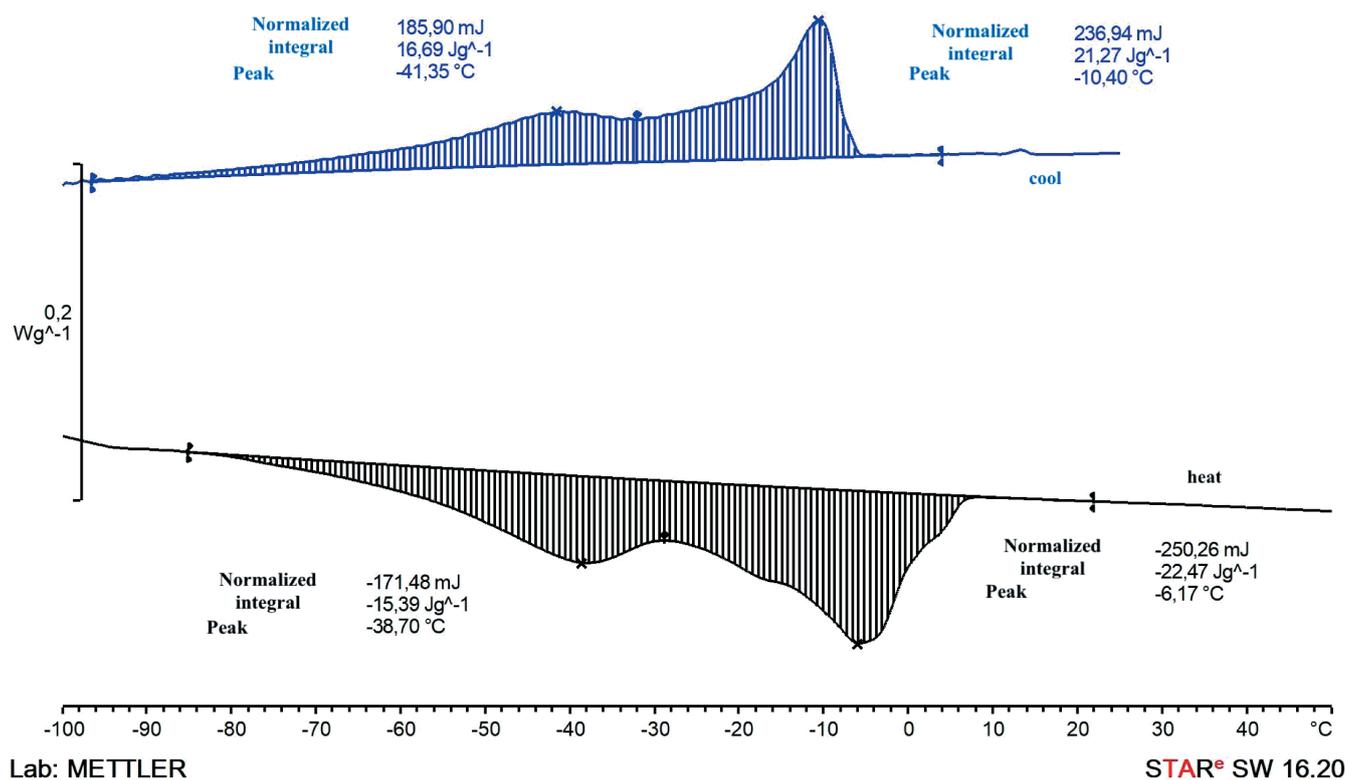


Рис. 5. Термограмма образцов рыбьего жира Тева серии С

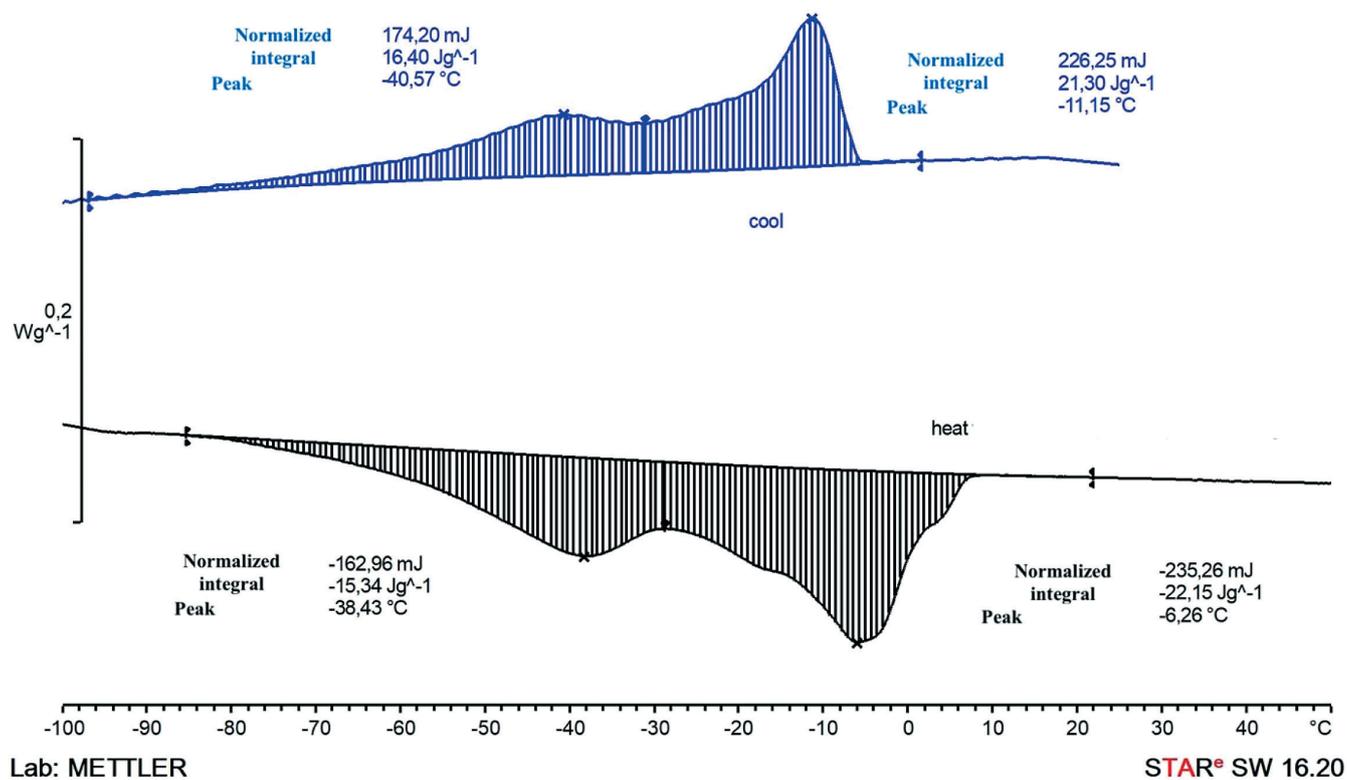


Рис. 6. Термограмма образцов рыбьего жира Тева серии D

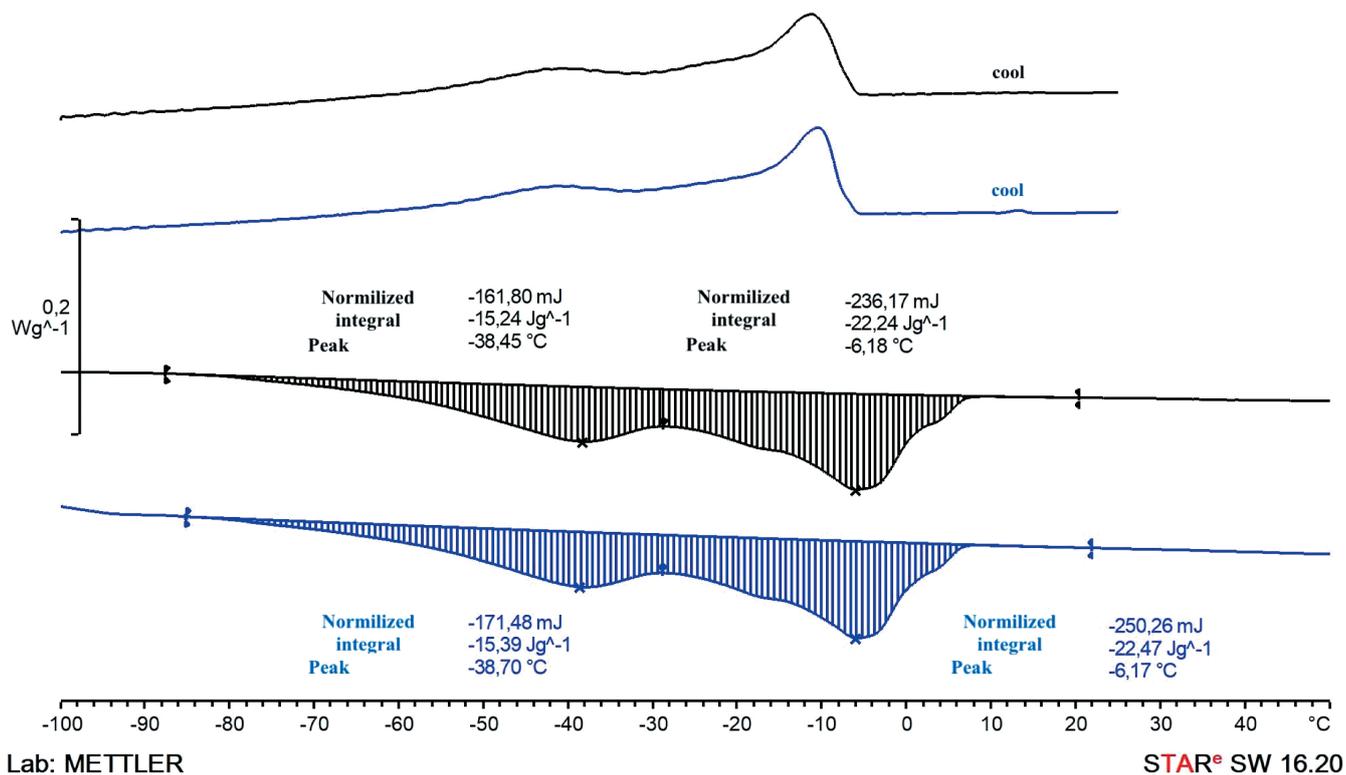


РИС. 7. Сравнение термограмм рыбьего жира производства Тева серий С и D

пиков образцов серии D. Из этого следует, что образцы двух серий не отличаются по своему составу (рис. 7).

ВЫВОДЫ

Анализ методом дифференциальной сканирующей калориметрии может использоваться в качестве дополнительной возможности оценки подлинности лекарственного препарата на основе рыбьего жира. Полученные в результате анализа термограммы могут быть использованы в качестве «эталона сравнения» в производстве, что может, с одной стороны, подтвердить качество того или иного лекарственного препарата, а с другой – полностью исключить необходимость использования основных методов оценки качества, если термограмма идентична ранее полученному «эталону». В дальнейших исследованиях метод может быть использован как метод оценки чистоты вещества.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Майоров А.А. Термический анализ жиров с использованием установки «Термоскан» / А.А. Майоров, Д.А. Усатнюк // *Food Processing: Techniques and Technology*. – 2017. – №46. – С. 55–59.
2. Giron D. Applications of thermal analysis in the pharmaceutical industry / D. Giron // *O. Pharm. Biomed. Anal.* – 1986. – Vol. 4, №6. – P. 755–770.
3. Monajjemzadeh F. Thermal Analysis Methods in Pharmaceutical Quality Control / F. Monajjemzadeh, F. Ghaderi // *J.Mol. Pharm. Org. Process. Res.* – 2015. – Vol. 3, №1. – P. 121. DOI: 10.4172/2329-9053.1000e121.
4. Bond L. Differential scanning calorimetry and scanning thermal microscopy analysis of pharmaceutical materials / L. Bond, S. Allen, M.C. Davies // *Int.J. Pharm.* – 2002. – Vol. 28, №243. – P. 71–82. DOI: 10.1016/s0378-5173(02)00239-9.
5. Li X. Chemical composition and thermal properties of Tilapia oil extracted by different

- methods. Chemical composition and thermal properties of Tilapia oil extracted by different methods / X. Li., J. Kao, X. Bai // *Int. J. of Food Properties*. – 2018. – Vol. 21, №1. – P. 1575–1585. <https://doi.org/10.1080/10942912.2018.1503302>
6. Hădărugă D.I. Thermal and oxidative stability of Atlantic salmon oil (*Salmo salar* L.) and complexation with β -cyclodextrin / D.I. Hădărugă, M. Ünlüsayın, A.T. Gruia // *Beilstein J. Org. Chem.* – 2016. – Vol. 12. – P. 179–191. DOI: 10.3762/bjoc.12.20
 7. Durowoju I.B. Differential Scanning Calorimetry – A Method for Assessing the Thermal Stability and Conformation of Protein Antigen / I.B. Durowoju, K.S. Bhandal, J. Hu // *Journal of Visualized Experiments*. – 2017. – Vol. 121. – P. 1–8.
 8. Lopatin V.V., Fetisova A.N. Differential scanning calorimetry in estimation of quality of fish oil substance and medicinal preparations based on it. Thesis, 27th Russian National Congress «Man and Medicine». – Moscow, 6–9 April 2020.
 9. Ершова О.В. Использование метода дифференциальной сканирующей калориметрии и термогравиметрического анализа для определения состава и температуры деструкции вторичных полимеров / О.В. Ершова, М.А. Мельниченко, К.В. Трифонова // *Успехи современного естествознания*. – 2015. – №11. – С. 26–30.

DIFFERENTIAL SCANNING CALORIMETRY IN THE STUDY OF FISH OIL FOR MEDICAL USE

V.V. Lopatin, A.N. Fetisova

Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia

Abstract: Differential Scanning Calorimetry is widely used for qualitative and quantitative analysis of different biological substances. Traditionally, the method is used to determine thermal and oxidative stability, as well as to establish crystalline polymorphism, melting point, cold crystallization, and glass transition. In this study there was investigated fish oil for medical use of domestic and foreign manufacturer, presented in Russian market. As the result of investigation clear thermogram curves were obtained. These thermograms can be used as a “standard of comparison” to identify a defective batch of a drug in production. DSC can also be used in the analysis of the fatty acid composition of fish oil as an additional method of authenticity analysis to pharmacopeial methods.

Keywords: differential scanning calorimetry, standardisation, fish oil for medical use, fatty acid composition