ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «САМАРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ» МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

МАРКИН ДМИТРИЙ НИКОЛАЕВИЧ

РАЗРАБОТКА МЕТОДИК КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ МЕТОДОМ ИК-ФУРЬЕ-СПЕКТРОМЕТРИИ НА ПРИМЕРЕ НЕКОТОРЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

Научный руководитель:
Воронин Александр Васильевич
доктор фармацевтических наук,
профессор

Самара – 2026

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ 5

ГЛАВА 1. АНАЛИТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ МЕТОДОМ ИК-СПЕКТРОМЕТРИИ (обзор литературы) 14

1.1. Методические подходы к количественному определению в ИК-спектрометрии 14

1.2. Пробоподготовка в ИК-спектрометрическом анализе 24

1.3. Программное обеспечение для ИК-спектрометрии. 28

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ 31

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ 31

2.1. Объекты исследования 31

2.2. Приготовление градуировочных и контрольных образцов кислоты ацетилсалициловой, кофеин-бензоата натрия и папаверина гидрохлорида 31

2.3. Анализ методом ИК-Фурье-спектрометрии в режиме НПВО 32

2.4. Обработка ИК-спектров 33

2.5. Математическое планирование пробоподготовки для ИК-спектрометрического анализа 34

2.6. Референтные методики анализа таблетированных лекарственных форм кислоты ацетилсалициловой, кофеин-бензоата натрия и папаверина гидрохлорида 34

2.7. Определение метрологических характеристик аналитических методик 37

2.8. Статистическая обработка результатов исследования 39

ГЛАВА 3. РАЗРАБОТКА МАТЕМАТИЧЕСКИХ (ГРАДУИРОВОЧНЫХ) МОДЕЛЕЙ ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ КИСЛОТЫ АЦЕТИЛСАЛИЦИЛОВОЙ, КОФЕИН-БЕНЗОАТА НАТРИЯ И ПАПАВЕРИНА ГИДРОХЛОРИДА МЕТОДОМ ИК-ФУРЬЕ-СПЕКТРОМЕТРИИ 40

3.1. Регистрация и предобработка ИК-спектрометрических данных (на примере количественного определения кислоты ацетилсалициловой, кофеин-бензоата натрия и папаверина гидрохлорида методом ИК-Фурье-спектрометрии) 42

3.2. Методы обработки ИК-спектрометрических данных и их автоматизация (на примере количественного определения кислоты ацетилсалициловой, кофеин-

бензоата натрия и папаверина гидрохлорида методом ИК-Фурье-спектрометрии) 50

Выводы по главе 3 61

ГЛАВА 4. РАЗРАБОТКА МЕТОДИК КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ МЕТОДОМ ИК-ФУРЬЕ-СПЕКТРОМЕТРИИ (НА ПРИМЕРАХ ОПРЕДЕЛЕНИЯ КИСЛОТЫ АЦЕТИЛСАЛИЦИЛОВОЙ, КОФЕИН-БЕНЗОАТА НАТРИЯ И ПАПАВЕРИНА ГИДРОХЛОРИДА В ТАБЛЕТИРОВАННЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМАХ) 63

4.1. Планирование пробоподготовки для методик количественного определения кислоты ацетилсалициловой, кофеин-бензоата натрия и папаверина гидрохлорида в таблетированных лекарственных формах 64

4.2. «Сборка» аналитических методик для количественного определения лекарственных веществ методом ИК-Фурье-спектрометрии 77

Выводы по главе 4 84

ГЛАВА 5. ВАЛИДАЦИЯ АНАЛИТИЧЕСКИХ МЕТОДИК КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ КИСЛОТЫ АЦЕТИЛСАЛИЦИЛОВОЙ, КОФЕИН-БЕНЗОАТА НАТРИЯ И ПАПАВЕРИНА ГИДРОХЛОРИДА В ТАБЛЕТИРОВАННЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМАХ МЕТОДОМ ИК-ФУРЬЕ-СПЕКТРОМЕТРИИ 86

5.1. Метрологические характеристики методик количественного определения кислоты ацетилсалициловой, кофеин-бензоата натрия и папаверина гидрохлорида в таблетированных лекарственных формах методом ИК-Фурье-спектрометрии 88

5.2. Сравнение метрологических характеристик методик количественного определения кислоты ацетилсалициловой, кофеин-бензоата натрия и папаверина гидрохлорида в таблетированных лекарственных формах методом ИК-Фурье-спектрометрии с референтными методиками 103

Выводы по главе 5 109

ОБЩИЕ ВЫВОДЫ 111

Практические рекомендации 113

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ 115

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ 116

ПРИЛОЖЕНИЕ 1 140

ПРИЛОЖЕНИЕ 2 141

ПРИЛОЖЕНИЕ 3 147
ПРИЛОЖЕНИЕ 4 148
ПРИЛОЖЕНИЕ 5 149

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы.

В настоящее время ИК-спектрометрия представляет интерес как достаточно экспрессный и экономичный метод, позволяющий получать результаты с контролируемыми точностными характеристиками. ИК-спектрометрия в средней инфракрасной области используется в контроле качества лекарственных средств в основном как инструмент качественного анализа [ОФС.1.2.1.1.0002.15 ГФ РФ XV изд., 2023; Александрова Т.В. и др., 2016]. Построение абсолютной градуировки для изолированных полос поглощения анализируемого вещества с последующей обработкой данных методом наименьших квадратов не позволяет получать результаты количественного анализа с приемлемыми метрологическими характеристиками [Miller, J. N., Miller, J. C., 2018].

Широкое применение методов математической статистики, включая анализ многомерных данных, предоставляет больше возможностей для обработки полученной информации и расширяет перечень исследуемых объектов и аналитические возможности метода ИК-спектрометрии [Zhang J., 2025]. Количественный ИК-спектрометрический анализ многокомпонентных лекарственных средств требует применения следующих методических походов: анализ по производным ИК-спектра; построение математических моделей взаимосвязи «аналитический сигнал-количество анализируемого вещества» на основе хемометрических методов [Ahmad I., et al., 2019].

Перекрывание в спектре полос поглощения нескольких лекарственных и вспомогательных веществ обуславливает необходимость их разделения в ходе пробоподготовки или использования хемометрических методов [Kumal M. U., et al., 2025].

Построение математических (градуировочных) моделей заключается в редукции многомерных ИК-спектрометрических данных методами главных компонент, иерархического кластерного анализа, а также частичных наименьших квадратов и установлении взаимосвязи полученных параметров спектров с содержанием анализируемого вещества в пробе. Метод частичных наименьших

квадратов является одним из наиболее эффективных вариантов обработки многомерных данных ИК-спектрометрии [Deconinck E. et al., 2022].

Метод ИК-спектрометрии с Фурье-преобразованием в режиме нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО) позволяет осуществлять непосредственный анализ твердых образцов, в том числе таблетированных лекарственных форм, после их измельчения без предварительного растворения или экстракции целевого вещества [Nguyen Q. T. et al., 2025]. Условия пробоподготовки и параметры порошковой пробы должны обеспечивать воспроизводимость регистрации ИК-спектров, что влияет на стабильность градуировочной функции, а также на правильность и прецизионность аналитической методики в целом [Mirwald J., et al., 2025; Ogwu J., 2018].

Большое значение для автоматизации процедуры анализа и управления его качеством имеет установление связи между всеми этапами аналитического цикла, а также между химиком-аналитиком и аналитическим оборудованием – средством измерения, которое обеспечивается с помощью компьютерных программ [Шавейко А.И., Олеферович А.В., 2020]. Для задач ИК-спектрометрического анализа в РФ доступны ряд программных продуктов, например, программы FSpec, ASpec, Genuine и ряд других. При этом не все программы имеют модуль количественного определения, а большинство из них предназначены для определения содержания конкретных веществ, которые не относятся к лекарственным. Также для данных программ отсутствует возможность интеграции с ИК- и ИК-Фурье-спектрометрами в единый программно-аналитический комплекс.

Таким образом, расширение аналитических возможностей метода ИК-Фурье-спектрометрии в контроле качества лекарственных средств и разработка на его основе методик количественного определения лекарственных веществ в таблетированных лекарственных формах является важной научной задачей специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Степень разработанности темы. В ряде работ рассматриваются методические подходы к использованию метода ИК-спектрометрии для целей количественного определения в объектах анализа различного состава и характера

[Tarigan R.E. et al., 2025; Alattab B. et al., 2024; Mahmood R. M. et al., 2024; Сапон Е. С., Лугин В. Г., 2017]. Однако в данных работах отсутствуют методические приемы оценки параметров пробоподготовки лекарственных средств и научно обоснованного формирования математических (градуировочных) моделей на основе машинного обучения. В связи с этим разработка новых методик количественного ИК-спектрометрического анализа, а также автоматизация процедур градуировки и расчета содержания целевых веществ, необходимы для повышения качества и доказательности анализа в контроле качества лекарственных средств.

Цель исследования. Создание алгоритма разработки методик количественного определения методом ИК-Фурье-спектрометрии на примере анализа таблетированных лекарственных форм кислоты ацетилсалициловой, кофеин-бензоата натрия и папаверина гидрохлорида.

Для достижения поставленной цели необходимо решить следующие **задачи:**

1. Разработка математических (градуировочных) моделей для количественного определения методом ИК-Фурье-спектрометрии кислоты ацетилсалициловой, кофеин-бензоата натрия и папаверина гидрохлорида в таблетированных лекарственных формах.
2. Разработка компьютерной программы для построения математических (градуировочных) моделей и расчета результатов количественного ИК-спектрометрического анализа.
3. Планирование и оптимизация пробоподготовки таблетированных лекарственных форм для количественного определения лекарственных веществ методом ИК-Фурье-спектрометрии.
4. Разработка математических моделей пробоподготовки таблетированных лекарственных форм при количественном определении кислоты ацетилсалициловой, кофеин-бензоата натрия и папаверина гидрохлорида.
5. Создание прототипа программно-аналитического комплекса для количественного ИК-спектрометрического анализа на основе ИК-Фурье-спектрометра и компьютерной программы.

6. Валидация разработанных аналитических методик количественного ИК-спектрометрического определения кислоты ацетилсалициловой, кофеин-бензоата натрия и папаверина гидрохлорида в таблетированных лекарственных формах.
7. Реализация алгоритма разработки методик количественного определения методом ИК-Фурье-спектрометрии на примере анализа таблетированных лекарственных форм кислоты ацетилсалициловой, кофеин-бензоата натрия и папаверина гидрохлорида.

Научная новизна. В ходе исследования получены математические (градуировочные) модели для количественного определения лекарственных веществ методом ИК-Фурье-спектрометрии в режиме НПВО в таблетированных лекарственных формах. Показано, что наиболее оптимальным вариантом получения математических (градуировочных) моделей в количественной ИК-спектрометрии является метод частичных наименьших квадратов.

Определены параметры пробоподготовки таблетированных лекарственных форм, содержащих кислоту ацетилсалициловую, кофеин-бензоат натрия и папаверина гидрохлорид, для количественного ИК-спектрометрического анализа. Экспериментальным путем доказано, что основными факторами пробоподготовки, определяющими воспроизводимость ИК-спектров, являются измельченность анализируемых образцов, их влажность и интервал времени между пробоподготовкой (измельчением) и регистрацией ИК-спектра.

Впервые разработаны математические модели пробоподготовки таблетированных лекарственных форм при количественном определении кислоты ацетилсалициловой, кофеин-бензоата натрия и папаверина гидрохлорида методом ИК-Фурье-спектрометрии в режиме НПВО.

Предложен и апробирован алгоритм разработки аналитических методик количественного определения методом ИК-Фурье-спектрометрии в режиме НПВО на примере анализа таблетированных лекарственных форм кислоты ацетилсалициловой, кофеин-бензоата натрия и папаверина гидрохлорида.

Разработана компьютерная программа для ЭВМ «Spectral Model Analyzer», которая позволяет осуществлять предобработку первичных ИК-спектров, формировать математические (градуировочные) модели взаимосвязи «параметры ИК-спектра - содержание анализируемого вещества в пробе» и рассчитывать содержание анализируемого вещества в рутинных пробах.

Теоретическая и практическая значимость. Теоретическая значимость результатов исследования заключается в формировании алгоритма разработки методики количественного анализа таблетированных лекарственных форм методом ИК-Фурье-спектрометрии.

Предложен прототип программно-аналитического комплекса для количественного ИК-спектрометрического анализа на основе ИК-Фурье-спектрометра и компьютерной программы.

Сформулированные в работе методические принципы являются практическими рекомендациями по разработке методик количественного анализа лекарственных средств методом ИК-Фурье-спектрометрии в режиме НПВО.

При использовании компьютерной программы для ЭВМ «Spectral Model Analyzer» расчетная процедура построения градуировочной зависимости и расчет результата анализа автоматизируется, что позволяет в аналитической практике контроля качества лекарственных средств упростить и ускорить внедрение и совершенствование аналитических методик.

Личный вклад автора. Результаты экспериментальных исследований, представленные в диссертации, получены автором лично, либо при его непосредственном участии. Автором разработаны математические (градуировочные) модели для количественного определения методом ИК-Фурье-спектрометрии кислоты ацетилсалициловой, кофеин-бензоата натрия и папаверина гидрохлорида в таблетированных лекарственных формах, разработана программа для ЭВМ «Spectral Model Analyzer», выполнено планирование и оптимизация пробоподготовки таблетированных лекарственных форм, разработаны математические модели пробоподготовки таблетированных лекарственных форм при количественном определении кислоты ацетилсалициловой, кофеин-бензоата

натрия и папаверина гидрохлорида, создан прототип программно-аналитического комплекса для количественного ИК-спектрометрического определения лекарственных веществ в таблетированных лекарственных формах, разработаны и валидированы методики количественного определения кислоты ацетилсалициловой, кофеин-бензоата натрия и папаверина гидрохлорида в таблетированных лекарственных формах.

Связь задач исследования с планом научно-исследовательской работы. Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательской работы ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России «Химико-фармацевтические, фармакогностические, технологические, биотехнологические, фармакологические и организационно-экономические исследования по разработке, анализу и применению фармацевтических субстанций и лекарственных препаратов» (№ государственного учета 125121714557-3).

Публикации. Опубликовано 9 печатных работ, в том числе 3 работы в журналах из перечня рецензируемых научных изданий. Получено 1 свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ.

Внедрение результатов исследования. Аналитические методики количественного определения методом ИК-Фурье-спектрометрии кислоты ацетилсалициловой, кофеин-бензоата натрия и папаверина гидрохлорида в таблетированных лекарственных формах апробированы и внедрены в практическую деятельность ООО «Самарская фармацевтическая фабрика» (акт внедрения от 25.03.2026) и ООО «Лекарь» (акт внедрения от 26.03.2026).

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Диссертационная работа соответствует пп. 3 паспорта научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Методология и методы исследования. Методологическая основа исследования заключалась в научном поиске и обосновании разработки методик количественного определения методом ИК-Фурье-спектрометрии на примере некоторых лекарственных средств.

При выполнении диссертационного исследования были использованы методы: ИК-Фурье-спектрометрия в режиме НПВО, УФ-спектрофотометрия, алкалиметрическое титрование, высокоэффективная жидкостная хроматография.

Для статистической обработки данных использовались обработка выборок методами вариационной статистики, регрессионный, корреляционный, однофакторный дисперсионный, многомерный статистический анализы.

Положения, выдвигаемые на защиту:

- математические (градуировочные) модели для количественного определения методом ИК-Фурье-спектрометрии кислоты ацетилсалициловой, кофеин-бензоата натрия и папаверина гидрохлорида в таблетированных лекарственных формах;
- компьютерная программа «Spectral Model Analyzer» для построения математических (градуировочных) моделей и расчета результатов количественного ИК-спектрометрического анализа;
- набор факторов пробоподготовки при количественном ИК-спектрометрическом определении на примере анализа «Ацетилсалициловая кислота» таблетки 500 мг, таблеток на основе состава «Цитрамон П» с заменой кофеина на кофеин-бензоат натрия, «Папаверина гидрохлорид» таблетки 40 мг;
- математические модели пробоподготовки таблетированных лекарственных форм при количественном определении кислоты ацетилсалициловой, кофеин-бензоата натрия и папаверина гидрохлорида;
- прототип программно-аналитического комплекса для количественного ИК-спектрометрического анализа на основе ИК-Фурье-спектрометра и компьютерной программы;
- валидационные параметры методик количественного определения методом ИК-Фурье-спектрометрии кислоты ацетилсалициловой, кофеин-бензоата натрия и папаверина гидрохлорида в таблетированных лекарственных формах;

– схема «сборки» методик количественного определения методом ИК-Фурье-спектрометрии на примере анализа таблетированных лекарственных форм кислоты ацетилсалициловой, кофеин-бензоата натрия и папаверина гидрохлорида.

Степень достоверности научных положений определяется представительностью и достоверностью первичных аналитических данных; корректностью сбора информации; широким использованием современных физико-химических методов анализа и статистических методов исследования; репрезентативностью выборки; апробацией и подтвержденным внедрением результатов в практику. Для обработки результатов исследований использованы методы статистического анализа данных. Сформулированные в диссертации выводы аргументированы и логически вытекают из результатов анализа и четко аргументированы.

Апробация результатов. Основные результаты работы доложены на следующих конференциях: Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Аспирантские чтения - 2023: молодые ученые – медицине. Приоритетные направления науки в достижении технологического суверенитета» (Самара, 2023), IV Научно-практическая онлайн-конференция «Современные проблемы фармации», посвященная 95-летию со дня рождения заслуженного деятеля науки РФ, профессора А.А. Лебедева и 70-летию со дня рождения заслуженного работника высшей школы РФ, профессора В.А. Егорова «Современные проблемы фармации» (Самара, 2025), XXVIII Международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы современной науки» (Пенза, 2026), Международной научно-практической конференции «Главные тренды в науке и образовании 2026» (Пенза, 2026), LIV международной научно-практической конференции «Наука России: Цели и задачи» (Калининград, 2026), IV международной научно-практической конференции «Научный подход: Конференция» (Екатеринбург, 2026)

Объем и структура работы. Диссертационная работа изложена на 150 страницах, состоит из введения, обзора литературы, 3 глав собственных

исследований, общих выводов, списка литературы и приложения. Содержит 29 таблиц, 23 рисунка. Список литературы состоит из 176 источников, в том числе 139 на иностранных языках.

ГЛАВА 1. АНАЛИТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ МЕТОДОМ ИК-СПЕКТРОМЕТРИИ (обзор литературы)

1.1. Методические подходы к количественному определению в ИК-спектрометрии

Определение состава смесей органических и неорганических соединений (качественный анализ) и установление концентраций компонентов смеси (количественный анализ) являются одними из важных задач ИК-спектрометрии [27].

Для проведения как качественного, так и количественного анализа по ИК-спектрам необходимо иметь спектры индивидуальных компонентов. При сравнении спектра со спектром вещества, присутствие которого предполагается, находят в спектре смеси все полосы поглощения эталонного вещества (стандартного образца). Если спектр анализируемого образца содержит все полосы поглощения эталонного вещества, можно полагать, что вещество действительно содержится в образце [27,36,107].

По характеру взаимодействия веществ с электромагнитным излучением ИК-спектрометрия входит в группу методов молекулярно-абсорбционного анализа [15].

ИК-спектрометрия основана на взаимодействии молекул вещества с электромагнитным излучением инфракрасного диапазона, т. е. от 14000 до 10 $см^{-1}$ [47].

По природе энергетических переходов ИК-спектры относятся к колебательным, а в дальней ИК-области – к вращательным спектрам [10,15,18]:

– колебательные спектры, охватывающие инфракрасную область, возникают при изменении энергии колебательных состояний частиц (двух- и многоатомных ионов, радикалов, молекул, а также жидких и твердых фаз);

– вращательные спектры распространяются на дальнюю инфракрасную и микроволновую область электромагнитного излучения. Они возникают при

изменении энергии вращательных состояний молекул, двух- и многоатомных ионов и радикалов.

Поглощение энергии в ИК-диапазоне приводит к нескольким возбужденным колебательным и вращательным состояниям молекул. Полученный спектр уникален и обладает высокой характерностью [139].

Ближняя инфракрасная спектрометрия (БИК) представляет собой мощный экспресс-метод, который в сочетании с хемометрикой позволяет проводить неразрушающий контроль качества и подлинности лекарственных средств [138,165]. Валидированные аналитические методики, включенные в Государственную Фармакопею РФ, позволяют использовать БИК-спектрометрию для оценки подлинности, однородности дозирования и количественного определения как твердых, так и жидких лекарственных форм [25,33]. Эффективность метода напрямую зависит от корректной пробоподготовки, которая минимизирует неоднородность образца, и оптимизации параметров прибора для получения воспроизводимых результатов [123].

ИК-спектрометрия среднего диапазона (MIR) – это хорошо известный и надежный метод, позволяющий идентифицировать и количественно определять различные соединения. ИК-диапазон 4000-400 $см^{-1}$ является наиболее часто используемой инфракрасной областью для биологических применений, включая так называемые «отпечатки пальцев», характерные для ряда органических соединений [170].

Среднеинфракрасная область (4000-600 $см^{-1}$) предоставляет «отпечаток пальца» аналита, поскольку она богата информацией о структуре функциональных групп исследуемого образца [59].

Дальняя инфракрасная спектрометрия, особенно в виде терагерцовой спектроскопии, является мощным методом для физической характеристики твердых лекарственных форм. Она позволяет получать уникальную информацию о кристаллической структуре и полиморфных формах активных фармацевтических ингредиентов, а также исследовать молекулярную подвижность в аморфных системах. В отличие от ближней ИК-области, дальняя инфракрасная

спектрометрия чувствительна к межмолекулярным взаимодействиям и может использоваться для неразрушающего контроля таких параметров, как толщина покрытия таблеток [131,146,147,157].

ИК-спектрометрия признана фундаментальным методом качественного анализа, способным различать соединения с незначительными структурными изменениями, и является одним из наиболее часто используемых методов идентификации [127,159].

Фармацевтическая отрасль является одной из областей науки и производства, где продуктивно используется метод ИК-спектрометрии. Справедливо будет сказать, что ИК-спектрометрия занимает одно из первых мест в ряду наиболее универсальных инструментальных методов анализа [15].

ИК-спектрометрия является фармакопейным методом анализа лекарственных средств, основанным на поглощении ИК-излучения молекулами вещества, в результате чего молекулы переходят на более высокий колебательный уровень. Поскольку молекула имеет индивидуальный колебательный спектр, метод ИК-спектрометрии используется для идентификации большинства фармацевтических субстанций [27,28,38].

Фурье-преобразовательная инфракрасная спектрометрия позволяет быстро получить инфракрасный спектр вещества посредством преобразования Фурье интерференционного света. ИК-спектры содержат информацию о нормальных колебательных модах молекулы, что помогает идентифицировать присутствующие функциональные группы [20].

В ИК-Фурье-спектрометрии через анализируемый образец пропускают излучение с широким набором частот, а затем из полученной интерферограммы с помощью обратного Фурье преобразования рассчитывают ИК-спектр [45].

Метод ИК-Фурье-спектрометрии является незаменимым аналитическим методам в контроле качества лекарственных средств и может с высокой доказательностью идентифицировать и характеризовать лекарственные вещества и вспомогательные вещества при разработке лекарственных препаратов и составов,

а также в процессе производства фармацевтических препаратов в режиме онлайн [46,128,172].

Спектрометры с преобразованием Фурье позволяют регистрировать спектры жидких и твердых образцов с высокой точностью (до 10^{-4} $см^{-1}$) примерно за 1 с; наложение нескольких спектров позволяет избавиться от шумов, что обеспечивает определение следовых количеств веществ; Фурье-спектрометры не нуждаются во внешних стандартах для градуировки волновых чисел, а разрешающую способность можно корректировать, изменяя величину хода зеркал [7,8,17,32,37].

Новые уникальные конструкции приборов (ИК-Фурье-спектрометр НПВО) позволили увеличить чувствительность и понизить пределы обнаружения методик анализа [13,16,133].

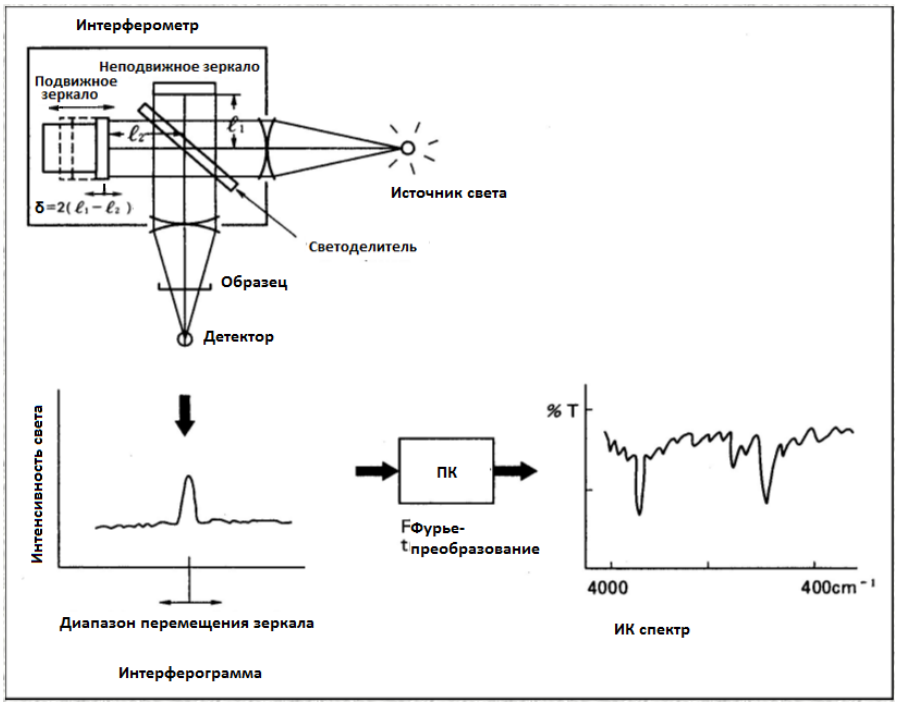


Рисунок 1 – Принципиальная схема анализа методом ИК-Фурье-спектрометрии.

На рисунке 1 представлена схема анализа на ИК-Фурье-спектрометре. Благодаря тому, что в интерферометре входное отверстие больших размеров, чем щель спектральных приборов с диспергирующим элементом такого же разрешения, то Фурье-спектрометр по сравнению с ними имеют преимущество в светосиле [27,81,82,84]. Данное преимущество позволяет:

- уменьшить время регистрации спектров
- уменьшить отношение сигнал/шум
- уменьшить габариты прибора

Также Фурье-спектрометры имеют преимущество перед дифракционными приборами в точности отсчета длины волны, за счет непосредственного определения длины волны, а не косвенного [27,97].

Различают несколько техник ИК-спектрометрического анализа [5,29,64,91,92,94,102-105,135]:

- метод дисков из калия бромида;
- метод нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО/ATR);
- метод зеркального отражения;
- метод диффузного отражения (DRIFT spectra);
- метод фотоакустической спектрометрии (PAS);
- ИК-спектрометрия линейного дихромизма.

Современная и более универсальная методика работы с пробами основана на нанесении образца на ИК-пропускающий кристалл, изготовленный из Ge или ZnSe с высоким показателем преломления. Эта методика известна как метод нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО). Для твердых образцов на протяжении всего измерения поддерживается тесный контакт образца с кристаллом. Спектр регистрируется от проходящего и проникающего через кристалл ИК-излучения [139].

Количественный контроль имеет решающее значение для обеспечения безопасности и эффективности лекарственных препаратов. Метод ИК-спектрометрии с преобразованием Фурье является жизнеспособной альтернативой рутинному анализу контроля качества лекарственных средств и используется для количественного определения различных фармацевтических препаратов [90].

Количественное применение ИК-Фурье-спектрометрии основывается на зависимости между интенсивностью полос поглощения и концентрацией анализируемого компонента, что теоретически описывается законом Бугера-Ламберта-Бера. Однако в реальных фармацевтических матрицах

(многокомпонентные твердые и жидкие лекарственные формы) реализация линейной зависимости осложняется перекрытием полос, рассеянием излучения и влиянием физического состояния образца. Эти факторы требуют особого внимания при выборе аналитических полос, построении градуировок и подборе математических моделей [167].

Кроме того, поскольку поглощение раствора на структурно-специфических волновых числах пропорционально концентрации раствора, т.е. закону Бугера-Ламберта-Бера, его можно использовать для расчета концентраций реагентов [57].

Тем не менее однофакторные подходы имеют существенные ограничения при работе с многокомпонентными матрицами, когда вклад сопутствующих веществ, вариабельность физического состояния и рассеяние приводят к отклонениям от линейности и снижению прогностической способности моделей. Это предопределило широкое внедрение многомерных (хемометрических) методов калибрования, которые позволяют использовать всю спектральную информацию и эффективно учитывать взаимосвязанные изменения интенсивностей множества полос [129].

Важным аспектом для пользователей ИК-спектрометрии, помимо самих спектров, является количественная оценка и классификация компонентов в образце с использованием более чем одной переменной с помощью методов многомерного анализа [78].

К традиционным хемометрическим методам, которые сочетаются с ИК-спектрометрией, относятся следующие [78,132,152,173,174]:

– метод главных компонент (PCA) – это наиболее базовый метод извлечения признаков, основанный на анализе дисперсии признаков во всем спектре;

– анализ независимых компонент (ICA) – это метод, который идентифицирует спектральные компоненты путем поиска независимых компонентов;

– анализ вершинных компонент (VCA), специально разработанный для гиперспектральных изображений;

– метод частичных наименьших квадратов (PLS) – наиболее широко используемый метод контролируемого многомерного анализа данных, позволяющий оценивать и количественно определять компоненты в выборке.

Хемометрика определяется как химическая дисциплина, использующая математические, статистические и другие методы для достижения целей, например, оптимальной процедуры измерения, оптимальных условий эксперимента и количества соответствующей химической информации путем анализа химических данных. Наиболее часто используемой хемометрической методикой для количественного анализа является контролируемая методика, а именно регрессия методом частичных наименьших квадратов [119].

Хемометрические инструменты помогают преодолевать проблемы традиционных методов, такие как перекрывающиеся спектры или обнаружение ингредиентов, присутствующих в очень низких концентрациях. Хемометрика также делает рутинные задачи, такие как построение калибровочных кривых, профилирование примесей и исследования растворения, более быстрыми, точными и менее зависимыми от сложных методов разделения. В целом, хемометрика преодолевает разрыв между сложными аналитическими данными и принятием практических решений [95].

Дериватизация ИК-спектров может улучшить разрешение соседних пиков, что может повлиять на эффективность калибровочного моделирования; однако более высокий порядок производной спектра может снизить чувствительность модели [158].

Предварительная обработка спектральных данных является важнейшим этапом хемометрического анализа, поскольку она помогает скорректировать базовую линию и улучшить отношение сигнал/шум спектров, что необходимо для получения точных результатов. Причина проведения предварительной обработки данных заключается в минимизации влияния экспериментальных и экологических вариаций на спектр и уменьшении влияния шума, который может мешать спектральному анализу [125,141,175].

Авторы показывают, что правильно подобранная цепочка препроцессинга и многомерного анализа позволяет достигать высокой точности классификации и количественной оценки изменений состава без разрушения лекарственных форм [72].

В ходе многочисленных исследований было продемонстрировано, что сочетание ИК-спектрометрии с методом частичных наименьших квадратов обеспечивает высокую точность анализа многокомпонентной смеси. Он особенно эффективен благодаря возможности обрабатывать перекрывающиеся спектры данных и прогнозировать концентрацию компонентов, даже тех, которые необходимы для сложных процессов разделения. Кроме того, ИК-спектрометрия – это метод, не требующий использования растворителей, что делает его идеальным кандидатом для эффективного и экологически чистого аналитического применения [48,149].

ИК-Фурье-спектрометрия с применением PLS особенно экономична по сравнению с ГХ-МС, ВЭЖХ и СВЭЖХ, что делает ее пригодной для рутинного анализа. Его способность обрабатывать сложные матрицы с помощью регрессии PLS обеспечивает надежную количественную оценку, соответствующую строгим нормативным стандартам для фармацевтических продуктов. Выбор ИК-Фурье-спектрометрии с применением PLS в пользу традиционных методов, таким образом, повышает эффективность, снижает затраты и обеспечивает высокую аналитическую точность, поддерживая надежную практику обеспечения качества фармацевтической продукции [67,150].

Технология ИК-Фурье-спектрометрии с применением PLS приобрела известность в области анализа лекарственных средств благодаря своим мощным возможностям в количественной оценке. Недавние исследования показали ее эффективность, быстроту, чувствительность, экономичность и неразрушающий характер. Эти характеристики делают ИК-Фурье-спектрометрию с применением PLS очень подходящим для фармацевтических применений, где важен быстрый и точный анализ [52,58,67,144,155].

Последние достижения в технологии ИК-Фурье-спектрометрии с применением PLS еще больше повысили ее полезность. Усовершенствованные алгоритмы обработки данных и повышенная чувствительность прибора повысили точность анализа сложных матриц образцов. Кроме того, достижения в области хемометрического моделирования укрепили способность ИК-Фурье-спектрометрии с применением PLS обрабатывать спектральное перекрытие и улучшили прогнозные возможности [52,150,155].

Несмотря на эти преимущества, ИК-Фурье-спектрометрия с применением PLS имеет свои ограничения. Спектральные помехи от матриц образцов могут повлиять на точность, что требует тщательной калибровки и проверки соответствия эталонным методам [67,144,155].

Метод ИК-Фурье-спектрометрии в режиме НПВО основан на простом и быстром количественном определении для рутинного контроля качества лекарственных препаратов. Несмотря на помехи, вызванные присутствием вспомогательных веществ в лекарственной матрице, метод остается экономически эффективным, не требует трудоемкой пробоподготовки и является экологически безопасным [168].

ИК-спектрометрия стала мощным инструментом, поскольку продемонстрировала ряд преимуществ по сравнению с другими методами, такими как неразрушающий характер, быстрота процедуры, минимальная подготовка образца, работа с автоматизированными алгоритмами, сбор спектральных данных за секунды [41].

ИК-спектр позволяет более надежно чем химический анализ определять функциональные группы, особенно когда требуется совместно провести качественный и количественный анализы. Благодаря применению Фурье преобразованию для спектральных исследований в том числе в ИК-диапазоне существенно расширились границы и возможности соответствующих методов [11].

Метод ИК-спектрометрии в ближнем диапазоне, обладающий более стабильными метрологическими характеристиками по сравнению с ВЭЖХ, представляет собой мощную альтернативу для быстрого и точного

количественного определения содержания фармацевтических субстанций и контроля качества в режиме реального времени, тем самым обеспечивая существенный вклад в поддержание качества в непрерывных производственных процессах в условиях фармацевтического предприятия [88].

Статистическое сравнение ИК-спектрометрии и ВЭЖХ показало практически идентичные результаты, демонстрируя их пригодность для анализа лекарственных препаратов. Анализ методом ИК-спектрометрии оказался более экологичным и экономически эффективным вариантом, чем ВЭЖХ, благодаря уменьшенному использованию растворителей, портативности, минимизации образования отходов, более быстрой работе, меньшему энергопотреблению и повышенной безопасности оператора [75].

Для полного раскрытия потенциала метода ИК-спектрометрии в количественном анализе необходимы обоснованные подходы к построению градуировочных моделей, стандартизованные процедуры пробоподготовки и использование специализированного программного обеспечения, интегрирующего возможности хемометрии [95].

ИК-Фурье-спектры более информативны, чем УФ-видимая спектроскопия. Инфракрасное поглощение молекулами соответствует различиям в энергии колебаний, и каждый тип связи имеет разную частоту колебаний [71,111].

ИК-спектрометрия представляет собой современный инструментальный метод количественного и качественного анализов различных объектов, основанный на сочетании спектрометрии и статистических методов исследования многофакторных зависимостей. Большинство ведущих фармацевтических производителей и испытательных лабораторий активно используют методом ИК-спектрометрии при проведении входного контроля активных ингредиентов, вспомогательных веществ, готовых продуктов, полуфабрикатов, а также для контроля технологических процессов для контроля технологических процессов производства лекарственных средств [12].

Метод ИК-спектрометрии в различных модификациях в настоящее время используется в контроле качества лекарственных средств для целей

количественного анализа. При этом следует отметить отсутствие в большинстве публикаций детальной информации по характеру применяемых градуировочных моделей [43,49,55,61,66,76,98,99,101,108,109,113,115,116,118,126,127,137,140,143, 161,162,164,169,171].

Также ИК-спектрометрия в формате платформенных решений используется промышленными предприятиями, исследовательскими центрами в области органической и неорганической химии, поскольку является простым и надежным методом идентификации и количественного определения целевых соединений [62,89,100,148].

Недавние разработки в области ИК-Фурье-спектрометрии в сочетании с машинным обучением сделали этот инструмент удобным для аналитиков при решении задач количественного анализа [77].

Имеются данные о применении ИК-Фурье-спектрометрии для фармацевтических субстанций, промежуточных продуктов в технологическом цикле, таблеток: азитромицин [120], атенолол [121], фуросемид [163], цефтазидим [113], цефуроксим [171]. Для каждого из этих таблеток показана высока селективность метода с приемлемыми коэффициентами корреляции, промежуточная прецизионность и повторяемость также принимали приемлемые значения.

1.2. Пробоподготовка в ИК-спектрометрическом анализе

Исследование веществ методом инфракрасной ИК-спектрометрии с практической точки зрения включает три основных этапа: приготовление образца, регистрацию его спектра и интерпретацию последнего. Все этапы одинаково важны и пренебрежение любым из них приводит к ошибкам и неточностям. Например, даже на хорошо отлаженном спектрофотометре нельзя получить удовлетворительный спектр, если образец приготовлен неправильно или взят в недостаточном количестве. Поэтому подбор методики и тщательное приготовление образца в соответствии с известными требованиями является важными элементами анализа [15,73,96,166].

Несмотря на кажущуюся простоту, получение качественного, информативного и воспроизводимого ИК-спектра напрямую зависит от критически важного этапа – пробоподготовки [79].

Основная цель пробоподготовки – устранить физические несоответствия в образце, которые могут исказить измеряемую химическую информацию. Исследуемый образец должен быть подготовлен таким образом, чтобы инфракрасное излучение проходило через него, взаимодействуя с химическими связями и создавая характерный спектр поглощения [37]. Выбор конкретного метода пробоподготовки определяется агрегатным состоянием образца (твердое, жидкое, газообразное), его физико-химическими свойствами и задачами анализа [1,156].

В настоящее время существует большое разнообразие методик подготовки образцов для измерения ИК-спектров, и исследователь должен выбрать одну из них, наилучшим образом подходящую для решения стоящей перед ним задачи [15,68,70].

Классификация видов пробоподготовки в ИК-спектрометрии от агрегатного состояния объекта анализа [15,79,86]:

1) Твердые объекты. Наиболее распространены две аналитических приема: методика прессования анализируемого образца с инертным наполнителем и методика растирания с индифферентными жидкостями. Метод взвесей с калия бромидом, называемый еще методом прессования таблеток, заключается в тщательном перемешивании тонкоизмельченного образца с порошком калия бромида (или другим галогенидом щелочного металла) с последующим прессованием смеси в пресс-форме, в результате чего получается прозрачная или полупрозрачная таблетка [83,109,155]. Методика растирания образца с индифферентными жидкостями (вазелиновое масло, фторированные углеводороды – «фторированное масло», гексахлорбутадиен и т.д.) заключается в смешивании навески анализируемого вещества с минимальным количеством индифферентной жидкости и тщательном растирании в агатовой или яшмовой ступке, после чего полученную массу наносят стеклянной палочкой в виде полоски на пластинку из

кристаллического калия бромида или калия хлорида, если получают спектр в области не ниже 650 $см^{-1}$, и прижимают другой такой же пластинкой [130].

2) Жидкие пробы. Для получения ИК-спектров поглощения чистых неводных жидкостей каплю исследуемой жидкости наносят на пластинку из калия бромида, прижимают такой же пластинкой. Далее регистрируют спектр образца, помещая в канал сравнения спектрофотометра чистую солевую пластинку из того же материала. ИК-спектры поглощения неводных растворов получают так же, как и спектры чистых неводных жидкостей, однако обычно исследуют не капиллярный слой, прижатый между двумя солевыми пластинками, а применяют жидкостные кюветы с разной толщиной поглощающего слоя, помещая в канал сравнения спектрофотометра такую же кювету с чистым растворителем. При исследованиях инфракрасных спектров обычно стараются избегать водных растворов, т.к., во-первых, вода сама очень сильно поглощает инфракрасное излучение, во-вторых, в качестве окошек в кюветах должны использоваться более дорогие нерастворимые в воде материалы и, в-третьих, на концентрации, которые могут быть взяты при исследованиях, накладываются значительные ограничения, обусловленные допустимой толщиной слоя [86]. При исследовании образцов, содержащих воду, ее устраняют или уменьшают ее содержание ниже 1%, в тех случаях, когда это необходимо, или можно получать удовлетворительные спектры жидких и твердых веществ, содержащих вплоть до 20% воды [63].

Традиционным «золотым стандартом» для твердых образцов долгое время являлся метод таблетирования с калия бромидом. Метод основан на прессовании тонкоизмельченной смеси образца с оптически прозрачным в ИК-области калия бромидом, что позволяет получать спектры пропускания высокого качества. Систематическое исследование влияния метода пробоподготовки на ИК-спектры лигнина, проведенное Blindheim F. H. и Ruwoldt J. наглядно продемонстрировало преимущества таблеток с калия бромидом: метод обеспечил значительное улучшение качества и разрешения спектров по сравнению с методиками нарушенного полного внутреннего отражения. Причем наилучшая корреляция при расчете содержания гидроксильных групп была достигнута именно между

данными, полученными в режиме пропускания с калия бромидом и НПВО (коэффициент детерминации r^2 не менее 0,9995) [54]. Однако метод не лишен недостатков: гигроскопичность калия бромида приводит к появлению полос поглощения воды (3400 и 1640 $см^{-1}$), что требует работы в осушенной атмосфере и тщательного контроля качества таблеток [87].

Стремительное развитие метода НПВО, особенно с использованием алмазных кристаллов, изменило ландшафт ИК-спектрометрии. Основное преимущество НПВО заключается в минимальной или нулевой пробоподготовке, неразрушающем характере анализа и возможности исследования образцов практически любого типа: порошков, жидкостей, гелей и даже твердых поверхностей [60].

Стоит отметить, что качество получаемых спектров сильно зависит от таких процедур, как подготовка и обработка образца. Хороший контакт между образцом и поверхностью кристалла играет жизненно важную роль в исключении возможности получения зашумленного спектра. Качество получаемых спектров в случае твердых веществ или порошков зависит от приложенной силы, тогда как при работе с жидкими образцами определяющим фактором является количество молекул аналита, контактирующих с поверхностью кристалла, а также вклад растворителя, который необходимо минимизировать [69].

Экстракция не требуется при применении ИК-спектрометрии. Фурье-преобразовательная инфракрасная спектрометрия, дополненная методами многомерного анализа данных, все шире используется в фармацевтической промышленности как для качественного, так и для количественного анализа соединений. Эти методы просты в выполнении и экономичны по времени по сравнению с хроматографическими методами. Они позволяют анализировать активные вещества, присутствующие в лекарственных формах, без экстракции активного вещества или дополнительной предварительной обработки образца, что значительно сокращает и упрощает анализ [134].

Авторы Jofre F. C. и Savio M. рекомендуют проводить подготовку образцов в ИК-спектрометрии с минимальными временными затратами, высокими

показателями прецизионности и максимально экологично, основываясь на десяти принципах «зеленой» подготовки образцов (GSP) [93].

Однородность и степень измельчения пробы напрямую определяют воспроизводимость и информативность ИК-спектров, а контроль влажности является обязательным условием для предотвращения искажений сигнала и повреждения оптики [63,136].

1.3. Программное обеспечение для ИК-спектрометрии.

Программное обеспечение (ПО), применяемое в ИК-спектрометрии, принято разделять на несколько функциональных уровней:

– первый уровень – встроенное ПО спектрометров, обеспечивающее управление аппаратными узлами, сбор интерферограмм и их преобразование в спектры;

– второй уровень – прикладное ПО для обработки и анализа спектральных данных, которое может поставляться производителем прибора либо существовать в виде независимых программных пакетов;

– третий уровень – специализированные библиотеки и базы данных, содержащие эталонные спектры и метаинформацию о веществах;

– четвертый уровень – средства интеграции с лабораторными информационными системами (LIMS) и платформы для совместной работы.

Программный пакет OPUS, разработанный компанией Bruker, позиционируется как одно из наиболее функционально насыщенных решений для спектрометрии в ИК-, БИК- и рамановской областях. Базовый пакет OPUS включает в себя широкий спектр инструментов для проведения измерений, обработки и оценки данных. Важной особенностью является масштабируемость – от упрощенного сенсорного интерфейса OPUS-TOUCH, ориентированного на начинающих пользователей, до гибко настраиваемых рабочих пространств для экспертного анализа [124].

Пакет LabSolutions IR предназначен для управления ИК-спектрофотометрами Shimadzu, записи спектров, их обработки и подготовки

отчетной документации. В состав LabSolutions IR входит обширная библиотека спектров (около 12 000 записей), охватывающая полимеры, фармацевтические субстанции, пищевые добавки, образцы нефтехимической продукции и вещественных доказательств для криминалистики [106].

Программный пакет GRAMS/AI позиционируется как универсальная платформа для обработки, визуализации и отчетности в спектрометрическом анализе. Он включает обширную библиотеку встроенных процедур обработки данных (коррекцию базовой линии, подгонку пиков, сглаживание, производные, автоматическое спектральное вычитание) и поддерживает интеграцию с приборами различных производителей [80].

Существует российская компьютерная программа ASpec, которая заявляется производителем для целей количественного определения методом ИК-спектрометрии путем многомерного анализа методом наименьших квадратов, но она не предоставляет пользователю возможности хемометрической обработки спектров для удаления аддитивных и мультипликативных эффектов [22].

Таким образом, следует отметить особенности программного обеспечения для количественного ИК-спектрометрического анализа: ориентированность под конкретное аналитическое оборудование, ограниченность функциональных возможностей для целей количественного определения, недоступность ряда программных пакетов в настоящее время на территории РФ [117].

На основании анализа общих методических подходов к количественному ИК-спектрометрическому определению веществ показано, что разработка математических (градуировочных) моделей для количественного анализа лекарственных веществ в таблетированных лекарственных формах методом ИК-Фурье спектрометрии, а также автоматизация расчетных алгоритмов являются актуальными направлениями исследований в рамках научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Процедура пробоподготовки таблетированных лекарственных форм требует обоснованного выбора и контроля факторов, определяющих точностные характеристики аналитических методик.

Таким образом, создание алгоритма разработки методик количественного определения лекарственных веществ методом ИК-Фурье-спектрометрии на примере анализа таблетированных лекарственных форм кислоты ацетилсалициловой, кофеин-бензоата натрия и папаверина гидрохлорида является актуальной задачей фармацевтической науки.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Объекты исследования

Объектами исследования являлись:

– модельные смеси из компонентов лекарственных препаратов: «Кислота ацетилсалициловая», таблетки 500 мг (ОАО «Дальхимфарм»); «Цитрамон П», таблетки с заменой кофеина на кофеин-бензоат натрия (ОАО «Фармстандарт-лексредства»); «Папаверина гидрохлорид», таблетки 40 мг (ОАО «Дальхимфарм»);

– «Кислота ацетилсалициловая», таблетки 500 мг (ОАО «Дальхимфарм») (номер серии 731122);

– «Папаверина гидрохлорид», таблетки 40 мг (ОАО «Дальхимфарм») (номер серии 30325).

Для приготовления модельных смесей, которые применялись в качестве градуировочных и контрольных образцов использовали:

– фармацевтическую субстанцию кислоты ацетилсалициловой (ФС 000277-301117, Джэй Кью Си (Хуаинь) Фармасьютикал Ко., Лтд.);

– фармацевтическую субстанцию кофеин-бензоата натрия (ФС 001754-030418, Фармсон Бэйсик Драгс Прайвит Лимитед);

– фармацевтическую субстанцию папаверина гидрохлорида (Р N002040/01-040319, ОАО «Ирбитский химфармзавод»).

2.2. Приготовление градуировочных и контрольных образцов кислоты ацетилсалициловой, кофеин-бензоата натрия и папаверина гидрохлорида

Приготовление градуировочных и контрольных образцов кислоты ацетилсалициловой, кофеин-бензоата натрия и папаверина гидрохлорида осуществляли массовым методом; измерения массы проводили на аналитических весах MS105 (Sartorius Practum 124-1ORU, Германия).

Для получения градуировочных образцов использованы образцы фармацевтических субстанций кислоты ацетилсалициловой, кофеин-бензоата

натрия и папаверина гидрохлорида и смеси, воспроизводящие состав вспомогательных веществ в лекарственных препаратах (таблетках) (табл. 1).

Фармацевтические субстанции и смеси вспомогательных веществ смешивали в агатовой ступке до однородного порошка в рассчитанных соотношениях (по массе). Диапазон содержаний (концентраций) анализируемых лекарственных веществ в образцах составил от 0,00%-100,00% (масс.) [3,23,24].

Таблица 1 – Состав градуировочных/контрольных образцов кислоты ацетилсалициловой, кофеин-бензоата натрия и папаверина гидрохлорида

Компонент	Содержание
Кислота ацетилсалициловая	
Крахмал картофельный	81,78 мг
Тальк	2 мг
Лимонная кислота	0,22 мг
Кальция стеарат	6 мг
Кислота ацетилсалициловая	0,00%-100,00% (масс.)
Кофеин-бензоат натрия	
Какао	14 мг
Лимонная кислота	5 мг
Крахмал картофельный	52,35 мг
Повидон низкомолекулярный	4 мг
Тальк	9 мг
Кальция стеарат	5 мг
Натрия крахмалгликолят	10,45 мг
Кремния диоксид коллоидный	2,75 мг
Кофеин-бензоата натрия	0,00%-100,00% (масс.)
Папаверина гидрохлорид	
Крахмал картофельный	149,8 мг
Стеариновая кислота	2,7 мг
Сахароза (сахар-песок)	157,5 мг
Папаверина гидрохлорид	0,00%-100,00% (масс.)

2.3. Анализ методом ИК-Фурье-спектрометрии в режиме НПВО

Для регистрации ИК-спектров использовали спектрофотометр Cary 630 FTIR с приставкой для НПВО (с алмазной призмой) (Agilent, США).

Условия регистрации сигнала: режим нарушенного полного внутреннего отражения; диапазон волновых чисел – 4000-650 $см^{-1}$; оптическое разрешение – 4 $см^{-1}$; усиление сигнала (gain) – 222; количество сканов образца (sample scans) – 100; количество сканов фона (background scans) – 10. Для каждого из образцов

регистрировали спектры в трех повторностях для исключения влияния неоднородности порошковой пробы [3,23,24].

Контроль параметров анализируемой пробы: для полученных смесей контролировали измельченность в соответствии с ОФС.1.4.2.0003.15 «Ситовой анализ». Просеивание проводили через аналитические сита методом механического встряхивания с горизонтально-круговым движением частиц в течение 5 мин [31]. Контролировали влажность анализируемых образцов путем определения потери в массе при высушивании по методике из ОФС.1.2.1.0010.15 «Потеря в массе при высушивании» (способ 1) [21].

При регистрации ИК-спектров осуществляли фиксацию интервалов времени между процедурами пробоподготовки и измерения.

2.4. Обработка ИК-спектров

Массивы ИК-спектрометрических данных, полученных в ходе диссертационного исследования, обрабатывали в программной среде Python 3.9.10 с использованием библиотек для машинного обучения путем применения авторского программного кода [3,23,24].

Для предобработки использовали методы: фильтр Савицкого-Голея [145], мультипликативной коррекции рассеивания [110], стандартной нормальной вариации [53] и блок стандартного масштабирования [153].

Три метода предобработки включают в себя коррекцию базовой линии. Фильтр Савицкого-Голея с производной первой порядка – убирает постоянный вертикальный сдвиг. Метод мультипликативной коррекции рассеивания использует постоянное смещение по всем длинам волн что является коррекцией аддитивной (постоянной) базовой линии. Метод стандартной нормальной вариации убирает постоянный аддитивный сдвиг спектра относительно своего собственного среднего, что также является коррекцией базовой линии [53,110,145].

Для формирования математических (градуировочных) моделей применялись: метод частичных наименьших квадратов [42], регрессия опорных

векторов [154], градиентный бустинг [74], гребневая регрессия [142], оператор наименьшего абсолютного сжатия и выбора [160], метод эластичной сети [176].

Данные методы были выбраны на основе анализа литературных данных. Для каждой модели автоматически определяли значение гиперпараметров, критически влияющие на баланс «смещение–дисперсия». Для метода частичных квадратов число латентных переменных было от 1 до 15. Для градиентого бустинга число деревьев задавалось в диапазоне от 100 до 1000, а темп обучения (величина шага градиентного спуска на каждой итерации) составлял 0,01-0,1. Для остальных методов подбор гиперпараметров выполняли методом кросс-валидации по логарифмической сетке [112].

2.5. Математическое планирование пробоподготовки для ИК-спектрометрического анализа

Формирование матрицы эксперимента по схеме многофакторного трехуровнего планирования с применением плана Бокса-Бенкена с учетом влияния исследуемых факторов осуществляли с помощью программы «ChemPlan 1.0» [30]. Для статистической обработки экспортированных из программы «ChemPlan 1.0» массивов данных применяли программу «Statistica 10.0» [35].

2.6. Референтные методики анализа таблетированных лекарственных форм кислоты ацетилсалициловой, кофеин-бензоата натрия и папаверина гидрохлорида

Количественное определение кислоты ацетилсалициловой в таблетках проводили методом титриметрии (прямое алкалиметрическое титрование).

Методика: точную навеску порошка растертых таблеток, содержащую около 0,5 г ацетилсалициловой кислоты, помещают в колбу вместимостью 200 мл, прибавляют 20 мл нейтрализованного по фенолфталеину спирта 96% и взбалтывают в течение 10 мин. Раствор охлаждают до 10°С и титруют 0,1 М раствором натрия гидроксида до розового окрашивания (индикатор - 0,1 мл 1% раствора фенолфталеина).

1 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида соответствует 18,02 мг ацетилсалициловой кислоты [4].

Определение кофеин-бензоата натрия в таблетках проводили методом ВЭЖХ [14].

Методика: точную навеску порошка растертых таблеток, содержащую около 0,274 г кофеина-бензоата натрия, помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляли 40 мл метанола, взбалтывали в течение 15 мин, доводили объем раствора тем же растворителем до метки, перемешивали и фильтровали, отбрасывая первые порции фильтрата. 2,0 мл полученного раствора помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводили объем раствора ПФ до метки и перемешивали (*испытуемый раствор)*.

Стандартный раствор. Около 40 мг (точная навеска) стандартного образца кофеина и около 60 мг (точная навеска) стандартного образца натрия бензоата помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяли в метаноле, доводили объем раствора до метки и перемешивали. 5,0 мл полученного раствора помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводили объем раствора ПФ до метки и перемешивали.

Растворы использовали свежеприготовленными.

Хроматографические условия: колонка – 150 мм × 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный для хроматографии (C_{18}), 5 мкм; температура колонки – 20 °С; скорость потока – 1,0 мл/мин; детектор – спектрофотометрический, 230 нм; объем пробы – 20 мкл; время хроматографирования – 10 мин.

Подвижная фаза (ПФ). Метанол – 0,05 М раствор фосфорной кислоты 450:550.

Хроматографировали испытуемый и стандартный растворы.

Оценивали пригодность хроматографической системы.

Содержание кофеина $C_8H_{10}N_4O_2$ и натрия бензоата $C_7H_5NaO_2$ в одной таблетке в процентах от заявленных количеств (X) вычисляли по формуле:

$$X = \frac{S_1 \cdot a_0 \cdot 50 \cdot 5 \cdot 50 \cdot P \cdot G}{S_0 \cdot a_1 \cdot 50 \cdot 5 \cdot 50 \cdot L} = \frac{S_1 \cdot a_0 \cdot P \cdot G}{S_0 \cdot a_1 \cdot L},$$

где S_1 – площадь пика кофеина или бензойной кислоты на хроматограмме испытуемого раствора;

S_0 – площадь пика кофеина или бензойной кислоты на хроматограмме стандартного раствора;

a_1 – навеска порошка растертых таблеток, мг;

a_0 – навеска стандартного образца кофеина или натрия бензоата, мг;

P – Содержание кофеина или натрия бензоата в стандартном образце кофеина или натрия бензоата, соответственно, %;

G – средняя масса таблетки, мг;

L – заявленное содержание кофеина или натрия бензоата в одной таблетке, мг.

Определение папаверина гидрохлорида в таблетках проводили методом УФ-спектрофотометрии [19].

Методика: точную навеску порошка растертых таблеток, соответствующую около 40 мг папаверина гидрохлорида, помещали в мерную колбу вместимостью 250 мл, растворяют в 0,1 М растворе хлористоводородной кислоты, доводили объем раствора тем же растворителем до метки и фильтровали, отбрасывая первые порции фильтрата. 10,0 мл полученного фильтрата помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводили объем раствора 0,1 М раствором хлористоводородной кислоты до метки (*испытуемый раствор*).

Стандартный раствор. Около 50 мг (точная навеска) стандартного образца папаверина гидрохлорида помещали в мерную колбу вместимостью 250 мл, растворяли в 0,1 М растворе хлористоводородной кислоты и доводили объем раствора тем же растворителем до метки. 5,0 мл полученного раствора помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводили объем раствора 0,1 М раствором хлористоводородной кислоты до метки.

Измеряли оптическую плотность испытуемого и стандартного растворов на спектрофотометре в максимуме поглощения при 309 нм в кювете с толщиной слоя

10 мм, используя в качестве раствора сравнения 0,1 М раствор хлористоводородной кислоты.

Содержание папаверина гидрохлорида $C_{20}H_{21}NO_4 \cdot HCl$ в одной таблетке в процентах (X) вычисляли по формуле:

$$X = \frac{A_1 \cdot a_0 \cdot P \cdot 250 \cdot 50 \cdot 5}{A_0 \cdot a_1 \cdot L \cdot 10 \cdot 250 \cdot 50} = \frac{A_1 \cdot a_0 \cdot P}{A_0 \cdot a_1 \cdot L \cdot 2}$$

где A_1 – оптическая плотность испытуемого раствора;

A_0 – оптическая плотность стандартного раствора;

a_0 – навеска стандартного образца папаверина гидрохлорида, мг;

a_1 – навеска порошка растертых таблеток, мг;

P – содержание папаверина гидрохлорида в стандартном образце папаверина гидрохлорида, %;

L – заявленное содержание папаверина гидрохлорида в одной таблетке, мг.

2.7. Определение метрологических характеристик аналитических методик

Определение рабочего диапазона (диапазона определяемых концентраций), линейности, правильности и прецизионности проводили в соответствии с рекомендациями [26].

Использовали графики зависимости предсказанной (определенной) концентрации от фактической концентрации анализируемых веществ в лекарственных формах (в нормализованных единицах). Для оценки *линейности* методик использовали величину коэффициента корреляции r [6].

Оценку правильности и прецизионности методик количественного определения методом ИК-Фурье-спектрометрии проводили в их рабочем диапазоне.

Правильность. Правильность аналитических методик оценивали по результатам измерения 9 модельных смесей (проб) с содержанием анализируемых веществ в диапазоне концентраций 80%-120%. Для оценки правильности использовали значение систематической погрешности [40].

Систематическую составляющую погрешности δ характеризовали отличием средней открываемости $\bar{Z}$ от 100%. Систематическая погрешность δ статистически значимо не отличается от нуля, если отклонение средней открываемости $\bar{Z}$ от 100% не превышает величины своего доверительного интервала (*критерия статистической незначимости*):

$$\delta\% = |\bar{Z} - 100| \leq \frac{\Delta_Z}{\sqrt{n}},$$

где Δ_Z – доверительный интервал; *n* – количество анализируемых проб (объем выборки) [26].

Прецизионность. Расчет одностороннего доверительного интервала проводили по формуле:

$$\Delta_Z = S_Z(\%) \cdot t(95\%, n-1),$$

где S_Z – стандартное отклонение (%) параметра открываемость (отношений «введено:найдено»); *t* – односторонний коэффициент Стъюдента для вероятности 95% и числа степеней свободы *n-1*.

Односторонний доверительный интервал Δ_Z не должен превышать максимально допустимую неопределенность результатов анализа Δ_{AS}.

Стандартное отклонение открываемости *Z* рассчитывали по формуле:

$$S_Z(\%) = \sqrt{\sum_{i=1}^{i=9} \frac{(Z_i - \bar{Z})^2}{n-1}}.$$

Сходимость (повторяемость) аналитических методик в виде одностороннего доверительного интервала Δ_Z оценивали по результатам измерения 9 модельных смесей (проб) с содержанием анализируемых веществ в диапазоне концентраций 80%-120% [9].

Оценку промежуточной (внутрилабораторной) прецизионности аналитических методики в виде одностороннего доверительного интервала Δ_Z проводили по данным измерения вышеуказанных 9 модельных смесей (проб), полученным в разные дни разными аналитиками [40].

2.8. Статистическая обработка результатов исследования

Статистическую обработку результатов анализа осуществляли методами вариационной статистики, корреляционного, однофакторного дисперсионного и регрессионного анализа с применением компьютерной программы «Statistica 10.0» (Statsoft Inc., USA).

Методы вариационной статистики предполагали расчет средних значений величин $\bar{Z}$, стандартного отклонения S, дисперсии S^2, расчет t-критерия Стьюдента, исследования одностороннего доверительного интервала Δ_Z [26].

Корреляционный анализ применяли для исследования взаимосвязи между предсказанной (предсказанной с помощью математической модели/определенной в ходе анализа) и фактической (принятой опорной) концентрациями анализируемых лекарственных веществ [6].

Однофакторный дисперсионный анализ использовался для определения статистически значимых различий между значениями параметров пробоподготовки таблетированных лекарственных форм [40].

Регрессионный анализ использовался для установления влияния факторов пробоподготовки таблетированных лекарственных форм на открываемость Z лекарственных веществ, а также влияния концентрации анализируемых веществ на количественные параметры ИК-спектров (латентные переменные – компоненты) [9].

Величину уровня значимости p (приемлемую границу статистической значимости) для критериев Стьюдента и F-критерия устанавливали равной 0,05.

ГЛАВА 3. РАЗРАБОТКА МАТЕМАТИЧЕСКИХ (ГРАДУИРОВОЧНЫХ) МОДЕЛЕЙ ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ КИСЛОТЫ АЦЕТИЛСАЛИЦИЛОВОЙ, КОФЕИН-БЕНЗОАТА НАТРИЯ И ПАПАВЕРИНА ГИДРОХЛОРИДА МЕТОДОМ ИК-ФУРЬЕ-СПЕКТРОМЕТРИИ

Основным этапом количественного определения является установление градуировочной зависимости – взаимосвязи между аналитическим сигналом (измеряемой величиной) и количеством анализируемого вещества в пробе.

Метод абсолютной градуировки с использованием интенсивности отдельных полос поглощения анализируемых веществ в ИК-Фурье-спектрометрии не позволяет получать результаты количественного с приемлемыми метрологическими характеристиками.

Для разработки (построения) математических моделей применяли ряд хемометрических методов. Предполагали, что основным вариантом статистической обработки и анализа будет метод частичных наименьших квадратов.

Принципиальная схема построения математических (градуировочных) моделей представлена на рисунке 2.

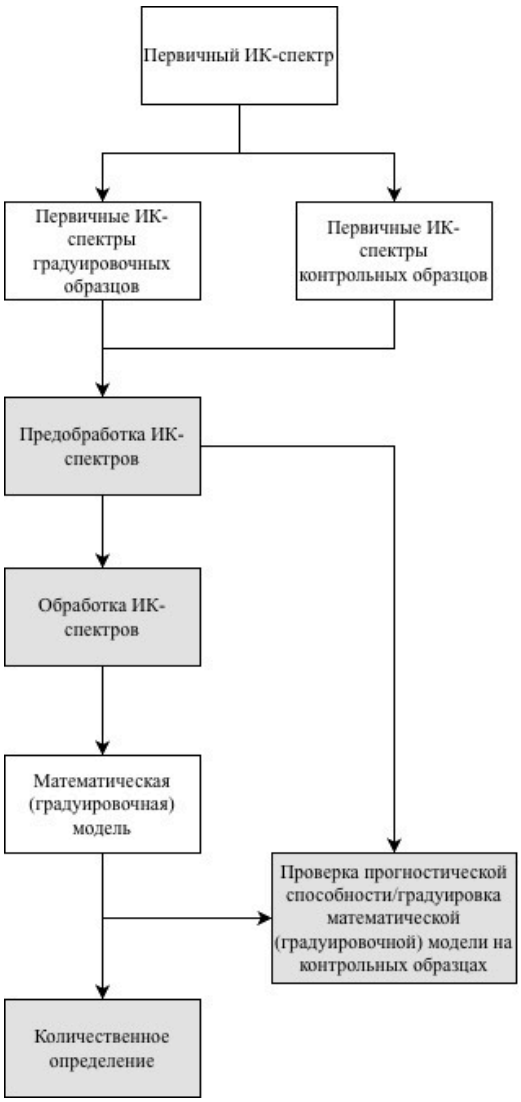


Рисунок 2 – Принципиальная схема математической (градуировочной) модели для количественного определения методом ИК-Фурье-спектрометрии.

Основными этапами разработки математических моделей были:

- регистрация первичных ИК-спектров градуировочных образцов для анализируемых веществ: кислоты ацетилсалициловой, кофеин-бензоата натрия и папаверина гидрохлорида;

- предобработка полученных первичных спектров с целью устранения мультипликативных и аддитивных эффектов, которые приводят к искажению ИК-спектров;

- обработка ИК-спектров градуировочных образцов с помощью многомерных хемометрических методов для установления зависимости между параметрами ИК-спектров и содержанием анализируемого вещества в пробах;

- проверка прогностической способности (валидация) математической (градуировочной) модели при исследовании контрольных образцов анализируемых веществ.

Таким образом построение математической (градуировочной) модели является важнейшим условием для реализации количественного определения методом ИК-Фурье-спектрометрии для лекарственных веществ.

3.1. Регистрация и предобработка ИК-спектрометрических данных (на примере количественного определения кислоты ацетилсалициловой, кофеин-бензоата натрия и папаверина гидрохлорида методом ИК-Фурье-спектрометрии)

Регистрация ИК-спектрометрических данных. Диапазон концентраций градуировочных образцов анализируемых лекарственных веществ составлял 0%-100% (масс.). Общее количество градуировочных образцов (градуировочных точек) для каждого анализируемого вещества подбирали экспериментальным путем по результатам самотестирования соответствующих математических моделей. Среднее количество градуировочных образцов составило: для кислоты ацетилсалициловой – 30, для кофеин-бензоата натрия – 30, для папаверина гидрохлорида – 40.

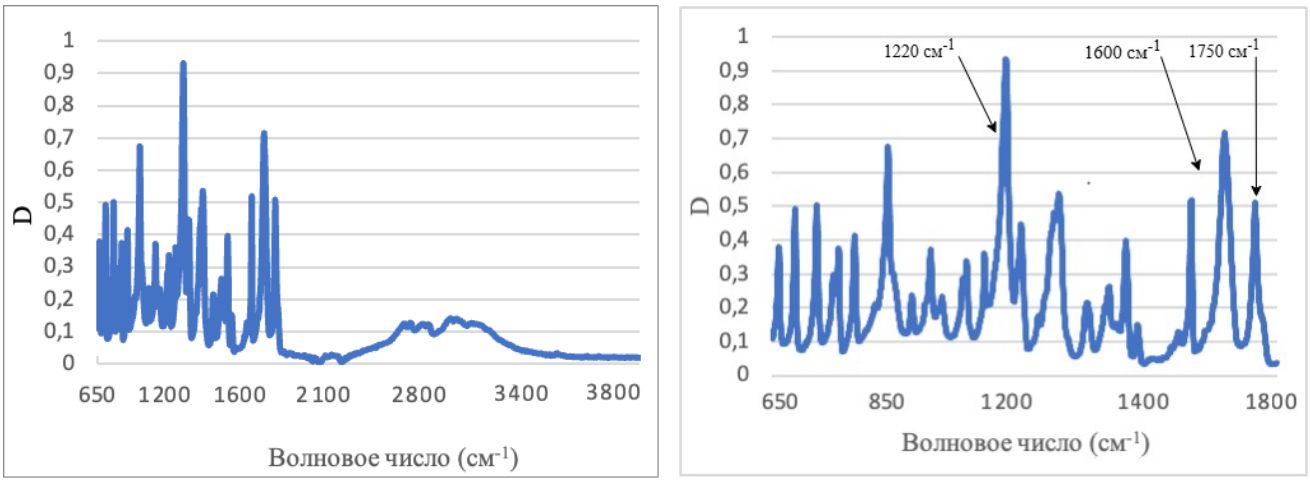
При этом в области номинального содержания лекарственных веществ в таблетированных лекарственных формах корректировали количество градуировочных образцов – увеличивали «плотность» градуировки.

Для таблеток «Ацетилсалициловая кислота» 500 мг номинальная концентрация была 83,3% (масс.), поэтому количество градуировочных точек в диапазоне 80%-90% (масс.) увеличивали до 10. Для таблеток на основе состава «Цитрамон П» номинальная концентрация составляла 4,98% (масс.), количество градуировочных точек в диапазоне 0%-10% (масс.) также было увеличено до 10.

Номинальная концентрация анализируемого вещества таблеток «Папаверина гидрохлорид» 40 мг – 11,43% (масс.), поэтому увеличение количества градуировочных точек проводили в диапазоне 5%-15% (масс.).

Регистрацию ИК-спектров проводили в диапазоне 4000-650 $см^{-1}$ для всех анализируемых образцов в режиме НПВО на алмазной призме. По результатам самотестирования математических (градуировочных) моделей для кислоты ацетилсалициловой и кофеин-бензоата натрия предположили, что диапазон длин волн, выходящий за область «отпечатков пальцев» неинформативен и мешает последующему «обучению» модели.

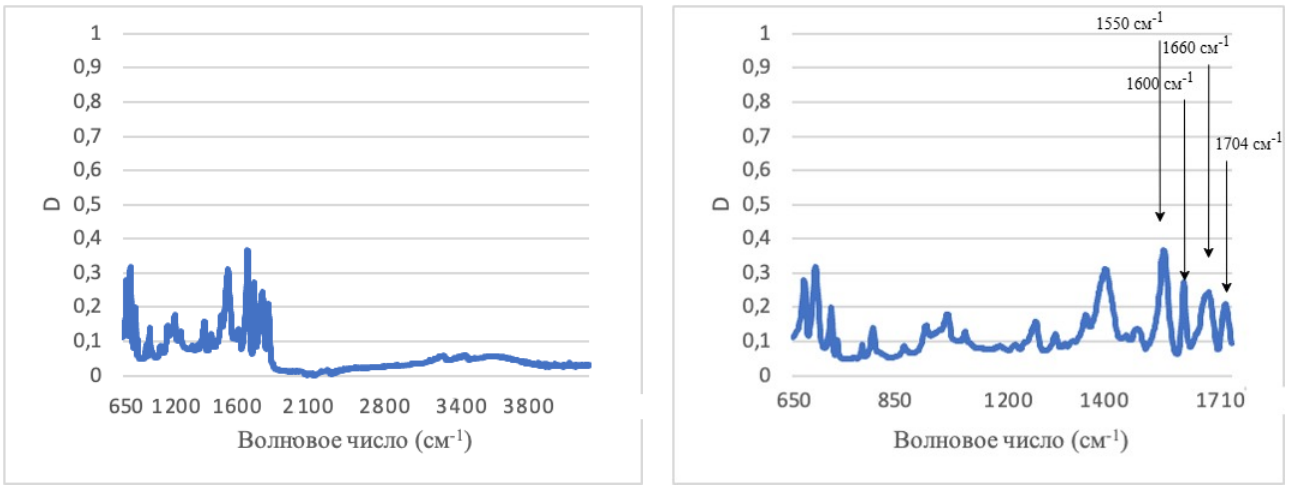
С целью оптимизации разработки моделей для кислоты ацетилсалициловой был выбран диапазон волновых чисел 1800-650 $см^{-1}$ как наиболее информативный, содержащий основные характеристические полосы поглощения кислоты ацетилсалициловой: валентные колебания карбоксильной группы при 1700 $см^{-1}$, ароматического кольца – 1600-1450 $см^{-1}$, фрагмента сложноэфирной связи – 1220 $см^{-1}$ (рис. 3).



а б

Рисунок 3 – ИК-спектр градуировочного образца кислоты ацетилсалициловой (содержание 100% (масс.), режим НПВО): диапазон волновых чисел 4000-650 $см^{-1}$ (а) и 1800-650 $см^{-1}$ (б).

Для ИК-спектров кофеин-бензоата натрия был выбран диапазон волновых чисел в диапазоне 1710-650 $см^{-1}$, данный диапазон перекрывает область «отпечатков пальцев» (рис. 3.3.). В нем регистрируются валентные колебания карбонильных групп (1704 и 1660 $см^{-1}$ для пуринового цикла кофеина), бензоат-ион дает ряд характеристических полос в диапазоне 1600-1400 $см^{-1}$ (скелетные колебания C=C) и ~1550 $см^{-1}$ (асимметричные валентные колебания карбоксилат-иона COO^-).



а б

Рисунок 4 – ИК-спектр градуировочного образца кофеин-бензоата натрия (содержание 100% (масс.), режим НПВО): диапазон волновых чисел 4000-650 $см^{-1}$ (а) и 1710-650 $см^{-1}$ (б).

Оптимизированные условия регистрации ИК-спектров в режиме НПВО для градуировочных образцов и рутинных образцов таблетированных лекарственных форм: «Ацетилсалициловая кислота» таблетки 500 мг, таблетки на основе состава «Цитрамон П», «Папаверина гидрохлорид» таблетки 40 мг представлены в таблице 3.1. Анализируемыми объектами для разрабатываемых методик количественного ИК-спектрометрического определения являются вышеуказанные таблетки, а также полупродукты их производства (таблеточная масса пробы которой отбираются с технологической линии).

Таблица 2 – Условия регистрации ИК-спектров кислоты ацетилсалициловой, кофеин-бензоата натрия и папаверина гидрохлорида

Анализируемое вещество	Диапазон волновых чисел, $см^{-1}$	Количество градуировочных образцов	Диапазон концентраций градуировочных образцов, % (масс.)	Номинальное содержание в таблетированной лекарственной форме, % (масс.)
Кислота ацетилсалициловая	1800-650	30	0-100	83,3
Кофеин-бензоата натрия	1710-650	30	0-100	4,98
Папаверина гидрохлорид	4000-650	40	0-100	11,43

Предобработка ИК-спектрометрических данных. Все действия по предобработке осуществлялись в среде программирования Python с использованием специализированных библиотек для научных вычислений и анализа данных.

Полученные массивы ИК-спектров градуировочных образцов были разделены в соотношении 70:30 по методу Кеннарда-Стоуна, который обеспечивает равномерное покрытие пространства признаков и исключает их случайное смещение. Это делалось для того, чтобы 30% градуировочных образцов использовались для самотестирования методом машинного обучения. Далее результаты самотестирования применяли для оценки оптимальности количества градуировочных образцов, диапазона регистрации ИК-спектра и корректности математических моделей, критерием для принятия решения было значение коэффициента детерминации r^2.

Критические значения коэффициентов детерминации r^2 для выбора количества градуировочных образцов и диапазонов регистрации ИК-спектров составляли 0,95; для оценки математических моделей – 0,99.

Алгоритм предобработки ИК-спектрометрических данных для «обучающей» и «тестовой» выборок включал следующие этапы (рис. 5):

– загрузка ИК-спектрометрических данных в модуль, включающий в себя компоненты: фильтр Савицкого-Голея, блок стандартного масштабирования, метод

мультипликативной коррекции рассеивания, метод стандартной нормальной вариации;

– обработка входных данных следующими комбинациями методов: мультипликативная коррекция рассеивания и блок стандартного масштабирования; мультипликативная коррекция рассеивания, блок стандартного масштабирования и фильтр Савицкого-Голея; метод стандартной нормальной вариации и блок стандартного масштабирования; метод стандартной нормальной вариации, фильтр Савицкого-Голея и блок стандартного масштабирования;

– оценка вариантов предобработки ИК-спектрометрических данных по величине коэффициентов детерминации r^2, полученных на этапе формирования и самотестирования математических (градуировочных) моделей.

Таким образом алгоритм предобработки ИК-спектрометрических данных имеет циклический характер: оценка эффективности каждого предыдущего этапа возможна только после самотестирования математической модели.

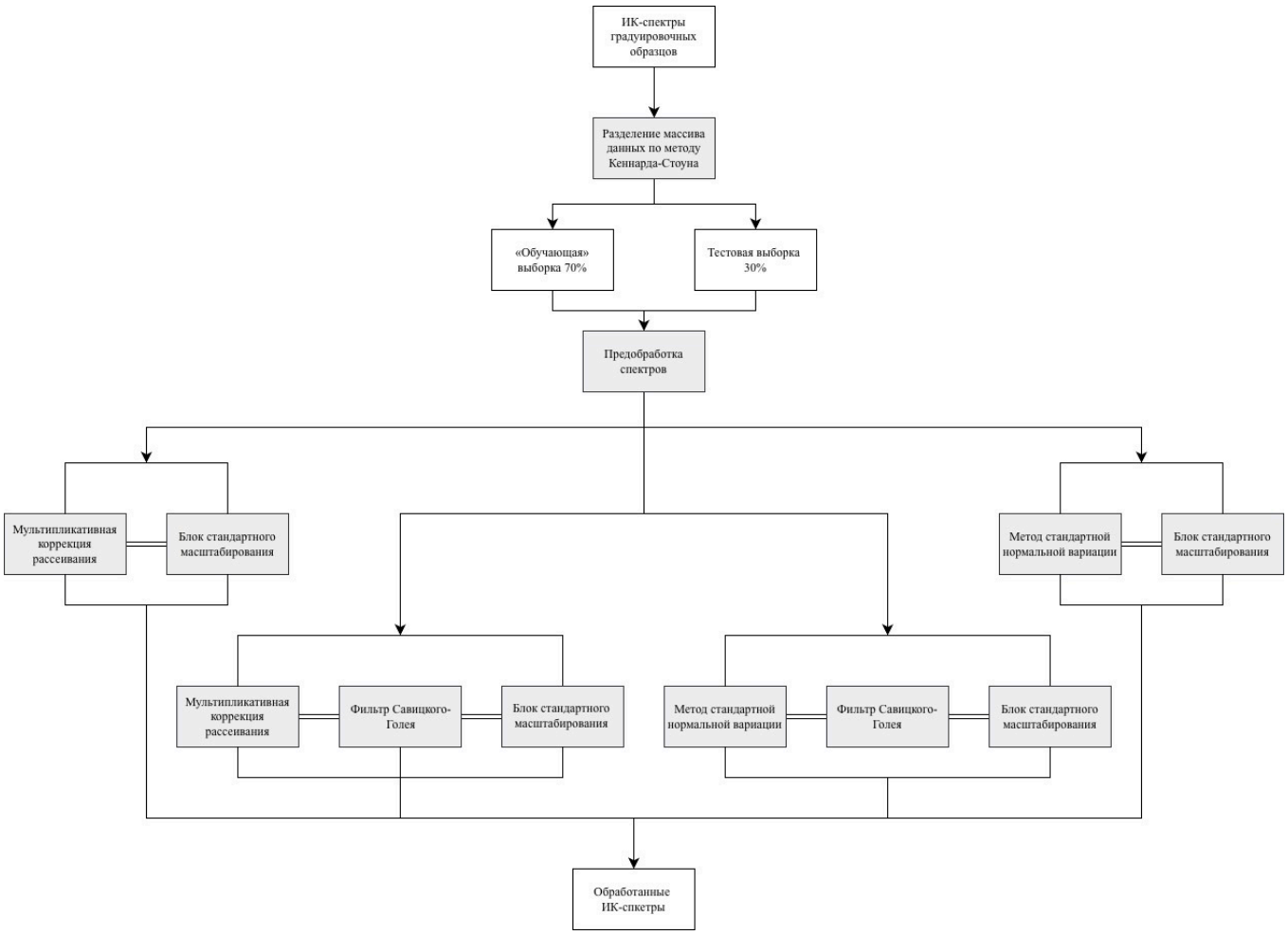


Рисунок 5 – Алгоритм предобработки ИК-спектрометрическх данных при разработке математической модели ИК-спектрометрического количественного определения.

В хемометрике существует ряд методов предобработки данных, из которых нами были выбраны наиболее подходящие для ИК-спектрометрического анализа согласно литературным данным.

Очевидно, что все методы предобработки спектральных данных направлены на устранение влияния факторов, препятствующих получению «идеального» спектра при ИК-спектрометрическом анализе. Мультипликативные и аддитивные эффекты это два основных типа систематических искажений, которые накладываются на аналитический сигнал. Данные эффекты обусловлены физическими процессами, инструментальными особенностями или методами

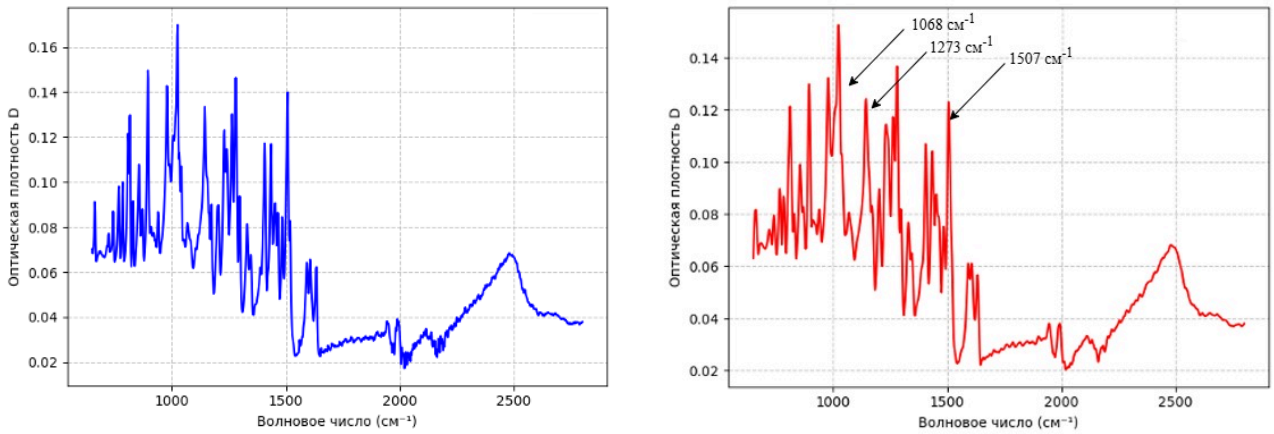
пробоподготовки и приводят к тому, что измеренный спектр отличается от «идеального» спектра, предсказанного законом Бугера-Ламберта-Бера.

Аддитивные эффекты приводят к постоянному сдвигу (смещению) всего спектра или его отдельного участка по оси ординат. Основные причины появления аддитивных эффектов заключаются в дрейфе базовой линии, постоянной засветке детектора рассеянным светом, вариации температуры детектора и неидеальности прибора.

Мультипликативные эффекты создают изменение масштаба амплитуды всего спектра ослабляя или усиливая его. Источниками данных эффектов являются: различия в длине оптического пути, рассеяние света на неоднородностях анализируемого образца, вариация размера частиц и плотность анализируемой пробы.

Фильтр Савицкого-Голея выполняет сглаживание сигнала, сохраняя высоту и ширину пиков путем локальной аппроксимации данных полиномом невысокой степени методом наименьших квадратов. Данная процедура удаляет высокочастотный шум, сохраняя аналитически значимую информацию, тем самым убирает аддитивные эффекты (сдвиг базовой линии).

На рисунке 6 представлены результаты предобработки ИК-спектра градуировочного образца папаверина гидрохлорида с содержанием 55,4% (масс.) при помощи фильтра Савицкого-Голея. Из представленных спектров видно, что предобработка позволяет избавиться от шумовой составляющей ИК-спектра, а также изменяется форма полос поглощения – пики становятся более узкими и симметричными.



а б

Рисунок 6 – ИК-спектр градуировочного образца папаверина гидрохлорида (содержание 55,4% (масс.), режим НПВО): до предобработки (а) и после предобработки методом Савицкого-Голея (б).

Мультипликативная коррекция рассеивания – метод предобработки, направленный на устранение эффектов, вызванных рассеиванием электромагнитного излучения из-за физических свойств образца или длины оптического пути. Данный методом одновременно устраняет как мультипликативные, так и аддитивные эффекты. Принцип его работы заключается в выборе опорного спектра, как правило это средний спектр, рассчитанный по всем градуировочным образцам, и затем каждый индивидуальный спектр подвергается регрессии на рассчитанный опорный спектр методом наименьших квадратов.

Метод стандартной нормальной вариации обрабатывает каждый ИК-спектр независимо от других, путем вычитания из каждого значения поглощения среднюю интенсивность всего спектра (центрирование – коррекция аддитивного сдвига), и делением результата на стандартное отклонение (масштабирование – коррекция мультипликативного эффекта). В результате подавляется неинформативная дисперсия и каждый преобразованный спектр имеет среднее значение, равное нулю, и стандартное отклонение – близкое к единице.

Блок стандартного масштабирования выполняет автономную стандартизацию каждого признака в наборе данных путем центрирования каждой переменной (характеристической полосы поглощения) и масштабирования на основе статистических параметров, полученных из всей «обучающей» выборки, в результате чего распределение каждого признака имеет среднее отклонение равное нулю и стандартное отклонение равное единице.

Критерием эффективности предобработки для каждой из вышеуказанных комбинаций методов является получение величины соответствующего коэффициента детерминации r^2 не менее 0,95.

Итогом предобработки ИК-спектров градуировочных образцов кислоты ацетилсалициловой, кофеин-бензоата натрия и папаверина гидрохлорида является массив ИК-спектров «обучающей» и тестовой выборок, в которых устранены сдвиги/дрейф базовой линии, смещение спектра и изменения масштаба его амплитуды. Параметры данных ИК-спектров позволяют осуществлять их загрузку в модуль обработки с целью дальнейшего формирования математических (градуировочных) моделей.

3.2. Методы обработки ИК-спектрометрических данных и их автоматизация (на примере количественного определения кислоты ацетилсалициловой, кофеин-бензоата натрия и папаверина гидрохлорида методом ИК-Фурье-спектрометрии)

На этапе обработки ИК-спектрометрических данных для всех анализируемых веществ были реализованы хемометрические методы, которые рекомендуется использовать для установления функциональной взаимосвязи между количеством анализируемого вещества и параметрами спектра.

Таблица 3 – Сравнительная характеристика методов обработки ИК-спектрометрических данных при разработке математических (градуировочных) моделей для кислоты ацетилсалициловой, кофеин-бензоата натрия и папаверина гидрохлорида

Анализируемые вещества	**Значение коэффициента детерминации r^2**					
	Метод частичных наименьших квадратов	Регрессия опорных векторов	Градиентный бустинг	Гребневая регрессия	Оператор наименьшего абсолютного сжатия и выбора	Метод эластичной сети
Кислота ацетилсалициловая	0,997	0,920	0,867	0,643	0,740	0,780
Кофеин-бензоат натрия	0,998	0,918	0,888	0,930	0,842	0,425
Папаверина гидрохлорид	0,993	0,933	0,919	0,824	0,864	0,570

Из результатов, представленных в таблице 3, следует что наиболее перспективным вариантом обработки данных является метод частичных наименьших квадратов – значения коэффициентов детерминации r^2 для всех анализируемых веществ были около 0,99. Остальные статистические методы показали значения целевого параметра – коэффициента детерминации r^2, не превышающие 0,93; в методе эластичной сети были получены наименьшие значения коэффициентов детерминации r^2, что исключает их дальнейшее применение в процедуре обработки ИК-спектров.

Метод частичных наименьших квадратов устанавливает зависимость между параметрами ИК-спектров и известными концентрациями для градуировочных образцов путем сокращения размерности данных и регрессии методом итерационного расчета латентных переменных, объясняющих ковариацию независимых и зависимых переменных.

Таким образом, в качестве метода обработки ИК-спектрометрических данных для целей количественного определения был выбран метод частичных наименьших квадратов.

В качестве примеров ниже приведены математические (градуировочные) модели для количественного определения кислоты ацетилсалициловой, кофеин-

бензоата натрия и папаверина гидрохлорида в таблетированных лекарственных формах.

Данные модели имеют вид обратных уравнений множественной линейной регрессии, т.е. уравнений зависимости содержания (концентрации) вещества – аргумента от зависимых переменных – латентных переменных (компонент):

$C_{Кислоты\ ацетилсалициловой} = -5{,}569 \cdot X_1 - 3{,}437 \cdot X_2 + 5{,}777 \cdot X_3 + 60{,}792$,

$C_{Кофеин\text{-}бензоата\ натрия} = 1{,}155 \cdot X_1 - 0{,}493 \cdot X_2 + 0{,}244 \cdot X_3 + 0{,}401 \cdot X_4 - 0{,}261 \cdot X_5 + 61{,}880$,

$C_{Папаверина\ гидрохлорида} = 0{,}926 \cdot X_1 + 0{,}662 \cdot X_2 + 61{,}968$,

где C – содержание анализируемого вещества в таблетированной лекарственной форме, %(масс.);

$X_1, \ldots, X_5$ – латентные переменные (компоненты метода частичных наименьших квадратов);

Коэффициенты перед $X_1, \ldots, X_5$ – коэффициенты регрессии, показывающие взаимосвязь каждой из латентных переменных (параметров ИК-спектра) с независимой переменной (содержанием анализируемого вещества);

60,792; 61,880; 61,968– свободные члены уравнения (систематическое смещение математической (градуировочной) модели).

На основании проведенных исследований нами предложен алгоритм получения математических (градуировочных) моделей для количественного определения лекарственных веществ в таблетированных лекарственных формах методом ИК-Фурье-спектрометрии (рис. 7). Сложность расчетных процедур обработки данных, градуировки затрудняет или полностью препятствует широкому применению данного алгоритма в практике контроля качества лекарственных средств в условиях рутинного анализа.

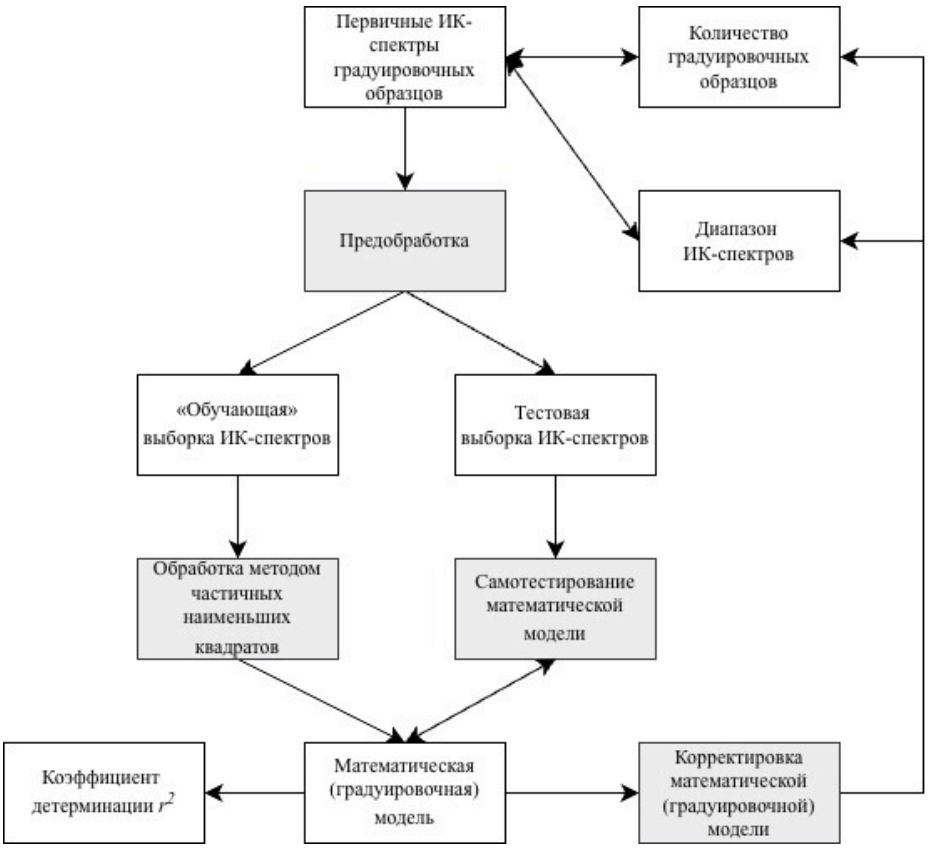


Рисунок 7 – Алгоритм получения математической (градуировочной) модели количественного анализа методом ИК-Фурье-спектрометрии.

С целью автоматизации процедуры расчета математических (градуировочных) моделей и их применения для целей количественного определения методом ИК-Фурье-спектрометрии в режиме НПВО нами была осуществлена пошаговая разработка и оптимизация компьютерной программы на основании приведенного алгоритма.

Компьютерная программа «Spectral Model Analyzer» включала все методы этапа предобработки, разделение методом Кеннарда-Стоуна (см. раздел 3.1.), метод частичных наименьших квадратов для установления зависимости между параметрами ИК-спектров и содержанием (концентрацией) анализируемых лекарственных веществ, блок самотестирования математической (градуировочной) модели, блок валидации математической (градуировочной) модели и блок расчета содержания анализируемых веществ (концентрации) в пробах контрольных и рутинных образцов таблетированных лекарственных форм (Приложение 4).

Начальным этапом получения математических моделей была процедура трансфера ИК-спектрометрических данных в системе «программное обеспечение ИК-Фурье-спектрометра – компьютерная программа Spectral Model Analyzer». В нашем эксперименте в компьютерную программу были загружены ИК-спектры градуировочных образцов кислоты ацетилсалициловой, кофеин-бензоата натрия и папаверина гидрохлорида; массив для каждого вещества загружался в виде xlsx-файла, источником которого была специализированная компьютерная программа ИК-Фурье-спектрометра.

Массив ИК-спектров разделялся по методу Кеннарда-Стоуна на «обучающие» и тестовые выборки в соотношении 70% на 30%. «Обучающая» выборка для каждого анализируемого вещества использовалась для построения математической (градуировочной) модели (рис. 8).

```
================================================================================
ОБУЧЕНИЕ МАТЕМАТИЧЕСКОЙ (ГРАДУИРОВОЧНОЙ) МОДЕЛИ
================================================================================

ЗАГРУЗКА ДАННЫХ
--------------------------------------------------------------------------------
✅ Загружено: 40 спектров, 1156 столбцов
✅ Спектры: 40x1155
✅ Концентрации: 0.00% - 100.00%

РАЗДЕЛЕНИЕ НА TRAIN/TEST (KENNARD-STONE)
--------------------------------------------------------------------------------

✅ Обучение: 32 спектров
✅ Тестирование: 8 спектров
```

Рисунок 8 – Загрузка ИК-спектров и разделение выборки на примере количественного определения папаверина гидрохлорида в таблетированной лекарственной форме (компьютерная программа «Spectral Model Analyzer»).

На следующем этапе создавали комбинации методов предобработки для всех ИК-спектров, которые используются для построения математических моделей и их самотестирования (рис. 9).

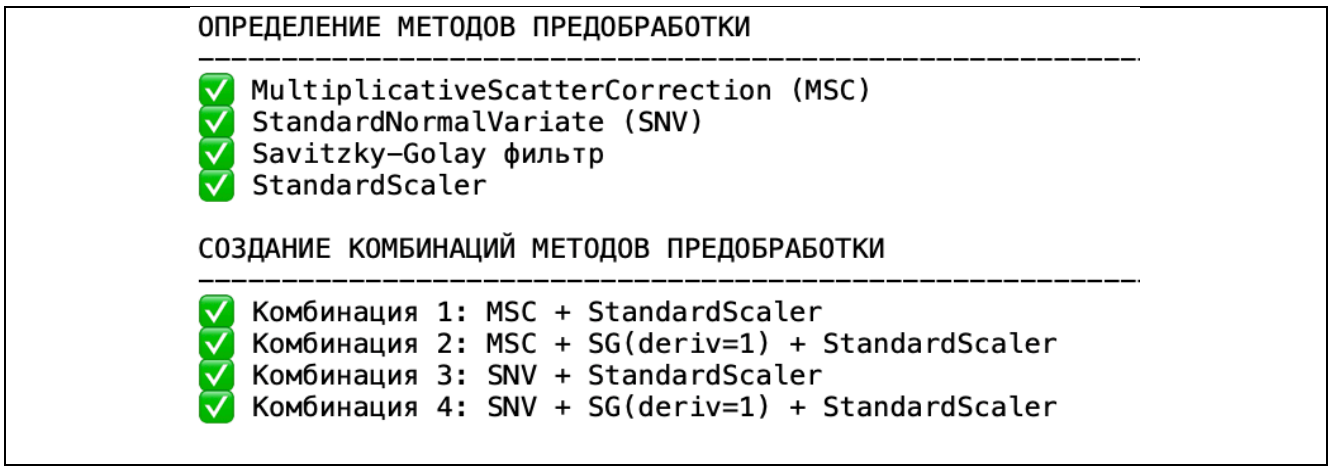


Рисунок 9 – Определение методов предобработки ИК-спектрометрических данных для построения математической (градуировочной) модели (компьютерная программа «Spectral Model Analyzer»).

С использованием алгоритмов машинного обучения компьютерная программа осуществляла выбор оптимальной комбинации методов предобработки и выполняла расчет (подбор) количества латентных переменных (компонент) для метода частичных наименьших квадратов. Критерием определения оптимального количества компонент было значение коэффициента детерминации r^2 на этапе «обучения» математической (градуировочной) модели.

На рисунке 10 представлен результат подбора комбинации методов предобработки и количества компонент – в виде окна компьютерной программы, для количественного определения папаверина гидрохлорида в таблетированной лекарственной форме. Из представленных данных видно, что использование одной компоненты, как характеристики исходного ИК-спектра, не является оптимальным вариантом – коэффициент детерминации r^2 составляет 0,9228. Применение двух компонент обеспечивает приемлемые прогностические способности математической модели, при этом величина коэффициента детерминации r^2 вырастает до 0,9926.

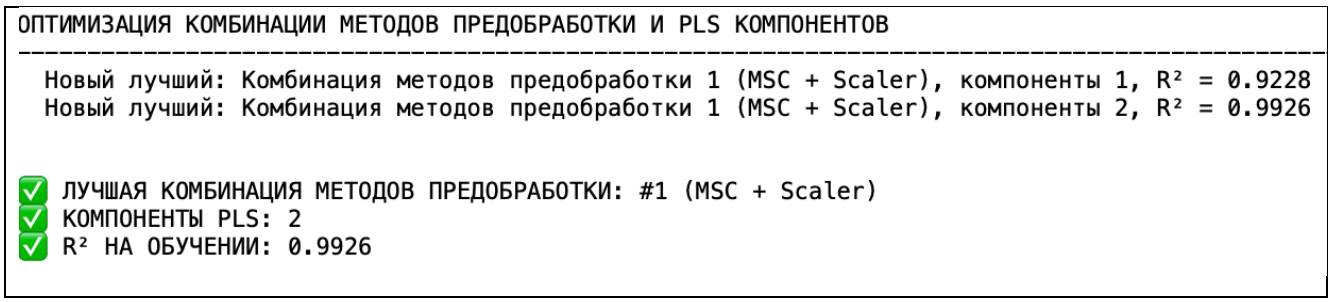


Рисунок 10 – Подбор комбинации методов предобработки и количества латентных переменных (компонент) на примере формирования математической (градуировочной) модели количественного определения папаверина гидрохлорида в таблетированной лекарственной форме (компьютерная программа «Spectral Model Analyzer»).

Следующим шагом компьютерная программа формировала обратное уравнение множественной линейной регрессии, которое отражает взаимосвязь содержания анализируемого вещества в объекте анализа с параметрами ИК-спектров (рис. 11).

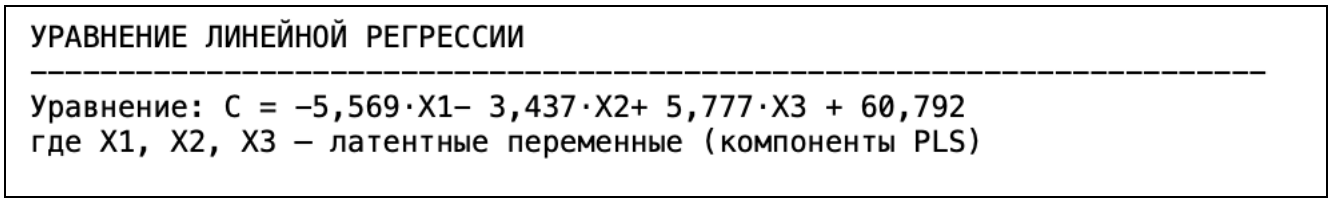


Рисунок 11 – Расчет обратного уравнения множественной линейной регрессии на примере математической (градуировочной) модели количественного определения кислоты ацетилсалициловой в таблетированной лекарственной форме (компьютерная программа «Spectral Model Analyzer»).

Вся совокупность действий по получению первичной аналитической информации, ее предобработке, обработке методом частичных наименьших квадратов является «обучением» математической (градуировочной) модели. Итог

обучения математической модели – функциональная взаимосвязь «параметры ИК-спектра (компоненты)» и «содержание анализируемого вещества».

После «обучения» математической (градуировочной) модели переходили к ее самотестированию модели на массиве ИК-спектров тестовой выборки. Это необходимо для проверки прогностической способности модели. Критические значения коэффициентов детерминации r^2 для оценки математических моделей составляли 0,99.

На рисунке 12 представлен результат самотестирования математической модели количественного определения кислоты ацетилсалициловой в таблетированной лекарственной форме. График «фактическая концентрация - предсказанная концентрация» демонстрирует высокие прогностические способности тестируемой модели.

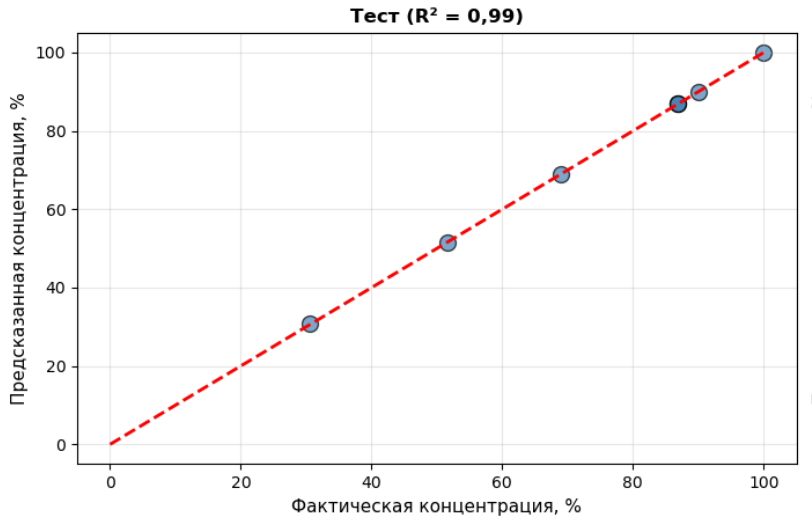


Рисунок 12 – Результат самотестирования на примере математической (градуировочной) модели количественного определения кислоты ацетилсалициловой в таблетированной лекарственной форме.

При получении результатов самотестирования, соответствующих критериям приемлемости, математические модели сохраняли в модуле компьютерной программы для дальнейшего применения для количественного определения.

На следующем этапе для полученных математических (градуировочных) моделей проводили валидацию. Цель отдельной валидации математических моделей – оценка их качества и способности обрабатывать экспериментальные данные количественного определения в условиях реального эксперимента.

Для процедуры валидации использовали контрольные образцы, аналогичные по составу градуировочным образцам для соответствующих таблетированных лекарственных форм, но эти образцы были приготовлены отдельными сериями.

Для данных образцов также были зарегистрированы ИК-спектры в режиме НПВО и для них выполняли расчет содержания анализируемых веществ с применением соответствующих математических (градуировочных) моделей.

В таблице 4 представлены результаты валидации математических моделей кислоты ацетилсалициловой, кофеин-бензоата натрия и папаверина гидрохлорида, основными критериями являются значения коэффициентов детерминации r^2 валидируемых математических моделей и показателей относительного отклонения для анализируемых контрольных образцов. Диапазон относительных отклонений для кислоты ацетилсалициловой составил от 0,13% до 4,66%, максимальное значение – 4,66% для контрольных образцов с содержанием 77,85% (масс.). Для кофеин-бензоата натрия и папаверина гидрохлорида эти диапазоны составили 0,00%-0,98% и 0,05%-2,65% соответственно. Максимальное значение относительного отклонения для кофеин-бензоата натрия наблюдали для образцов с содержанием 45,02% (масс.); для папаверина гидрохлорида – 35,43% (масс.). Для образцов с содержанием анализируемых веществ 100,00% (масс.) отклонения составили 3,86%, 0,58% и 1,43% соответственно для кислоты ацетилсалициловой, кофеин-бензоата натрия и папаверина гидрохлорида.

Таблица 4 – Результаты валидации математических (градуировочных) моделей количественного определения ацетилсалициловой кислоты, кофеин-бензоата натрия и папаверина гидрохлорида

Исследуемое вещество	**Коэффициент детерминации r^2**	**Содержание анализируемого вещества в контрольном образце, % (масс.)**	**Расчетное содержание анализируемого вещества, % (масс.)**	**Относительное отклонение, %**
Кислота ацетилсалициловая	0,997	103,86	100,00	3,86
		101,62	98,00	3,69
		93,20	94,01	0,87
		77,85	81,48	4,66
		75,95	75,85	0,13
		72,19	69,29	4,18
		61,35	62,06	1,14
		56,97	55,01	3,57
		34,54	35,00	1,31
		14,58	14,96	2,55
Кофеин-бензоата натрия	0,998	99,42	100,00	0,58
		97,35	97,85	0,52
		95,12	96,01	0,93
		87,79	87,92	0,14
		79,86	79,94	0,10
		62,37	62,05	0,51
		44,58	45,02	0,98
		39,81	39,87	0,16
		35,05	35,02	0,10
		15,11	15,11	0,00
Папаверина гидрохлорид	0,993	100,00	98,57	1,43
		84,85	84,25	0,71
		82,98	83,02	0,05
		77,85	77,84	0,01
		68,96	69,45	0,71
		67,00	66,75	0,37
		40,87	40,78	0,22
		35,43	34,49	2,65
		13,57	13,68	0,81
		12,91	12,81	0,77

В результате получены математические (градуировочные) модели прошли два уровня проверки пригодности:

- самотестирование на тестовой выборке (программный вариант проверки);

- валидация в реальном эксперименте (на выборке контрольных образцов анализируемых объектов).

В компьютерную программу «Spectral Model Analyzer» включен модуль расчета содержания анализируемого вещества в анализируемых образцах: контрольных пробах, рутинных пробах таблетированных лекарственных форм. ИК-спектр пробы загружали в модуль программы в виде xlsx-файла, он подвергается описанной выше процедуре предобработки.

После предобработки с применением математической (градуировочной) модели выполнялся расчет содержания анализируемого вещества в таблетированной лекарственной форме (%(масс.)) на основании параметров ИК-спектра. Пример расчета содержания папаверина гидрохлорида в образце «Папаверина гидрохлорид» таблетки 40 мг представлен на рисунке 13.

```
================================================================================
РАССЧЕТ КОЛИЧЕСТВЕННОГО СОДЕРЖАНИЯ
================================================================================

[1/5] Загрузка модели...
   ✅ Модель: PLS-2
   ✅ Методы предобработки: SNV + Scaler
   ✅ PLS компоненты: 2


[2/5] Загрузка спектра для предсказания...
   ✅ Файл загружен: Tabl_papaverin.xlsx
   ✅ Форма: (1, 1155)

[3/5] Проверка столбцов...
   ✅ Столбцы проверены: 1155 волновых чисел

[4/5] Применение предобработки (точно как на обучении)...
   → Применяю SNV (загруженный объект)...
   → Применяю SG фильтр (window=7, poly=3, deriv=1)...
   → Применяю StandardScaler (загруженный объект)...
   ✅ Предобработка завершена: форма (1, 1155)

[5/5] Предсказание концентрации...
   ✅ Предсказание успешно выполнено

================================================================================
РЕЗУЛЬТАТЫ
================================================================================
Файл: Tabl_papaverin.xlsx
Количество спектров: 1
Диапазон предсказаний: 11.42% - 11.42%
Среднее значение: 11.42%
================================================================================
```

Рисунок 13 – Модуль расчета содержания анализируемого вещества компьютерной программы «Spectral Model Analyzer» (количественное определение «Папаверина гидрохлорид» таблеток 40 мг).

Таким образом разработанная компьютерная программа «Spectral Model Analyzer» реализует алгоритмы получения математической (градуировочной) модели и расчета содержания анализируемых веществ в количественном анализе методом ИК-Фурье-спектрометрии.

Выводы по главе 3

1. На примере количественного ИК-спектрометрического анализа кислоты ацетилсалициловой, кофеин-бензоата натрия и папаверина гидрохлорида в таблетированных лекарственных формах установлены условия этапа градуировки: диапазоны регистрации ИК-спектров, необходимое количество градуировочных образцов в интервале содержаний анализируемых веществ 0,00%(масс.)-100,00%(масс.). Определены оптимальные варианты предобработки ИК-спектрометрических данных с использованием методов мультипликативной коррекции рассеивания, стандартной нормальной вариации, стандартного масштабирования, фильтра Савицкого-Голея.
2. Предложен алгоритм разработки математических (градуировочных) моделей в количественном анализе твердых лекарственных форм методом ИК-Фурье-спектрометрии в режиме НПВО. Данный алгоритм включает предобработку ИК-спектров анализируемых образцов, разделение массива ИК-спектров градуировочных образцов на «обучающую» и тестовую выборки, построение математических (градуировочных) моделей методом частичных наименьших квадратов, самотестирование модели на тестовой выборке и валидацию модели в условиях реального эксперимента (на контрольных образцах). Предложенный алгоритм имеет циклический характер: оценка эффективности каждого предыдущего этапа возможна только после самотестирования математической модели, критерием приемлемости является величина коэффициента детерминации r^2 не менее 0,99.
3. Получены математические (градуировочные) модели для количественного определения методом ИК-Фурье-спектрометрии кислоты ацетилсалициловой, кофеин-бензоата натрия и папаверина гидрохлорида в таблетированных

лекарственных формах. Данные модели имеют вид обратных уравнений множественной линейной регрессии. Количество латентных переменных (компонент) в уравнениях составило: для математической модели количественного определения кислоты ацетилсалициловой – 3, для кофеин-бензоата натрия – 5 и для папаверина гидрохлорида – 2.

4. Для автоматизации процедур обработки данных, построения математических (градуировочных) моделей, расчета результатов количественного ИК-спектрометрического анализа разработана компьютерная программа «Spectral Model Analyzer».

ГЛАВА 4. РАЗРАБОТКА МЕТОДИК КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ МЕТОДОМ ИК-ФУРЬЕ-СПЕКТРОМЕТРИИ (НА ПРИМЕРАХ ОПРЕДЕЛЕНИЯ КИСЛОТЫ АЦЕТИЛСАЛИЦИЛОВОЙ, КОФЕИН-БЕНЗОАТА НАТРИЯ И ПАПАВЕРИНА ГИДРОХЛОРИДА В ТАБЛЕТИРОВАННЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМАХ)

Ключевыми элементами разработки методик количественного анализа методом ИК-Фурье-спектрометрии являются планирование пробоподготовки анализируемых объектов и получение математических (градуировочных) моделей (рис. 14).

В главе 3 представлен алгоритм получения математических (градуировочных) моделей на примерах количественного определения кислоты ацетилсалициловой, кофеин-бензоата натрия и папаверина гидрохлорида в таблетированных лекарственных формах.

Пробоподготовка, как этап количественного анализа, в значительной степени определяет метрологические характеристики аналитической методики в целом. Отсутствие единства методических подходов к реализации пробоподготовки приводит к большому разбросу результатов количественного определения лекарственных веществ в условиях конкретной лаборатории. Оптимизация процедуры пробоподготовки таблетированных лекарственных форм является важнейшим условием достижения правильности и прецизионности в количественной ИК-Фурье-спектрометрии.



Рисунок 14 – Алгоритм разработки аналитической методики количественного определения лекарственных веществ методом ИК-Фурье-спектрометрии.

4.1. Планирование пробоподготовки для методик количественного определения кислоты ацетилсалициловой, кофеин-бензоата натрия и папаверина гидрохлорида в таблетированных лекарственных формах

Планирование и оптимизация пробоподготовки в таблетированных лекарственных формах включали следующие этапы:

– предварительное определение перечня факторов, обеспечивающих воспроизводимость регистрации аналитического сигнала, и уровней их варьирования (три уровня);

– генерация матрицы эксперимента – ключевым моментом данного этапа является адекватное формирование (баланс между позициями: «не потерять значимые факторы» и «получить рациональный объем реального эксперимента»);

– проведение эксперимента в соответствии с матрицей;

– построение математической модели пробоподготовки твердых лекарственных форм;

– определение комбинаций факторов, которые обеспечивают открываемость, соответствующую критериям приемлемости по содержанию лекарственных веществ в таблетированных лекарственных формах;

– практические рекомендации по разработке методик пробоподготовки и их апробация.

Очевидно, что пробоподготовка направлена на максимальное извлечение анализируемого вещества из пробы исследуемого объекта при минимальных трудовых и временных затратах, а также обеспечение воспроизводимости методики. В качестве параметра оптимизации выбрали значение открываемости кислоты ацетилсалициловой, кофеина-бензоата натрия, папаверина гидрохлорида в таблетках: «Ацетилсалициловая кислота», таблетки 500 мг; таблетки на основе состава «Цитрамон П» (кофеин-бензоат натрия) и «Папаверина гидрохлорид», таблетки 40 мг соответственно.

Определение перечня факторов пробоподготовки и уровней их варьирования. Пробоподготовка анализируемых лекарственных форм состоит из процедуры их измельчения и последующего контроля параметров, обеспечивающих стандартные условия регистрации ИК-спектра в режиме НПВО (с применением алмазной призмы).

Нами были выбраны основные факторы пробоподготовки, влияющие на параметр оптимизации:

- измельченность таблеточной массы, полученной при пробоподготовке таблетированной лекарственной формы, мкм;

- влажность таблеточной массы, %;

- интервал времени между пробоподготовкой и регистрацией ИК-спектров, мин.

Уровни варьирования указанных факторов при проведении пробоподготовки представлены в таблице 5.

Таблица 5 – Уровни варьирования факторов, влияющих на пробоподготовку таблетированных лекарственных форм

Фактор	Уровни варьирования		
	-1	0	+1
«Ацетилсалициловая кислота» таблетки 500 мг			
X_1 – измельченность, мкм	125	180	355
X_2 – влажность, %	0,5	1,5	3,0
X_3 – время между пробоподготовкой и регистрацией ИК-спектров, мин	30	60	180
«Цитрамон П» (кофеин-бензоат натрия) таблетки*			
X_1 – измельченность, мкм	125	180	355
X_2 – влажность, %	0,1	3	5
X_3 – время между пробоподготовкой и регистрацией ИК-спектров, мин	30	180	360
«Папаверина гидрохлорид» таблетки 40 мг			
X_1 – измельченность, мкм	125	180	355
X_2 – влажность, %	0,5	5	8
X_3 – время между пробоподготовкой и регистрацией ИК-спектров, мин	30	60	120

* - таблетки на основе состава «Цитрамон П» с заменой кофеина на кофеин-бензоат натрия

Генерация матрицы эксперимента. Оценку уровня открываемости для кислоты ацетилсалициловой, кофеин-бензоата натрия и папаверина гидрохлорида проводили по схеме многофакторного трехуровневого планирования по плану Бокса-Бенкена (3 фактора, 1 блок, 15 опытов). При помощи компьютерной программы «ChemPlan 1.0» получали матрицу эксперимента для пробоподготовки лекарственных препаратов: «Ацетилсалициловая кислота» таблетки 500 мг, таблетки на основе состава «Цитрамон П» и «Папаверина гидрохлорид» таблетки 40 мг, состоящую из 15 опытов на каждый из которых распространялось влияние уровня факторов.

Были получены рандомизированные матрицы экспериментов для пробоподготовки исследуемых таблеток.

Проведение эксперимента в соответствии с матрицей. В полученные матрицы после проведения пробоподготовки и количественного определения методом ИК-Фурье-спектрометрии вносили значения открываемости для каждого анализируемого вещества (табл. 6 - 8).

Таблица 6 – Матрица эксперимента и экспериментальные данные по пробоподготовке для таблеток «Ацетилсалициловая кислота» 500 мг

Факторы пробоподготовки для «Ацетилсалициловая кислота» таблетки 500 мг			Открываемость, %
X_1	X_2	X_3	
355,00	1,50	30,00	88,64
180,00	1,50	60,00	101,10
355,00	0,50	60,00	87,48
180,00	0,50	180,00	116,35
125,00	1,50	30,00	114,27
180,00	1,50	60,00	99,78
125,00	0,50	60,00	115,55
355,00	3,00	60,00	117,15
355,00	1,50	180,00	114,44
125,00	3,00	60,00	87,18
180,00	1,50	60,00	100,24
180,00	3,00	30,00	86,85
125,00	1,50	180,00	116,67
180,00	3,00	180,00	87,23
180,00	0,50	30,00	115,33

Полученные экспериментальные данные по открываемости лекарственных веществ использовали для статистического анализа, целью которого было получение математических моделей процедуры пробоподготовки таблетированных лекарственных форм в ИК-Фурье-спектрометрии.

Таблица 7 – Матрица эксперимента и экспериментальные данные по пробоподготовке для таблеток на основе состава «Цитрамон П»

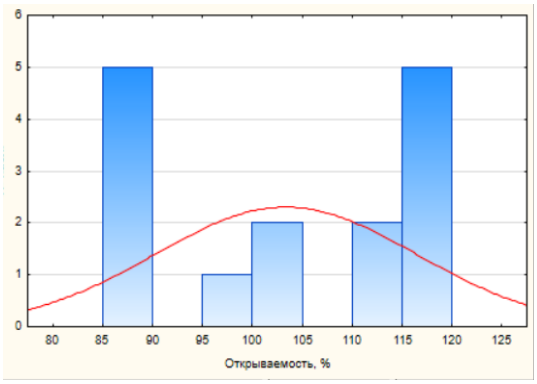
Факторы пробоподготовки для «Цитрамон П» (кофеин-бензоат натрия) таблетки			Открываемость, %
X_1	X_2	X_3	
125,00	0,10	180,00	114,60
355,00	0,10	180,00	115,24

125,00	5,00	180,00	115,30
355,00	5,00	180,00	114,41
125,00	3,00	30,00	100,21
355,00	3,00	30,00	101,10
125,00	3,00	360,00	116,12
355,00	3,00	360,00	114,45
180,00	0,10	30,00	99,98
180,00	5,00	30,00	99,84
180,00	0,10	360,00	116,14
180,00	5,00	360,00	115,70
180,00	3,00	180,00	99,12
180,00	3,00	180,00	100,82
180,00	3,00	180,00	100,33

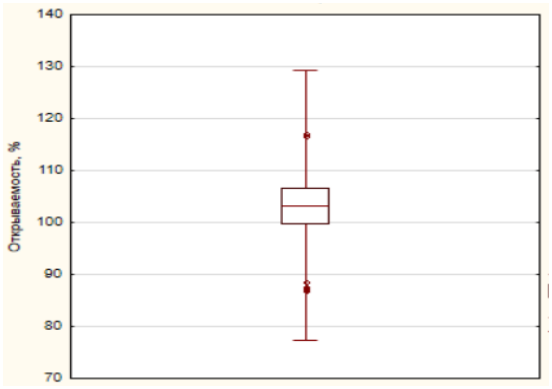
Таблица 8 – Матрица эксперимента и экспериментальные данные по пробоподготовке для таблеток «Папаверина гидрохлорид» 40 мг

Факторы пробоподготовки для «Папаверина гидрохлорид» таблетки 40 мг			Открываемость, %
X_1	X_2	X_3	
125,00	0,50	60,00	99,19
355,00	0,50	60,00	100,82
125,00	8,00	60,00	115,12
355,00	8,00	60,00	115,89
125,00	5,00	30,00	113,44
355,00	5,00	30,00	87,89
125,00	5,00	120,00	113,20
355,00	5,00	120,00	86,10
180,00	0,50	30,00	99,39
180,00	8,00	30,00	114,86
180,00	0,50	120,00	100,62
180,00	8,00	120,00	115,74
180,00	5,00	60,00	101,00
180,00	5,00	60,00	101,07
180,00	5,00	60,00	101,00

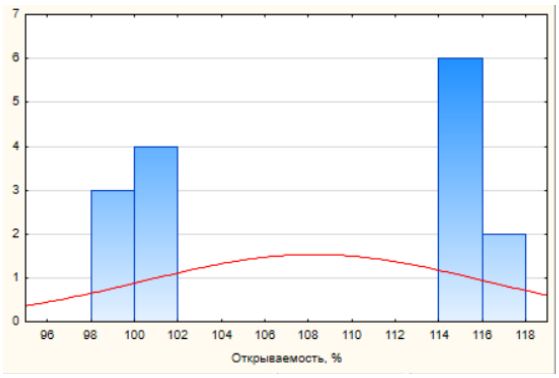
На рисунке 15 представлены средства визуальной оценки соответствия распределения массива данных по открываемости закону нормального распределения для всех анализируемых таблеток.



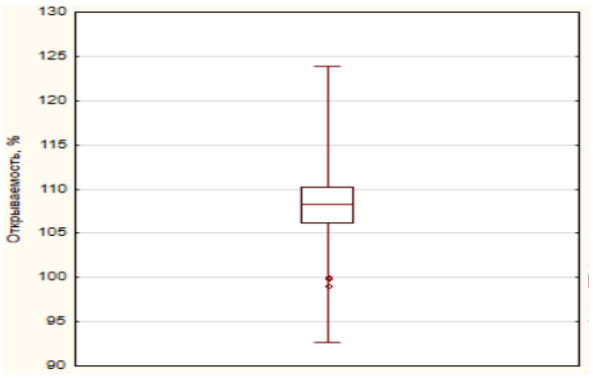
а



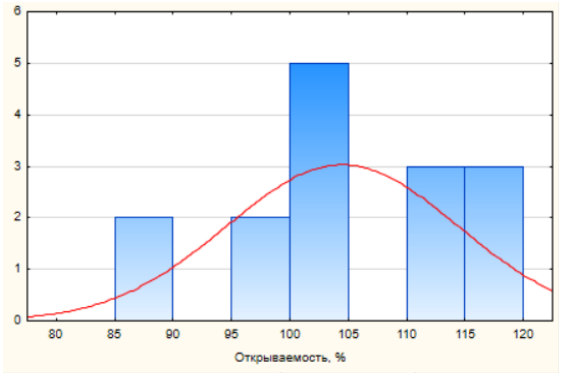
б



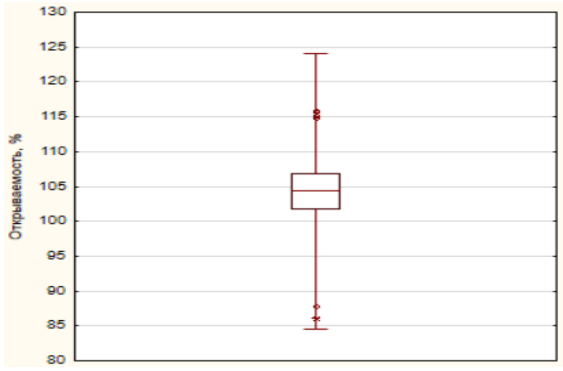
в



г



д



е

Рисунок 15 – Гистограммы распределения (а), диаграммы разброса данных (б) по показателю «Открываемость»: кислоты ацетилсалициловой в таблетках «Ацетилсалициловая кислота» 500 мг (а,б); кофеин-бензоата натрия в таблетках на основе состава «Цитрамон П» (в,г) и папаверина гидрохлорида в таблетках «Папаверина гидрохлорид 40 мг (д,е).

Гистограмма распределения адекватно описывается кривой нормального распределения Гаусса, только для варианта пробоподготовки таблеток «Папаверина

гидрохлорид», для таблеток «Ацетилсалициловая кислота» и таблеток на основе состава «Цитрамон П» распределение имеет два максимума. Диаграммы разброса данных (среднее значение с интервалами нижнего и верхнего квартилей) являются симметричными.

Результаты эксперимента по определению открываемости кислоты ацетилсалициловой, кофеин-бензоата натрия и папаверина гидрохлорида в виде xls-файла экспортировали в модуль программы «Statistica 10.0»: «Таблица данных» - «Планирование экспериментов» - «Планы 3(К-р) и планы Бокса-Бенкена» - «Анализ эксперимента с трехуровневыми факторами».

Построение математических моделей пробоподготовки таблетированных лекарственных форм. Для построения математической модели пробоподготовки лекарственных веществ была реализована одна повторность плана после его рандомизации. В общем виде математическая модель описывающая зависимость параметра «Открываемость» от значений влияющих факторов описывается функцией $\omega = f(X_1, X_2, X_3)$.

Для проверки уравнения регрессии рассчитаны коэффициенты множественной корреляции *r*, для каждого из исследуемых образцов. Их значения варьировали в интервале от 0,57 до 0,99. Для таблеток на основе состава «Цитрамон П» и «Папаверина гидрохлорид» значения коэффициентов корреляции составило 0,99 и 0,85 соответственно, что свидетельствует о сильной связи между показателем открываемости лекарственных веществ и набором факторных показателей (рассматриваемых параметров пробоподготовки).

Статистическую надежность множественной регрессии оценивали на основании *F*-критерия (критерия Фишера) путем сравнения фактических значений *F*-критериев с его табличным значением. Для нашего исследования табличный *F*-критерий (95%; 3; 11) имел значение 3,59.

Полученные фактические значения *F*-критерия составили: 1,28 – для таблеток «Ацетилсалициловая кислота»; 4,68 и 3,74 – для таблеток на основе состава «Цитрамон П» и «Папаверина гидрохлорид» соответственно.

Таким образом в проведенном регрессионном анализе для пробоподготовки лекарственных веществ фактические значения *F*-критерия для таблеток на основе состава «Цитрамон П» и «Папаверина гидрохлорида» превышали табличное значение, это значит, что с вероятностью более 95% принимается гипотеза о том, что полученные экспериментальные данные не являются случайными и сформированы под влиянием существенных факторов. Для таблеток «Ацетилсалициловая кислота» фактическое значение *F*-критерия не превышало табличного значения, что свидетельствует о случайном характере влияния выбранных факторов.

Величины коэффициентов детерминации r^2 для таблеток «Папаверина гидрохлорид» и таблеток на основе состава «Цитрамон П» имели значение 0,72 и 0,99, что интерпретируется как хорошее соответствие модели экспериментальным данным и свидетельствует о высокой точности аппроксимации. Для таблеток «Ацетилсалициловая кислота» ацетилсалициловой данный показатель составил 0,32 – следовательно рассматриваемые факторы объясняют лишь 32% вариабельности результатов.

Выборочные дисперсии *SS* принимали значения в интервале 0,60-271,77. Для процедуры пробоподготовки таблеток на основе состава «Цитрамон П» минимальное значение выборочной дисперсии *SS* – 0,60 также указывает на высокую прогностическую способность модели. Для остальных таблетированных лекарственных форм данный показатель имеет достаточно высокое значение. В таблице 9 приведены параметры используемые для проверки достоверности модели регрессии, описывающих пробоподготовку таблетированных лекарственных форм.

Таблица 9 – Статистические параметры для пробоподготовки образцов: «Ацетилсалициловая кислота» таблетки 500 мг; таблеток на основе состава «Цитрамон П»; «Папаверина гидрохлорид» таблетки 40 мг

Образец	*r*	$F_{факт}$	r^2	*p*	*SS*
«Ацетилсалициловая кислота» таблетки 500 мг	0,57	1,28	0,32	>0,05	201,77

«Цитрамон П» (кофеин-бензоат натрия) таблетки	0,99	4,86	0,99	<0,05	0,60
«Папаверина гидрохлорид» таблетки 40 мг	0,85	3,74	0,72	<0,05	47,73

Для формирования математических регрессионных моделей был получен набор коэффициентов множественной линейной регрессии для каждого экспериментального блока данных по открываемости лекарственных веществ в таблетированных лекарственных формах, который представлен в таблице 10.

Таблица 10 – Коэффициенты уравнений множественной линейной регрессии для пробоподготовки образцов: «Ацетилсалициловая кислота» таблетки 500 мг; таблеток на основе состава «Цитрамон П»; «Папаверина гидрохлорид» таблетки 40 мг

Образец сравнения	Независимый член уравнения	K_1	K_2	K_3
Ацетилсалициловая кислота» таблетки 500 мг	103,64	-6,49	-14,08	7,40
«Цитрамон П» (кофеин-бензоат натрия) таблетки	141,73	-0,38	-6,50	0,05
«Папаверина гидрохлорид» таблетки 40 мг	126,58	-0,20	-3,40	0,04

В качестве примеров ниже приведены уравнения множественной линейной регрессии (математические модели пробоподготовки) для «Ацетилсалициловая кислота» таблетки 500 мг, таблеток на основе состава «Цитрамон П», «Папаверина гидрохлорид» таблетки 40 мг:

$Z_{Ацетилсалициловая\ к\text{-}та} = - 6{,}49 \cdot X_1 - 14{,}08 \cdot X_2 + 7{,}40 \cdot X_3 + 100{,}74$

$Z_{Цитрамон\ П\ (кофеин\text{-}бензоат\ натрия)} = -0{,}38 \cdot X_1 - 6{,}50 \cdot X_2 + 0{,}05 \cdot X_3 + 141{,}73$

$Z_{Папаверина\ гидрохлорид} = -0{,}20 \cdot X_1 - 3{,}40 \cdot X_2 + 0{,}04 \cdot X_3 + 126{,}50,$

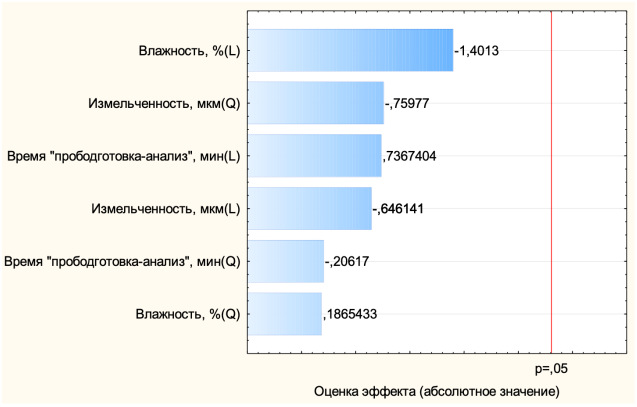
где Z – открываемость лекарственных веществ в таблетированных лекарственных формах, %;

X_1- X_3 – факторы, влияющие на пробоподготовку (табл. 4.1)

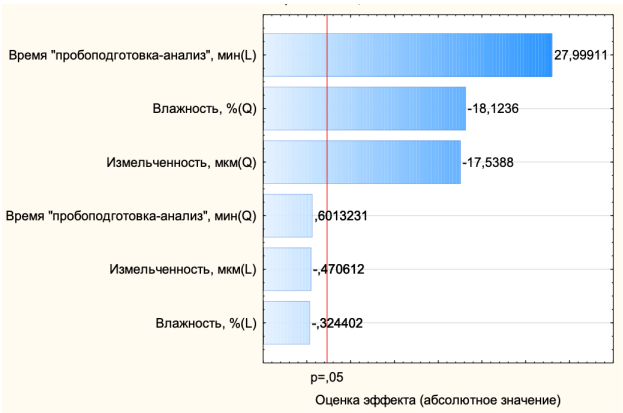
Определение факторов, которые обеспечивают открываемость, соответствующую критериям приемлемости по содержанию лекарственных веществ в таблетированных лекарственных формах. При выборе факторов пробоподготовки исходили из предположения что они в большей степени влияют на воспроизводимость регистрации аналитического сигнала – ИК-спектра.

На основании полученных данных для таблетированных лекарственных форм: «Ацетилсалициловая кислота» таблетки 500 мг, таблеток на основе состава «Цитрамон П», «Папаверина гидрохлорид» таблетки 40 мг установлено их существенное влияние на процедуру пробоподготовки.

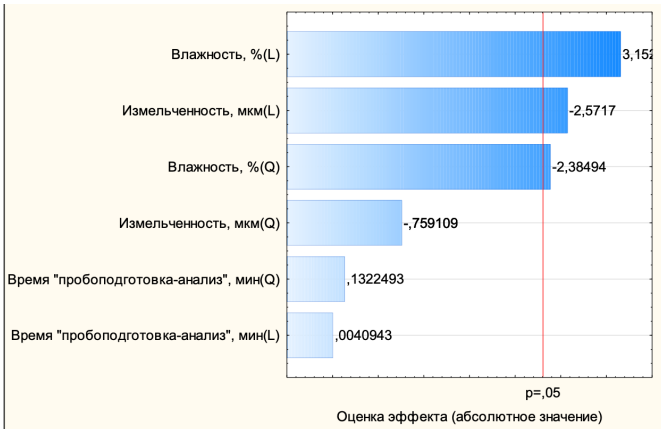
Для визуализации изучаемого процесса и представления взаимодействий факторов, влияющих на открываемость, строили карты Парето для стандартизованных эффектов. На рисунке 16 представлены вышеуказанные карты стандартизированных эффектов для пробоподготовки таблетированных лекарственных форм: «Ацетилсалициловая кислота» таблетки 500 мг (а), таблетки на основе состава «Цитрамон П» (б), «Папаверина гидрохлорид» таблетки 40 мг (в).



а



б



в

Рисунок 16 – Карты Парето стандартизированных эффектов для пробоподготовки таблетированных лекарственных форм: «Ацетилсалициловая кислота» таблетки 500 мг (а), таблетки на основе состава «Цитрамон П» (б), «Папаверина гидрохлорид» таблетки 40 мг (в); L – линейные эффекты, Q – квадратичные эффекты.

Из представленных карт Парето следует: несмотря на наличие определенного уровня влияния всех факторов пробоподготовки, статистическая значимость данного влияния различается для каждой таблетированной лекарственной формы (рис. 16).

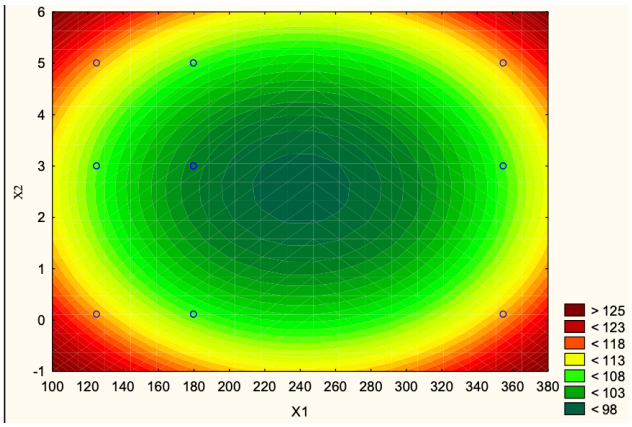
Для таблеток «Ацетилсалициловая кислота» стандартизованные эффекты всех факторов не превышают предела статистической значимости, их абсолютные значения невелики, а изменения показателя «Открываемость» при переходе от минимальных к максимальным уровням факторов не выходят за пределы 2%. Это позволяет рассматривать процедуру пробоподготовки как устойчивую к вариациям измельченности, влажности анализируемых проб измельченных таблеток, а также времени между пробоподготовкой и регистрацией ИК-спектра.

Для таблеток на основе состава «Цитрамон П» на картах Парето наблюдаются высокие значения стандартизованных эффектов для всех трех факторов, что свидетельствует о выраженном влиянии на показатель открываемости измельченности, влажности проб измельченных таблеток, а также интервала времени «пробоподготовка-регистрация ИК-спектра». В этом случае методика

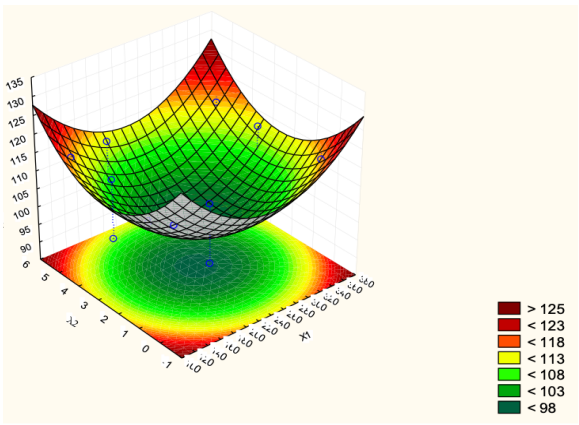
количественного определения чувствительна к отклонениям параметров пробоподготовки и требует их строгого контроля.

Для таблеток «Папаверина гидрохлорид» максимальный стандартизованный эффект демонстрирует фактор «Влажность», при этом влияние измельченности и интервала времени «пробоподготовка-регистрация ИК-спектра» выражено в меньшей степени. Это указывает на необходимость контроля влажности таблеточной массы при пробоподготовке данной лекарственной формы.

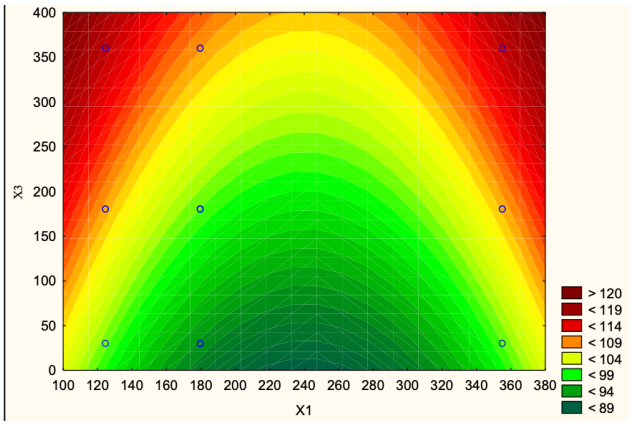
Для визуализации математической модели влияния параметров пробоподготовки и их различных комбинаций для каждого лекарственного вещества получали графические изображения в виде поверхностей отклика и контурных диаграмм зависимости показателя «Открываемость» от выбранных факторов (рис. 17). Поверхность данных диаграмм цветом наглядно демонстрирует градацию эффективности пробоподготовки от уровня влияния факторов.



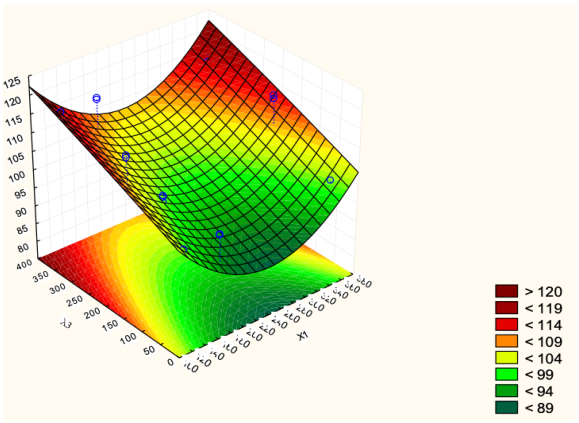
а



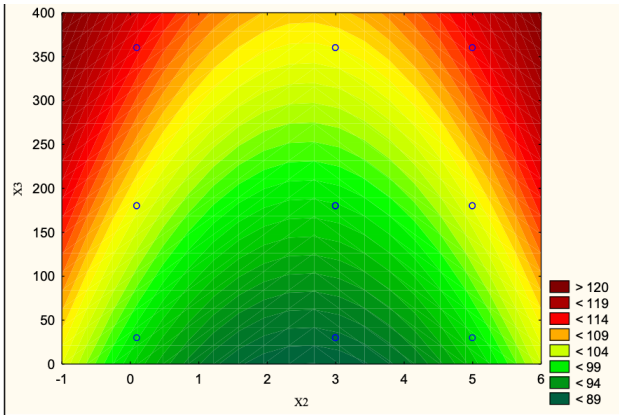
б



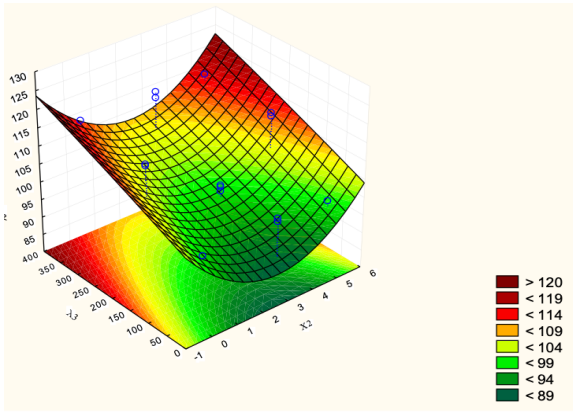
в



г



д



е

Рисунок 17 – Контурные диаграммы (а, в, д) и поверхности отклика (б, г, е) зависимости значения «Открываемость», % от значимых факторов X_1, X_2, X_3 для таблеток на основе состава «Цитрамон П» (анализируемое вещество – кофеин-бензоат натрия).

Из рисунка 17 следует что выраженное значение имеют следующие сочетания факторов пробоподготовки: измельченность образца до размера частиц 180 мкм и влажность образца 3%; измельченность 180 мкм и интервал времени «пробоподготовка-регистрация ИК-спектра» 30 мин; влажность образца 3% и интервал времени «пробоподготовка-регистрация ИК-спектра» 30 мин. Указанные сочетания факторов пробоподготовки соответствуют значению показателя «Открываемость», который находится в пределах значений критерия приемлемости – открываемость кофеин-бензоата натрия 90-110% от номинального содержания в таблетках на основе состава «Цитрамон П». Смещения уровней факторов на порядок выше или ниже приводят к изменению показателя открываемости.

Аналогичным образом были установлены оптимальные комбинации факторов пробоподготовки для таблетированных лекарственных форм «Ацетилсалициловая кислота» и «Папаверина гидрохлорид» (Приложение 5).

Оптимальное значение показателя «Измельченность» для данных таблетированных лекарственных форм – размер частиц 180 мкм. Оптимальное значение влажности анализируемых образцов составляет 1,5% и 0,5% для таблеток «Ацетилсалициловая кислота» и «Папаверина гидрохлорид» соответственно.

Интервалы времени между пробоподготовкой и ИК-спектрометрическим анализом – не более 60 мин для этих таблетированных лекарственных форм. Для анализируемых образцов таблеток увеличение/уменьшение значения размера частиц (измельченность) при постоянном значении влажности пробы и при обратном соотношении факторов наблюдается изменение показателя «Открываемость» – его выход за пределы критерия приемлемости для таблетированных лекарственных форм.

Итогом математического планирования и статистического анализа результатов, полученных в соответствии с планом эксперимента, являются комбинации оптимальных значений параметров (факторов) пробоподготовки таблеток «Ацетилсалициловая кислота», таблеток на основе состава «Цитрамон П» и «Папаверина гидрохлорид», представленные в таблице 11.

Таблица 11 – Оптимальные значения факторов для пробоподготовки образцов: «Ацетилсалициловая кислота» таблетки 500 мг; таблетки на основе состава «Цитрамон П»; «Папаверина гидрохлорид» таблетки 40 мг

Фактор / Образец	Измельченность, мкм	Влажность, %	Интервал времени «пробоподготовка-регистрация ИК-спектра», мин
«Ацетилсалициловая кислота» таблетки 500 мг	180 ± 10	1,5 ± 0,1	Не более 30
«Цитрамон П» (кофеин-бензоат натрия) таблетки	180 ± 10	3,0 ± 0,1	Не более 30
«Папаверина гидрохлорид» таблетки 40 мг	180 ± 10	0,5 ± 0,1	Не более 60

4.2. «Сборка» аналитических методик для количественного определения лекарственных веществ методом ИК-Фурье-спектрометрии

На основании результатов проведенных исследований осуществляли «сборку» аналитической методики количественного определения лекарственных веществ в таблетированных лекарственных формах (рис. 18). Наиболее

существенными элементами методики количественного определения лекарственных веществ методом ИК-Фурье-спектрометрии являются:

– пробоподготовка таблетированных лекарственных форм путем измельчения аналитической пробы в агатовой ступке на примере таблеток «Ацетилсалициловая кислота», на основе состава «Цитрамон П» и «Папаверина гидрохлорид»;

– контроль параметров измельченной анализируемой пробы (измельченность, влажность, интервал времени между пробоподготовкой и регистрацией ИК-спектра); контроль параметров осуществляется для стандартизации условий регистрации ИК-спектров в ходе градуировки, анализа рутинных проб и контроля стабильности математической (градуировочной) модели;

– регистрация ИК-спектров в диапазоне 4000-650 $см^{-1}$ в режиме НПВО на приставке с алмазной призмой с последующей корректировкой диапазона;

– построение математической (градуировочной) модели для целей количественного определения;

– применение программного продукта, который позволяет получать математическую (градуировочную) модель и выполнять расчет содержания анализируемых веществ в рутинных пробах;

– формирование интерфейса между программным обеспечением ИК-Фурье-спектрометра (средства измерения) и разработанного нами программного продукта («Spectral Model Analyzer») с инсталлированной математической (градуировочной) моделью;

– проверка приемлемости результатов количественного определения лекарственных веществ методом ИК-Фурье-спектрометрии в ходе анализа рутинных проб (на примере таблеток «Ацетилсалициловая кислота», на основе состава «Цитрамон П» и «Папаверина гидрохлорид»);

– разработка процедуры контроля стабильности математической (градуировочной) модели после проведения валидации соответствующих аналитических методик количественного определения.

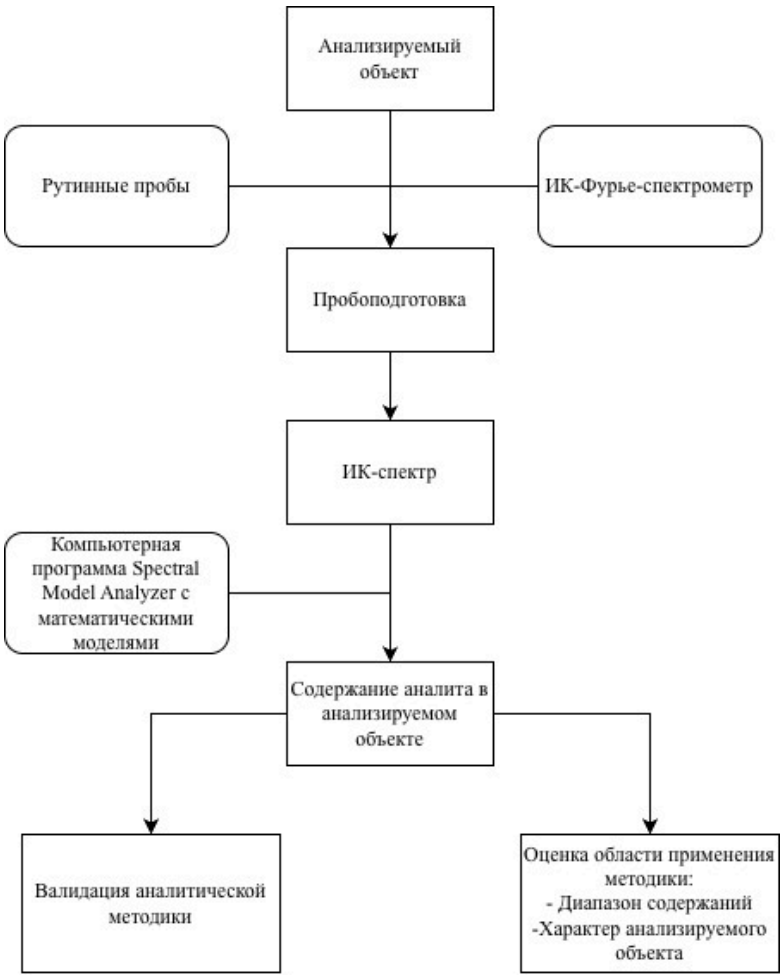


Рисунок 18 - Схема методики количественного определения лекарственных веществ методом ИК-Фурье-спектрометрии в контроле качества лекарственных средств.

Пробоподготовка таблетированных лекарственных форм. Этот этап является критически важным для обеспечения точности и воспроизводимости аналитической методики. Для исследуемых образцов таблеток «Ацетилсалициловая кислота», таблеток на основе состава «Цитрамон П» и «Папаверина гидрохлорид» процедура пробоподготовки заключается в измельчение пробы в агатовой ступке с целью избежать загрязнения пробы и достигнуть оптимальной степени измельченности. Цель пробоподготовки – получение порошковой массы с однородной поверхностью для взаимодействия анализируемого вещества с ИК-излучением, что напрямую влияет на интенсивность и воспроизводимость аналитического сигнала.

Контроль параметров аналитической пробы. Для стандартизации условий измерений и минимизации погрешностей необходим строгий контроль трех ключевых параметров: степени измельченности (размера частиц), влажности полученного порошка и времени между пробоподготовкой и регистрацией ИК-спектра. Этот контроль должен осуществляться на всех этапах работы: при построении градуировочной модели, при анализе рутинных проб и в ходе мониторинга стабильности методики. Оптимальные диапазоны значений этих факторов для каждой анализируемой таблетированной лекарственной формы установлены экспериментально (см. табл. 11).

Регистрация ИК-спектров. Регистрация ИК-спектров проводится в режиме нарушенного полного внутреннего отражения с использованием алмазной призмы, что позволяет анализировать образцы непосредственно в твердой фазе без дополнительных матриц. Спектры регистрируются в среднем ИК-диапазоне, длина волны составляет 4000–650 $см^{-1}$. Для повышения качества данных обязательными процедурами являются вычитание фонового спектра для минимизации влияния рассеяния света, влаги и возможных примесей в фармацевтических субстанциях и остатков других веществ на призме.

Построение математической (градуировочной) модели. На основе спектров серии стандартных (градуировочных) образцов с известной концентрацией действующего вещества, которая находится в диапазоне 0-100% (по масс.), строится математическая (градуировочная) модель, связывающая спектральные характеристики (интенсивность полос поглощения, площади пиков) с содержанием вещества. Для этого применяли метод многомерной статистической обработки, а именно метод частичных наименьших квадратов. Работоспособность полученной модели проверяли расчетом коэффициента детерминации r^2, значение которого должно приближаться к значению 1.

Разработка специализированного программного продукта. Для автоматизации обработки данных и рутинного анализа нами была разработана компьютерная программа «Spectral Model Analyzer» (Приложение 4). Программное обеспечение реализовывает методы предобработки спектральных данных и метод частичных наименьших квадратов. Для предобработки компьютерная программа использует набор следующих методов: фильтр Савицкого-Голея, мультипликативную коррекцию рассеивания, удаление вбросов на основе Z-оценки и метод стандартной нормальной вариации, для исключения аддитивных и мультипликативных эффектов. Результатом этой процедуры являются: редукция спектральных данных в латентные переменные (компоненты), установление зависимости между содержанием папаверина гидрохлорида и значением латентных переменных, а также машинное обучение математической (градуировочной) модели. Взаимосвязь содержания анализируемого вещества в таблетированной лекарственной форме с параметрами ИК-спектров характеризует уравнение линейной регрессии, которое имеет общий вид: $C = Y + a_1 \cdot X_1 + a_2 \cdot X_2 + \ldots + a_n \cdot X_n$, *где*

C – содержание лекарственного вещества в таблетированной лекарственной форме, %(масс.);

X_1, X_2, X_n – латентные переменные (компоненты метода частичных наименьших квадратов);

a_1, a_2, a_3 – коэффициенты, показывающие взаимосвязь каждой из компонент с целевой переменной (содержанием лекарственного вещества) в таблетированной лекарственной форме;

Y – свободный член уравнения (систематическое смещение математической (градуировочной) модели).

Полученную математическую (градуировочную) модель необходимо подвергать валидации для оценки ее качества и способности функционирования на экспериментальных данных в формате количественного определения целевого анализируемого вещества.

Для процедуры валидации нужно приготавливать отдельную серию из контрольных образцов аналогичных по составу градуировочным образцам, с контролируемыми параметрами измельченности, влажности и временем между пробоподготовкой и регистрацией ИК-спектров.

В результате будет получена математическая (градуировочная) модель, которая прошла оптимизацию путем машинного обучения и результаты ее валидации должны показать пригодность для целей количественного определения

Формирование интерфейса между ПО. Функции интерфейса включают: импорт первичных спектральных данных с прибора, применение построенной градуировочной модели для расчета концентрации анализируемого вещества в пробах, статистическую оценку результатов и их документирование.

Таким образом, мы обеспечили техническую и программную интеграцию между прибором ИК-Фурье-спектрометром и компьютерной программой «Spectral Model Analyzer» (Приложение 4). Данная система представляет собой прототип программно-аналитического комплекса для количественного анализа методом ИК-Фурье-спектрометрии (рис. 19).

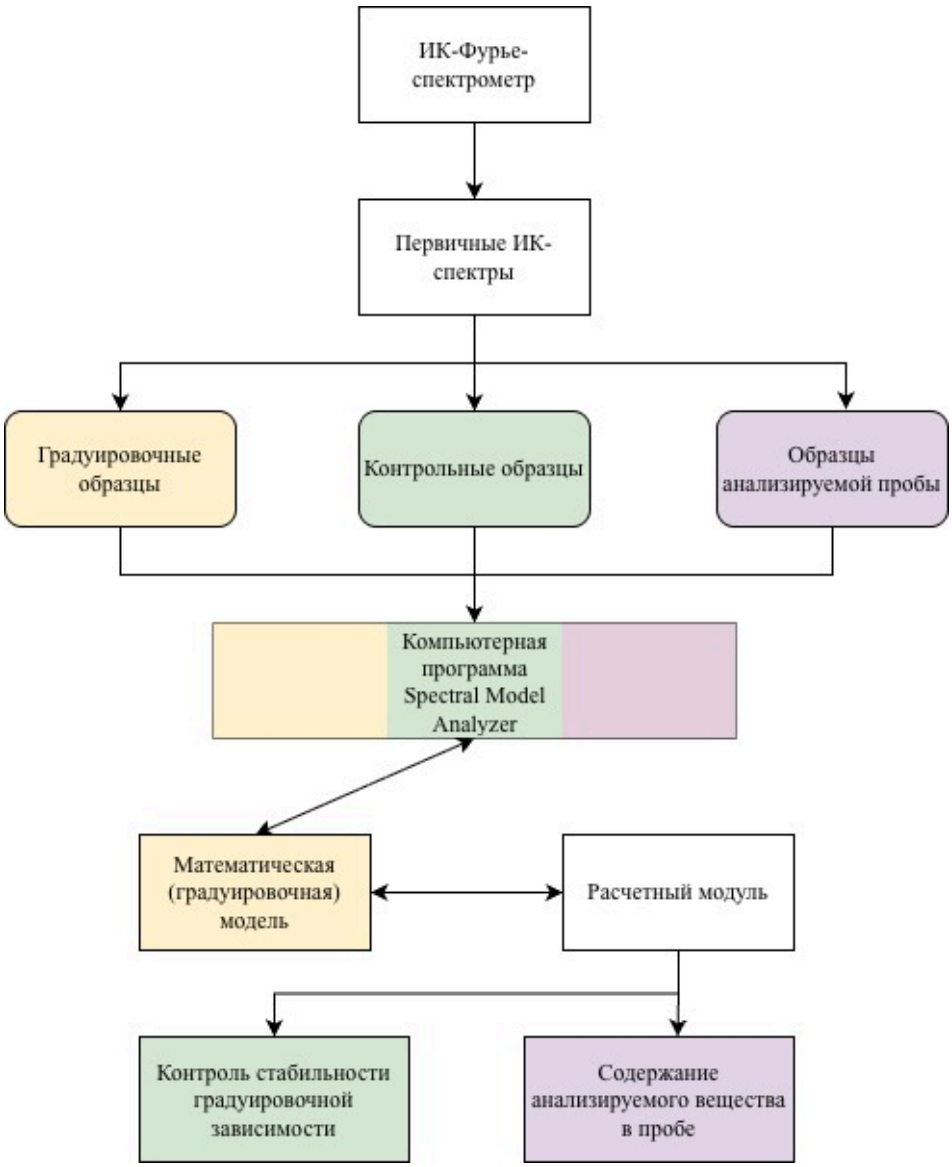


Рисунок 19 – Схема программно-аналитического комплекса для количественного анализа лекарственных веществ методом ИК-Фурье-спектрометрии.

Данный комплекс позволяет осуществлять бесшовную передачу зарегистрированных спектров в программное обеспечение для построения математических (градуировочных) моделей и расчета концентрации действующего вещества, что создает единую аналитическую цепочку «измерение-обработка-результат».

Проверка приемлемости результатов на реальных пробах. Валидность и работоспособность аналитической методики, реализованной с помощью

программно-аналитического комплекса, подтверждается путем анализа реальных (рутинных) проб таблетированных форм. Результаты количественного определения сравниваются с паспортным (номинальным) содержанием или с результатами, полученными эталонным методом. Оценка проводится на соответствие критериям приемлемости (например, открываемость в пределах 90-110%), что доказывает пригодность методики для практического использования в контроле качества.

Разработка процедуры контроля стабильности градуировочной модели. После валидации методики внедряется система регулярного мониторинга стабильности калибровочной модели во времени. Это включает периодический анализ контрольных образцов (стандартов), отслеживание дрейфа прогностической способности модели и ее повторную градуировку (обновление) в случае выхода контролируемых параметров правильности и прецизионности за предельные значения, установленные в ходе валидации аналитических методик. Данная процедура гарантирует надежность и воспроизводимость результатов анализа.

Выводы по главе 4

1. С применением многофакторного планирования и оптимизации эксперимента по схеме Бокса-Бенкена получены математические модели пробоподготовки таблетированных лекарственных форм, имеющие форму уравнений множественной линейной регрессии. Данные уравнения позволяют определять оптимальные значения факторов, влияющие на параметр открываемость лекарственного вещества в количественном ИК-спектрометрическом анализе.

2. Определены оптимальные факторы пробоподготовки таблетированных лекарственных форм для ИК-Фурье-спектрометрии: «Ацетилсалициловая кислота» таблетки 500 мг – размер частиц 180 мкм, влажность 1,5%, интервал времени между пробоподготовкой и анализом не более 60 мин; таблетки на основе состава «Цитрамон П» – размер частиц 180 мкм, влажность 3%, интервал времени между пробоподготовкой и анализом не более 30 мин; «Папаверина гидрохлорид»

таблетки 40 мг – размер частиц 180 мкм, влажность 0,5%, интервал времени между пробоподготовкой и анализом не более 60 мин.

3. Предложен алгоритм «сборки» аналитических методик количественного анализа таблетированных лекарственных форм методом ИК-Фурье-спектрометрии. Также представлен прототип программно-аналитического комплекса для количественного ИК-спектрометрического анализа на основе ИК-Фурье-спектрометра и разработанной нами компьютерной программы «Spectral Model Analyzer».

ГЛАВА 5. ВАЛИДАЦИЯ АНАЛИТИЧЕСКИХ МЕТОДИК КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ КИСЛОТЫ АЦЕТИЛСАЛИЦИЛОВОЙ, КОФЕИН-БЕНЗОАТА НАТРИЯ И ПАПАВЕРИНА ГИДРОХЛОРИДА В ТАБЛЕТИРОВАННЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМАХ МЕТОДОМ ИК-ФУРЬЕ-СПЕКТРОМЕТРИИ

Для определения метрологических характеристик методик необходимо использовать стандартные образцы с известными и по возможности документально подтвержденными параметрами. Необходимая степень чистоты определяется характером задач, которые решаются при их использовании.

В настоящей диссертационной работе модельные образцы таблетированных лекарственных форм с известной концентрацией кислоты ацетилсалициловой, кофеин-бензоата натрия и папаверина гидрохлорида использовались в качестве образцов сравнения.

Функция образцов сравнения в валидационной оценке заключалась в том, что они являются средствами передачи измеряемой величины – содержания кислоты ацетилсалициловой, кофеин-бензоата натрия и папаверина гидрохлорида в лекарственных формах.

Таким образом, содержание (концентрация) анализируемых веществ в вышеуказанных образцах сравнения – это «принятые опорные значения», которые использованы для интервальной оценки погрешности, правильности и прецизионности (воспроизводимости).

Важным этапом разработки методики количественного определения в контроле качества лекарственных средств является определение ее метрологических характеристик, которое приводится в рамках валидации или аттестации соответствующей аналитической методики.

Целесообразно планировать эксперимент таким образом, чтобы соответствующие метрологические характеристики изучались одновременно, обеспечивая полное понимание возможностей аналитической методики: линейность, диапазон применения, правильность и прецизионность.

Процедура определения метрологических характеристик в контроле качества лекарственных средств регламентируется «Руководством по валидации аналитических процедур (ICH Q2(R2))» [85], также использовали «Руководство для предприятий фармацевтической промышленности» [26].

При оценке метрологических характеристик методик количественного определения кислоты ацетилсалициловой, кофеин-бензоата натрия и папаверина гидрохлорида в лекарственных препаратах осуществляли определение линейности/рабочего диапазона концентраций, правильности, прецизионности (на уровнях сходимости и промежуточной прецизионности) (рис. 20).

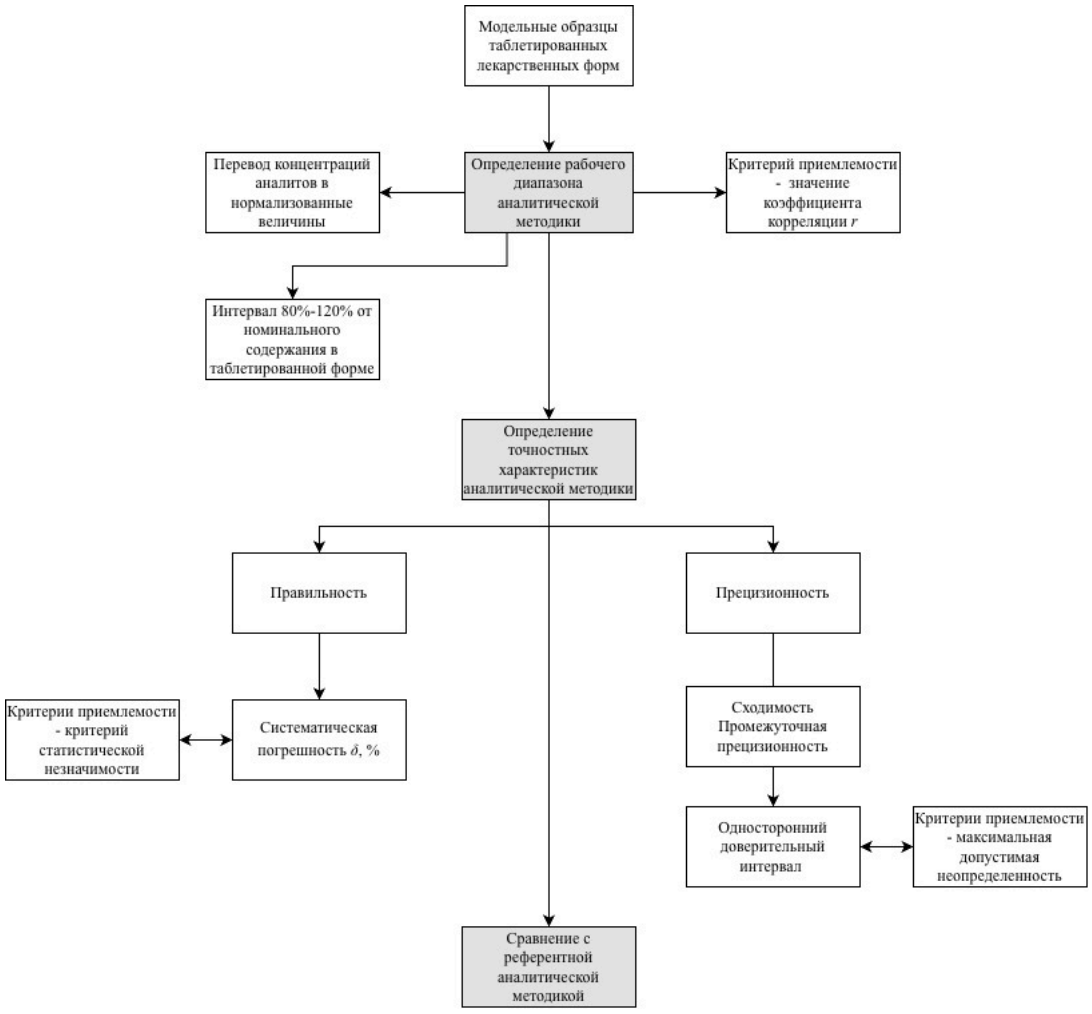


Рисунок 20 – Схема валидации аналитических методик количественного ИК-спектрометрического определения кислоты ацетилсалициловой, кофеин-бензоата натрия и папаверина гидрохлорида в таблетированных лекарственных формах.

5.1. Метрологические характеристики методик количественного определения кислоты ацетилсалициловой, кофеин-бензоата натрия и папаверина гидрохлорида в таблетированных лекарственных формах методом ИК-Фурье-спектрометрии

Метрологические характеристики методики количественного определения кислоты ацетилсалициловой. При проведения количественного анализа кислоты ацетилсалициловой в модельных образцах (модельных смесях их компонентов лекарственного препарата с известным количеством фармацевтической субстанции) для априорного обеспечения прецизионности использовали результаты оптимизации пробоподготовки. Параметры пробоподготовки были следующими: измельченность пробы (размер частиц 180±10 мкм), влажность пробы (1,5±0,1%), интервал времени «пробоподготовка-регистрация ИК-спектра» (не более 30 мин) (см. Глава 4).

Для определения линейности методики были приготовлены 6 проб модельных образцов с содержаниями кислоты ацетилсалициловой 80%, 90%, 100%, 110%, 120% (в виде нормализованных величин) от номинального значения. Номинальное значение – содержание кислоты ацетилсалициловой в лекарственной форме 83,33% (масс.): 500 мг вещества на среднюю массу таблетки 600 мг (табл. 12).

Таблица 12 – Перевод содержаний кислоты ацетилсалициловой в модельных образцах в формат нормализованных величин

Уровень содержания (от номинального), %	$C_{введено}$, г	$C_{найдено}$, г	$X_{факт}$, %	$X_{пред}$, %	Z_i, %
80	0,4001	0,4005	80,02	80,10	100,10
90	0,4495	0,4498	89,90	89,96	100,07
100	0,4995	0,4995	99,90	99,90	100,00
110	0,5511	0,5503	110,22	110,06	99,85
120	0,6003	0,6005	120,06	120,10	100,03
80	0,4004	0,4010	80,08	80,20	100,15
90	0,4480	0,4500	89,60	90,00	100,45
100	0,5040	0,5100	100,80	102,00	101,19
110	0,5555	0,5500	111,10	110,00	99,01

120	0,6060	0,6100	121,20	122,00	100,66
80	0,4050	0,4070	81,00	81,40	100,49
90	0,4555	0,4530	91,10	90,60	99,45
100	0,5040	0,5020	100,80	100,40	99,60
110	0,5500	0,5540	110,00	110,80	100,73
120	0,6010	0,6030	120,20	120,60	100,33
«Точка нормализации»	$C_{введено}$ = 0,5000 г; $C_{найдено}$ = 0,5000 г				

Условные обозначения: $C_{введено}$ – количество кислоты ацетилсалициловой, введенное в состав модельного образца, г; $C_{найдено}$ – количество кислоты ацетилсалициловой, определенное (найденное) по результатам анализа модельного образца, г; $X_{факт}$ – содержание кислоты ацетилсалициловой в модельном образце (нормализованная величина), %; $X_{пред}$ – содержание кислоты ацетилсалициловой, определенное по результатам анализа модельного образца (нормализованная величина), %; Z_i – открываемость, %.

Каждую пробу анализировали методом ИК-Фурье-спектрометрии в режиме НПВО в трех повторностях.

Применение градуировочного графика в формате «концентрация анализируемого вещества-аналитический сигнал» невозможно по причине использования многомерного варианта градуировки – метода частичных наименьших квадратов, т.е. в качестве аналитического сигнала мы использовали предсказанную концентрацию в анализируемом образце.

По полученным данным построен график зависимости предсказанной (определенной) концентрации от фактической концентрации определяемого компонента в нормализованных единицах. Коэффициент корреляции *r* составил 0,9993, что свидетельствует о линейности аналитической методики (рис. 21).

Таким образом, диапазон содержаний кислоты ацетилсалициловой 80%-120% от номинального значения является аналитической областью (рабочим диапазоном) разработанной методики.

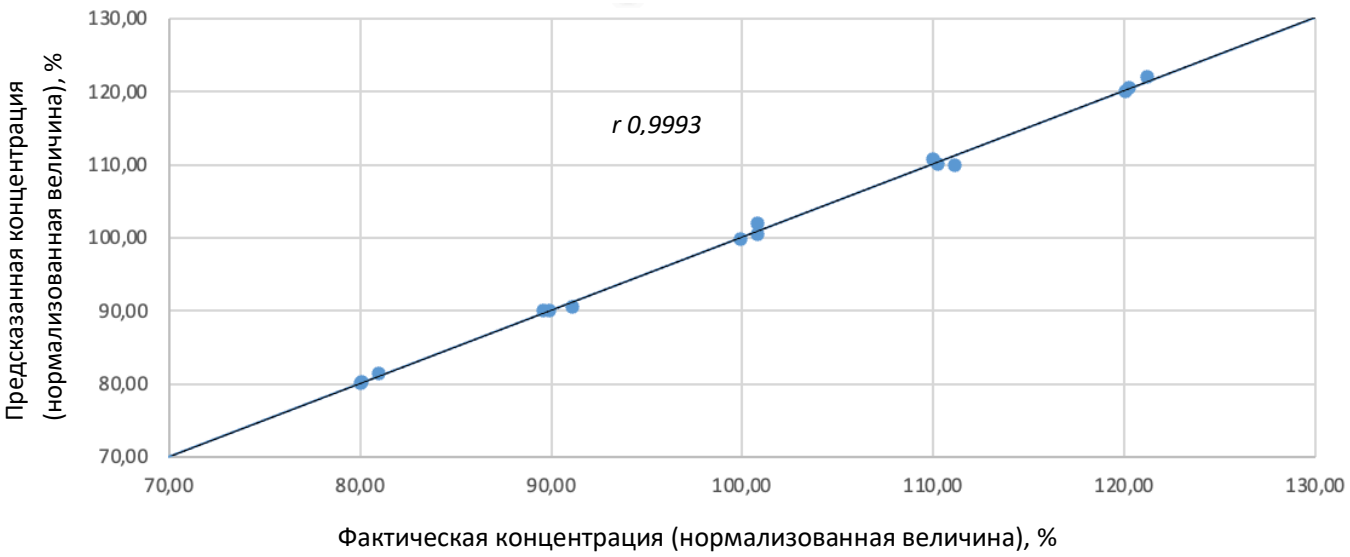


Рисунок 21 – График зависимости «фактическая концентрация – предсказанная концентрация» для количественного определения кислоты ацетилсалициловой в таблетированной лекарственной форме.

Оценку правильности методики количественного определения кислоты ацетилсалициловой проводили в ее рабочем диапазоне. Значение открываемости Z в данном диапазоне находилось в интервале 99,60%-101,19%; среднее значение открываемости для исследуемой выборки было 100,14%. Среднее значение систематической погрешности аналитической методики не превышало 0,28%.

Систематическую составляющую погрешности δ характеризовали отличием средней открываемости $\bar{Z}$ от 100%. Систематическая погрешность δ статистически значимо не отличается от нуля, если отклонение средней открываемости $\bar{Z}$ от 100% не превышает величины своего доверительного интервала (*критерия статистической незначимости*):

$$\delta\% = |\bar{Z} - 100| \leq \frac{\Delta_Z}{\sqrt{n}}\,;\ \frac{\Delta_Z}{\sqrt{n}} = \frac{0{,}850}{\sqrt{9}} = 0{,}283$$

где Δ_Z – доверительный интервал;

n – количество анализируемых проб (объем выборки).

Расчет доверительного интервала проводили по формуле:

$$\Delta_Z = S_Z(\%) \cdot t(95\%, n-1) = 0{,}457 \cdot 1{,}859 = 0{,}850,$$

где S_Z – стандартное отклонение (%) параметра открываемость (отношений «введено:найдено»);

t – односторонний коэффициент Стъюдента для вероятности 95% и числа степеней свободы *n-1*.

Стандартное отклонение открываемости *Z* рассчитывали по формуле:

$$S_Z(\%) = \sqrt{\sum_{i=1}^{i=9} \frac{(Z_i - \bar{Z})^2}{n-1}} = 0{,}457.$$

Результаты определения правильности аналитической методики количественного определения кислоты ацетилсалициловой методом ИК-Фурье-спектрометрии в таблетированной лекарственной форме представлены в таблице 13.

Таблица 13 – Правильность аналитической методики количественного определения кислоты ацетилсалициловой методом ИК-Фурье-спектрометрии в таблетированной лекарственной форме

№	Введено кислоты ацетилсалициловой, г	Найдено кислоты ацетилсалициловой, г	Открываемость Z, %	Средняя открываемость $\bar{Z}$, %	Систематическая погрешность δ, %
1	0,4001	0,4005	100,10	100,28	$\delta\% = \lvert\bar{Z} - 100\rvert = \lvert 100 - 100{,}28\rvert = 0{,}28$
2	0,4004	0,4010	100,15		
3	0,4050	0,4070	100,49		
4	0,4995	0,4995	100,00		
5	0,5040	0,5100	101,19		
6	0,5040	0,5020	99,60		
7	0,6003	0,6005	100,03		
8	0,6060	0,6100	100,66		
9	0,6010	0,6030	100,33		

Систематическая погрешность δ 0,28% не превышает величины доверительного интервала (критерия приемлемости) 0,283%, что свидетельствует о правильности аналитической методики количественного ИК-спектрометрического определения кислоты ацетилсалициловой в таблетированных лекарственных формах.

Сходимость (повторяемость) аналитической методики оценивали по результатам измерения тех же 9 модельных проб с содержанием кислоты

ацетилсалициловой в диапазоне концентраций 80%-120%, которые использовали для определения правильности. Параметр «сходимость» является приемлемым для задач контроля качества, если односторонний доверительный интервал Δ_Z не превышает максимально допустимую неопределенность Δ_{AS}% результатов анализа, равную 3,2%.

Величина стандартного отклонения S_Z для данной выборки составила 0,457%, односторонний доверительный интервал Δ_Z – 0,850%. Таким образом сходимость аналитической методики количественного ИК-спектрометрического определения кислоты ацетилсалициловой в таблетированной лекарственной форме соответствует критерию приемлемости: односторонний доверительный интервал Δ_Z не превышает максимально допустимую неопределенность Δ_{AS} (табл. 14).

Таблица 14 – Сходимость (повторяемость) аналитической методики количественного определения кислоты ацетилсалициловой методом ИК-Фурье-спектрометрии в таблетированной лекарственной форме

Средняя открываемость $\bar{Z}$, %	Стандартное отклонение S_Z, %	Односторонний доверительный интервал Δ_Z, %	Максимально допустимая неопределенность Δ_{AS}, %
100,28	0,457	0,850	3,2
Критерий приемлемости			***Статус теста***
$\Delta_Z = S_Z(\%) \cdot t(95\%, n-1) = 0{,}850 < 3{,}2$			**Соответствует**

Оценку промежуточной (внутрилабораторной) прецизионности аналитической методики проводили по экспериментальным данным, полученным в разные дни разными аналитиками (табл. 15).

Таблица 15 – Промежуточная прецизионность аналитической методики количественного определения кислоты ацетилсалициловой методом ИК-Фурье-спектрометрии в таблетированной лекарственной форме

Аналитик № 1			
Средняя открываемость $\bar{Z}$, %	Стандартное отклонение S_Z, %	Односторонний доверительный интервал Δ_Z, %	Максимально допустимая неопределенность Δ_{AS}, %
100,28	0,457	0,850	3,2
Критерий приемлемости			***Статус теста***
$\Delta_Z = S_Z(\%) \cdot t(95\%, n-1) = 0{,}850 < 3{,}2$			**Соответствует**
Аналитик № 2			
Средняя открываемость $\bar{Z}$, %	Стандартное отклонение S_Z, %	Односторонний доверительный интервал Δ_Z, %	Максимально допустимая неопределенность Δ_{AS}, %
100,11	1,085	2,017	3,2
Критерий приемлемости			***Статус теста***
$\Delta_Z = S_Z(\%) \cdot t(95\%, n-1) = 2{,}017 < 3{,}2$			**Соответствует**
Различия прецизионности Аналитика 1 и Аналитика 2			
		Аналитик 1	*Аналитик 2*
Дисперсия S^2		0,209	1,177
F-критерий (расчетное значение)		5,640	
F-критерий (критическое значение)		6,029	
Статус теста ($F_{расч} \leq F_{крит}$)		Соответствует	

Промежуточную прецизионность аналитической методики оценивали по результатам измерений Аналитиком 1 и Аналитиком 2 разных серий из 9 модельных смесей с содержанием кислоты ацетилсалициловой 80%-120% от номинального значения.

Величина стандартного отклонения S_Z открываемости для Аналитика 1 и Аналитика 2 находилась на уровне 0,457% и 1,085%, дисперсии S^2 – 0,209 и 1,177 соответственно.

У Аналитика 1 и Аналитика 2 величина одностороннего доверительного интервала Δ_Z: 0,850% и 2,017% соответственно, не превышала максимально допустимую неопределенность Δ_{AS}% результатов анализа 3,2%.

Оценка внутрилабораторной прецизионности методики количественного определения кислоты ацетилсалициловой в таблетированной лекарственной форме показала, что статистически значимые различия результатов анализа Аналитика 1 и Аналитика 2 отсутствуют: значение *F*-критерия составило 5,640, что не превышает его критического значения 6,029.

Метрологические характеристики методики количественного определения кофеин-бензоата натрия. При проведении количественного анализа кофеин-бензоата натрия в модельных смесях параметры пробоподготовки были следующими: измельченность (размер частиц 180 ± 10 мкм), влажность (3,0 ± 0,1%), интервал времени «пробоподготовка-регистрация ИК-спектра» (не более 30 мин.) (см. Глава 4).

Для определения линейности методики были приготовлены 6 проб модельных смесей с содержаниями кофеин-бензоата натрия 80%, 90%, 100%, 110%, 120% (в виде нормализованных величин) от номинального значения. Номинальное значение – содержание кофеин-бензоата натрия в лекарственной форме 4,98% (масс.): 27,4 мг вещества на среднюю массу таблетки 549,95 мг (табл. 16).

Таблица 16 – Перевод содержаний кофеин-бензоата натрия в модельных образцах в формат нормализованных величин

Уровень содержания (от номинального), %	$C_{введено}$, г	$C_{найдено}$, г	$X_{факт}$, %	$X_{пред}$, %	Z_i, %
80	0,0215	0,0220	78,47	80,29	102,33
90	0,0249	0,0252	90,88	91,97	101,20
100	0,0280	0,0277	102,19	101,09	98,93
110	0,0306	0,0301	111,68	109,85	98,37
120	0,0336	0,0333	122,63	121,53	99,11
80	0,0219	0,0221	79,93	80,66	100,91
90	0,0243	0,0250	88,69	91,24	102,88
100	0,0273	0,0272	99,64	99,27	99,63
110	0,0301	0,0302	109,85	110,22	100,33

120	0,0328	0,0325	119,71	118,61	99,09
80	0,0222	0,0227	81,02	82,85	102,25
90	0,0246	0,0251	89,78	91,61	102,03
100	0,0277	0,0279	101,09	101,82	100,72
110	0,0305	0,0299	111,31	109,12	98,03
120	0,0330	0,0328	120,44	119,71	99,39
«Точка нормализации»	$C_{введено}$ = 0,0274 г; $C_{найдено}$ = 0,0274 г				

Условные обозначения: см. табл. 12.

Каждую пробу анализировали в трех повторностях.

Коэффициент корреляции *r* «фактическая концентрация-предсказанная концентрация анализируемого вещества» составил 0,9980, что свидетельствует о линейности аналитической методики (рис. 22).

Таким образом, диапазон содержаний кофеин-бензоата натрия 80%-120% от номинального значения является аналитической областью (рабочим диапазоном) разработанной методики.

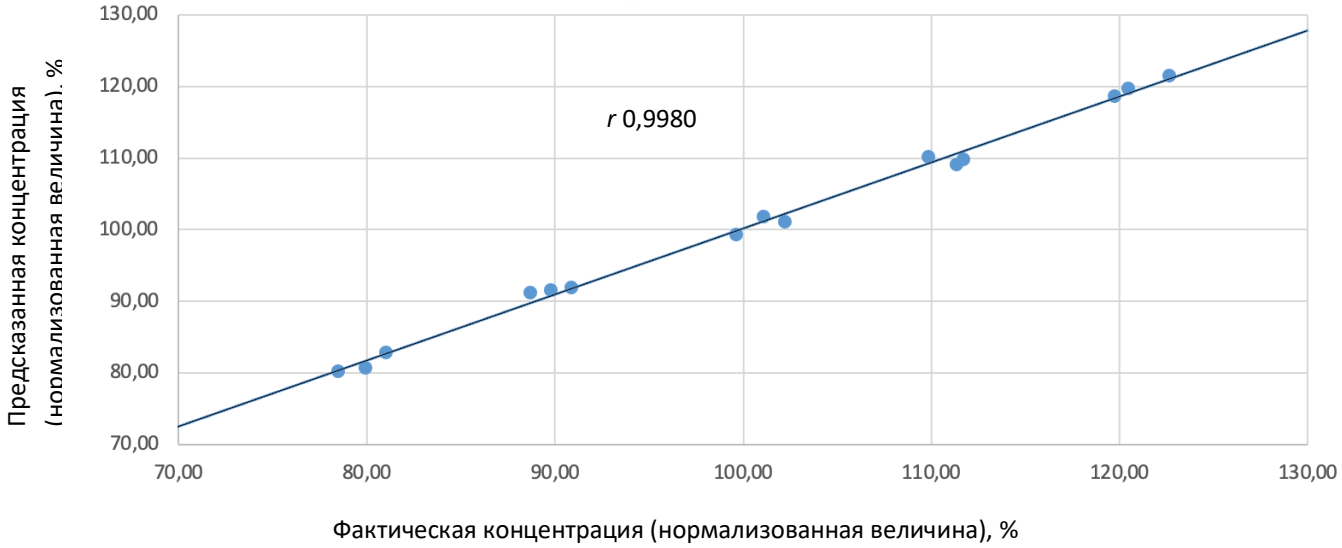


Рисунок 22 – График зависимости «фактическая концентрация – предсказанная концентрация» для количественного определения кофеин-бензоата натрия в таблетированной лекарственной форме.

Оценку правильности методики количественного определения кофеин-бензоата натрия проводили в ее рабочем диапазоне. Значение открываемости Z в данном диапазоне находилось в интервале 98,93%-102,33%; среднее значение

открываемости для исследуемой выборки было 100,26%. Среднее значение систематической погрешности δ аналитической методики не превышало 0,26%.

Результаты определения правильности аналитической методики количественного определения кофеин-бензоата натрия методом ИК-Фурье-спектрометрии в таблетированной лекарственной форме представлены в таблице 17.

Таблица 17 – Правильность аналитической методики количественного определения кофеин-бензоата натрия методом ИК-Фурье-спектрометрии в таблетированной лекарственной форме

№	Введено кофеин-бензоата натрия, г	Найдено кофеин-бензоата натрия, г	Открываемость Z, %	Средняя открываемость $\bar{Z}$, %	Систематическая погрешность δ, %
1	0,0215	0,0220	102,33	100,26	$\delta\% = \left\|\tilde{Z} - 100\right\| = \|100 - 100{,}26\| = 0{,}26$
2	0,0219	0,0221	100,91		
3	0,0222	0,0227	102,25		
4	0,028	0,0277	98,93		
5	0,0273	0,0272	99,63		
6	0,0277	0,0279	100,72		
7	0,0336	0,0333	99,11		
8	0,0328	0,0325	99,09		
9	0,033	0,0328	99,39		

Систематическая погрешность δ 0,28% не превышает величины доверительного интервала (критерия приемлемости) 0,834%, что свидетельствует о правильности аналитической методики количественного ИК-спектрометрического определения кофеин-бензоата натрия в таблетированных лекарственных формах.

Сходимость (повторяемость) аналитической методики оценивали по результатам измерения тех же 9 модельных проб с содержанием кофеин-бензоата натрия в диапазоне концентраций 80%-120%, которые использовали для определения правильности. Параметр «сходимость» является приемлемым для задач контроля качества, если односторонний доверительный интервал Δ_Z не

превышает максимально допустимую неопределенность Δ_{AS}% результатов анализа, равную 3,2%.

Величина стандартного отклонения S_Z открываемости для данной выборки составила 1,346%, односторонний доверительный интервал Δ_Z – 2,502%. Таким образом сходимость аналитической методики количественного ИК-спектрометрического определения кофеин-бензоата натрия в таблетированной лекарственной форме соответствует критерию приемлемости: односторонний доверительный интервал Δ_Z не превышает максимально допустимую неопределенность Δ_{AS} (табл. 18).

Таблица 18 – Сходимость (повторяемость) аналитической методики количественного определения кофеин-бензоата натрия методом ИК-Фурье-спектрометрии в таблетированной лекарственной форме

Средняя открываемость $\bar{Z}$, %	Стандартное отклонение S_Z, %	Односторонний доверительный интервал Δ_Z, %	Максимально допустимая неопределенность Δ_{AS}, %
100,26	1,346	2,502	3,2
Критерий приемлемости			***Статус теста***
$\Delta_Z = S_Z(\%) \cdot t(95\%, n-1) = 2{,}502 < 3{,}2$			**Соответствует**

Оценку промежуточной (внутрилабораторной) прецизионности аналитической методики проводили по экспериментальным данным, полученным в разные дни разными аналитиками (табл. 19).

Таблица 19 – Промежуточная прецизионность аналитической методики количественного определения кофеин-бензоата натрия методом ИК-Фурье-спектрометрии в таблетированной лекарственной форме

Аналитик № 1			
Средняя открываемость $\bar{Z}$, (%)	Стандартное отклонение S_Z, %	Односторонний доверительный интервал Δ_Z,%	Максимально допустимая неопределенность Δ_{AS}, %
100,262	1,346	2,502	3,2
Критерий приемлемости			***Статус теста***
$\Delta_Z = S_Z(\%) \cdot t(95\%, n-1) = 2{,}502 < 3{,}2$			**Соответствует**
Аналитик № 2			
Средняя открываемость $\bar{Z}$, (%)	Стандартное отклонение S_Z, %	Односторонний доверительный интервал Δ_Z,%	Максимально допустимая неопределенность Δ_{AS}, %
100,346	1,539	2,861	3,2
Критерий приемлемости			***Статус теста***
$\Delta_Z = S_Z(\%) \cdot t(95\%, n-1) = 2{,}861 < 3{,}2$			**Соответствует**
Оценка значимости различия дисперсий			
	Аналитик 1	*Аналитик 2*	
Дисперсия S^2	1,812	2,369	
F-критерий (Расчетное значение)	1,307		
F-критерий (Критическое значение)	5,351		
Статус тестов ($F_{расч} \leq F_{крит}$)	Соответствует		

Величина стандартного отклонения S_Z открываемости для Аналитика 1 и Аналитика 2 находилась на уровне 1,346% и 1,539%, дисперсии S^2 – 1,812 и 2,369 соответственно.

У Аналитика 1 и Аналитика 2 величина одностороннего доверительного интервала Δ_Z: 2,502% и 2,861% соответственно, не превышала максимально допустимую неопределенность Δ_{AS}% результатов анализа, равную 3,2%.

Оценка внутрилабораторной прецизионности методики количественного определения кофеин-бензоата натрия в таблетированной лекарственной форме показала, что статистически значимые различия результатов у двух аналитиков отсутствуют: значение *F*-критерия составило 1,307, что не превышает его критического значения 5,351.

Метрологические характеристики методики количественного определения папаверина гидрохлорида. При проведении количественного анализа папаверина гидрохлорида в модельных смесях параметры пробоподготовки были следующими: измельченность (размер частиц 180 ± 10 мкм), влажность (0,5 ± 0,1%), интервал времени «пробоподготовка-регистрация ИК-спектра» (не более 60 мин.) (см. Глава 4).

Определения линейности методики проводили на модельных образцах с содержаниями папаверина гидрохлорида 80%-120% (в виде нормализованных величин) от номинального значения. Номинальное значение – содержание папаверина гидрохлорида в лекарственной форме 11,43% (масс.): 40 мг вещества на среднюю массу таблетки 350 мг (табл. 20).

Таблица 20 – Перевод содержаний папаверина гидрохлорида в модельных образцах в формат нормализованных величин

Уровень содержания (от номинального), %	$C_{введено}$, г	$C_{найдено}$, г	$X_{факт}$, %	$X_{пред}$, %	Z_i, %
80	0,0323	0,0325	79,36	79,85	100,62
90	0,0369	0,0366	90,66	89,93	99,19
100	0,0401	0,0405	98,53	99,51	101,00
110	0,0450	0,0447	110,57	109,83	99,33
120	0,0491	0,0488	120,64	119,90	99,39
80	0,0320	0,0322	78,62	79,12	100,63
90	0,0365	0,0368	89,68	90,42	100,82
100	0,0404	0,0407	99,26	100,00	100,74
110	0,0448	0,0446	110,07	109,58	99,55
120	0,0487	0,0484	119,66	118,92	99,38
80	0,0319	0,0321	78,38	78,87	100,63
90	0,0371	0,0369	91,15	90,66	99,46
100	0,0400	0,0402	98,28	98,77	100,50
110	0,0452	0,0449	111,06	110,32	99,34
120	0,0488	0,0487	119,90	119,66	99,80
«Точка нормализации»	$C_{введено}$ = 0,0407 г; $C_{найдено}$ = 0,0407 г				

Условные обозначения: см. табл. 12.

Коэффициент корреляции *r* «фактическая концентрация-предсказанная концентрация анализируемого вещества» составил 0,9993, что свидетельствует о линейности аналитической методики (рис. 23).

Диапазон содержаний папаверина гидрохлорида 80%-120% от номинального значения является аналитической областью (рабочим диапазоном) методики.

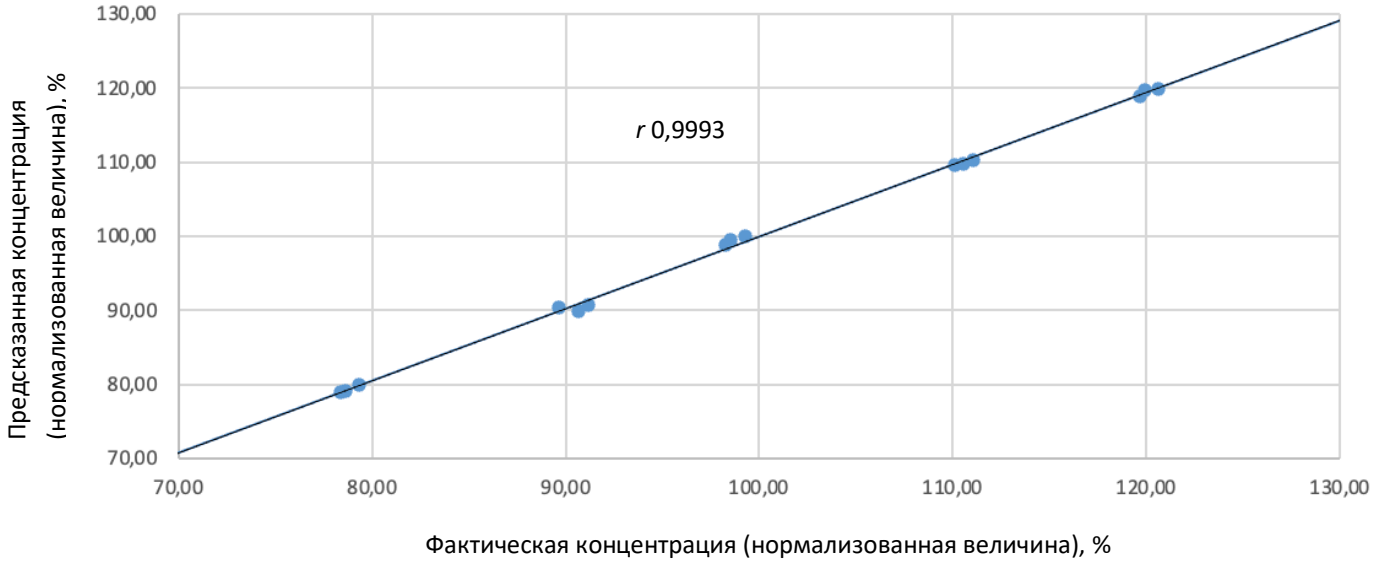


Рисунок 23 – График зависимости «фактическая концентрация – предсказанная концентрация» для количественного определения папаверина гидрохлорида в таблетированной лекарственной форме.

Значение открываемости *Z* применяемое для оценки правильности находилось в интервале значений 99,19%-101,00%; среднее значение открываемости было 100,30%. Среднее значение систематической погрешности δ аналитической методики не превышало 0,30%.

Результаты определения правильности аналитической методики количественного определения папаверина гидрохлорида методом ИК-Фурье-спектрометрии в таблетированной лекарственной форме представлены в таблице 21.

Таблица 21 – Правильность аналитической методики количественного определения папаверина гидрохлорида методом ИК-Фурье-спектрометрии в таблетированной лекарственной форме

№	Введено папаверина гидрохлорида, г	Найдено папаверина гидрохлорида, г	Открываемость Z, %	Средняя открываемость $\bar{Z}$, %	Систематическая погрешность δ, %
1	0,0323	0,0325	100,62	100,30	$\delta\% = \left\|\bar{Z} - 100\right\| = \|100 - 100{,}30\| = 0{,}30$
2	0,0369	0,0366	99,19		
3	0,0401	0,0405	101,00		
4	0,0401	0,0405	101,00		
5	0,0450	0,0447	99,33		
6	0,0491	0,0488	99,39		
7	0,0491	0,0488	99,39		
8	0,0320	0,0322	100,63		
9	0,0365	0,0368	100,82		

Систематическая погрешность δ 0,30% не превышает величины доверительного интервала (критерия приемлемости) 0,468%, что свидетельствует о правильности аналитической методики количественного ИК-спектрометрического определения папаверина гидрохлорида в таблетированных лекарственных формах.

Сходимость (повторяемость) аналитической методики оценивали по результатам измерения тех же 9 модельных проб с содержанием папаверина гидрохлорида в диапазоне концентраций 80%-120%, которые использовали для определения правильности.

Величина стандартного отклонения S_Z открываемости для данной выборки составила 2,608%, односторонний доверительный интервал Δ_Z – 1,403%.

Таким образом сходимость аналитической методики количественного ИК-спектрометрического определения папаверина гидрохлорида в таблетированной лекарственной форме соответствует критерию приемлемости: односторонний доверительный интервал Δ_Z (1,403%) не превышает максимально допустимую неопределенность Δ_{AS} (3,20%) (табл. 22).

Таблица 22 – Сходимость (повторяемость) аналитической методики количественного определения папаверина гидрохлорида методом ИК-Фурье-спектрометрии в таблетированной лекарственной форме

Средняя открываемость, $\bar{Z}$ %	Стандартное отклонение S_Z , %	Односторонний доверительный интервал Δ_Z, %	Максимально допустимая неопределенность Δ_{AS}, %
100,30	2,608	1,403	3,2
Критерий приемлемости			***Статус теста***
$\Delta_Z = S_Z(\%) \cdot t(95\%, n-1) = 1{,}403 < 3{,}2$			**Соответствует**

Оценку промежуточной (внутрилабораторной) прецизионности аналитической методики проводили по экспериментальным данным, полученным в разные дни разными аналитиками (табл. 23).

Таблица 23 – Промежуточная прецизионность аналитической методики количественного определения папаверина гидрохлорида методом ИК-Фурье-спектрометрии в таблетированной лекарственной форме

Аналитик № 1			
Средняя открываемость, $\bar{Z}$ %	Стандартное отклонение S_Z , %	Односторонний доверительный интервал Δ_Z, %	Максимально допустимая неопределенность Δ_{AS}, %
100,203	0,608	1,403	3,2
Критерий приемлемости			***Статус теста***
$\Delta_Z = S_Z(\%) \cdot t(95\%, n-1) = 1{,}403 < 3{,}2$			**Соответствует**
Аналитик № 2			
Средняя открываемость, $\bar{Z}$ %	Стандартное отклонение S_Z , %	Односторонний доверительный интервал Δ_Z, %	Максимально допустимая неопределенность Δ_{AS}, %
100,108	1,085	2,017	3,2
Критерий приемлемости			***Статус теста***
$\Delta_Z = S_Z(\%) \cdot t(95\%, n-1) = 2{,}017 < 3{,}2$			**Соответствует**
Различия прецизионности Аналитика 1 и Аналитика 2			

	Аналитик 1	*Аналитик 2*
Дисперсия S^2	0,370	1,177
F-критерий (Расчетное значение)	3,178	
F-критерий (Критическое значение)	6,029	
Статус теста ($F_{расч} \leq F_{крит}$)	Соответствует	

Величина стандартного отклонения S_Z открываемости реузльтатов Аналитика 1 и Аналитика 2 находилась на уровне 0,608% и 1,085%, дисперсии S^2 – 0,370 и 1,177 соответственно.

У Аналитика 1 и Аналитика 2 величина одностороннего доверительного интервала Δ_Z: 1,403% и 2,017% не превышала максимально допустимую неопределенность Δ_{AS}% результатов анализа, равную 3,2%.

Значение *F*-критерия составило 3,178, что не превышает его критического значения 6,029, следовательно отсутствует статистически значимые различия результатов количественного определения у Аналитика 1 и Аналитика 2. Таким образом методика количественного определения папаверина гидрохлорида позволяет получать воспроизводимые результаты на уровне промежуточной прецизионности.

5.2. Сравнение метрологических характеристик методик количественного определения кислоты ацетилсалициловой, кофеин-бензоата натрия и папаверина гидрохлорида в таблетированных лекарственных формах методом ИК-Фурье-спектрометрии с референтными методиками

Следующим этапом исследования было сравнение метрологических характеристик методик количественного определения кислоты ацетилсалициловой, кофеин-бензоата натрия и папаверина гидрохлорида методом ИК-Фурье спектрометрии с методиками, предложенными в фармакопейных статьях/проектах фармакопейных статей на соответствующие таблетированные лекарственные формы. Так как на этапе разработки фармакопейных

статей/проектов для методик проводили процедуру валидации, данные методики мы считали референтными.

Для количественного определения кислоты ацетилсалициловой проводили сравнение метрологических характеристик с методикой прямого алкалиметрического титрования [4]. Для этого вышеуказанными методами анализировали образцы серийной продукции – таблетки «Ацетилсалициловая кислота», 500 мг (ОАО «Дальхимфарм») одной серии.

В качестве принятого опорного значения использовали содержание кислоты ацетилсалициловой, которое в исследуемых образцах составляло 83,33% (масс.).

Результаты анализа таблеток методами ИК-Фурье-спектрометрии и алкалиметрического титрования таблеток «Ацетилсалициловая кислота» представлены в таблице 24. Среднее значение открываемости кислоты ацетилсалициловой в таблетках составило: для ИК-Фурье-спектрометрии – 99,97%; для алкалиметрии – 100,02%.

Таблица 24 – Результаты количественного определения кислоты ацетилсалициловой методами ИК-Фурье-спектрометрии и алкалиметрического титрования в таблетированной лекарственной форме («Ацетилсалициловая кислота», таблетки 500 мг (ОАО «Дальхимфарм»))

	ИК-Фурье-спектрометрия		Алкалиметрическое титрование	
№	Содержание кислоты ацетилсалициловой, % (масс.)	Открываемость *Z*, %	Содержание кислоты ацетилсалициловой, % (масс.)	Открываемость *Z*, %
1	83,16	100,2	83,50	99,8
2	83,58	99,7	83,41	99,9
3	83,41	99,9	83,40	99,92
4	84,27	98,89	82,90	100,52
5	83,38	99,94	83,32	100,01
6	82,83	100,6	83,60	99,68
7	83,25	100,1	83,52	99,77
8	83,36	99,97	83,31	100,03
9	83,00	100,4	82,87	100,56
	Среднее значение		Среднее значение	
	83,36	99,97	83,31	100,02

Результаты сравнительного анализа правильности и прецизионности (сходимости) методик представлены в таблице 25.

Таблица 25 – Сравнение правильности и прецизионности (сходимости) методик количественного определения кислоты ацетилсалициловой в таблетированной лекарственной форме методами ИК-Фурье-спектрометрии и титриметрии.

	ИК-Фурье-спектрометрия	Алкалиметрическое титрование
Дисперсия S^2	0,168	0,068
F-критерий (расчетное значение)	2,453	
F-критерий (критическое значение)	6,029	
Открываемость Z, %	99,97	100,02
t-критерий (расчетное значение)	0,289	
t-критерий (критическое значение)	2,120	
Статус тестов ($F_{расч} \leq F_{крит}$; $t_{расч} \leq t_{крит}$)	Соответствует	

Из представленных данных следует что результаты, полученные с использованием метода ИК-Фурье-спектрометрии, статистически значимо не различаются по показателю прецизионности (сходимости) с результатами алкалиметрического титрования – значение F-критерия составляет 2,453, что не превышает его критического значения 6,029.

Оценка параметров правильности (показатель «открываемость») также свидетельствует об отсутствии статистически значимого различия – расчетное значение t-критерия 0,289 не превышает его критического значения 2,120.

Для кофеин-бензоата натрия сравнивали метрологические характеристики предложенной ИК-спектрометрической методики с методикой определения методом обращенно-фазовой ВЭЖХ (расчет содержания аналита методом сравнения со стандартом) [14]. Анализировали образцы таблеток на основе состава «Цитрамон П» с заменой кофеина на кофеин-бензоат натрия. Принятое опорное значение – содержание кофеин-бензоата натрия в таблетках 4,98% (масс.).

Среднее значение открываемости кофеин-бензоата натрия в таблетках составило: для ИК-Фурье-спектрометрии – 99,89%; для ВЭЖХ – 99,99% (табл. 26).

Таблица 26 – Результаты количественного определения кофеин-бензоата натрия методами ИК-Фурье-спектрометрии и ВЭЖХ в таблетированной лекарственной форме (таблетки на основе состава «Цитрамон П»)

	ИК-Фурье-спектрометрия		ВЭЖХ	
№	Содержание кофеин-бензоата натрия, % (мас.)	Открываемость *Z*, %	Содержание кофеин-бензоата натрия, % (мас.)	Открываемость *Z*, %
1	4,99	100,20	5,02	100,80
2	4,89	98,19	5,04	101,20
3	4,92	98,80	4,99	100,20
4	4,96	99,60	4,93	99,00
5	5,01	100,60	4,98	100,00
6	4,95	99,40	4,91	98,59
7	4,97	99,80	4,94	99,20
8	5,05	101,41	5,00	100,40
9	5,30	101,00	5,01	100,60
	Среднее значение		Среднее значение	
	4,97	99,89	4,98	99,99

Результаты правильности и прецизионности (сходимости) методик, а также их сравнение представлены в таблице 27.

Таблица 27 – Сравнение правильности и прецизионности (сходимости) методик количественного определения кофеин-бензоата натрия в таблетированной лекарственной форме методами ИК-Фурье-спектрометрии и ВЭЖХ.

	ИК-Фурье-спектрометрия	**ВЭЖХ**
Дисперсия S^2	1,069	0,784
F-критерий (Расчетное значение)	1,365	
F-критерий (Критическое значение)	6,029	
Открываемость *Z*, %	99,89	99,99
t-критерий (расчетное значение)	0,242	
t-критерий (критическое значение)	2,120	
Статус тестов ($F_{расч} \leq F_{крит}$; $t_{расч} \leq t_{крит}$)	Соответствует	

Из представленных данных следует что результаты, полученные с использованием метода ИК-Фурье-спектрометрии, статистически значимо не отличаются по показателю прецизионности (сходимости) с результатами, полученными методом ВЭЖХ – значение *F*-критерия составляет 1,365, что не превышает его критического значения 6,029.

Сравнительный анализ параметров правильности (показатель «открываемость») двух методик свидетельствует об отсутствии статистически значимого различия – значение *t*-критерия 0,242 не превышает его критического значения 2,120.

Для количественного определения папаверина гидрохлорида проводили сравнение метрологических характеристик с методикой УФ-спектрофотометрии при длине волны 309 нм (расчет содержания аналита методом сравнения со стандартом) [19].

Для сравнения методами ИК-Фурье-спектрометрии и УФ-спектрофотометрии анализировали одну серию таблеток «Папаверина гидрохлорид», 40 мг (ОАО «Фармстандарт-лексредства»).

В качестве принятого опорного значения использовали содержание папаверина гидрохлорида, которое в образцах исследуемых таблеток составило 11,43% (масс.).

Результаты анализа таблеток методом УФ-спектрофотометрии и ИК-Фурье-спектрометрией представлены в Таблице 28. Среднее значение открываемости папаверина гидрохлорида в таблетках составило: для ИК-Фурье-спектрометрии – 99,98%; для УФ-спектрофотометрии – 100,00%.

Таблица 28 – Результаты количественного определения папаверина гидрохлорида в таблетированной лекарственной форме методами ИК-Фурье-спектрометрии и УФ-спектрофотометрии («Папаверина гидрохлорид», таблетки 40 мг (ОАО «Фармстандарт-лексредства»))

	ИК-Фурье-спектрометрия		УФ-спектрофотометрия	
№	Содержание папаверина гидрохлорида, % (мас.)	Открываемость Z, %	Содержание папаверина гидрохлорида, % (мас.)	Открываемость Z, %
1	11,49	100,5	11,44	100,1
2	11,42	99,9	11,45	100,2
3	11,44	100,1	11,49	100,5
4	11,46	100,3	11,42	99,87
5	11,41	99,82	11,41	99,85
6	11,43	99,99	11,42	99,92
7	11,48	100,4	11,31	98,99
8	11,42	99,91	11,43	99,96
9	11,31	98,93	11,50	100,6
	Среднее значение		Среднее значение	
	11,43	99,98	11,43	100,00

Результаты правильности и прецизионности (сходимости) методик, а также их сравнение представлены в таблице 29.

Таблица 29 – Сравнение правильности и прецизионности (сходимости) методик количественного определения папаверина гидрохлорида в таблетированной лекарственной форме методами ИК-Фурье-спектрометрии и УФ-спектрофотометрии

	ИК-Фурье-спектрометрия	УФ-спектрофотометрия
Дисперсия S^2	0,213	0,216
F-критерий (расчетное значение)	1,014	
F-критерий критическое значение)	6,029	
Открываемость *Z*, %	99,98	100,00
t-критерий (расчетное значение)	0,071	
t-критерий (критическое значение)	2,120	
Статус тестов	Соответствует	

($F_{расч} \leq F_{крит}$; $t_{расч} \leq t_{крит}$)	

Результаты, полученные с использованием метода ИК-Фурье-спектрометрии, статистически значимо не различаются по показателям прецизионности (сходимости) с результатами, полученными методом УФ-спектрофотометрии – значение *F*-критерия составляет 1,014, что не превышает его критического значения 6,029.

Оценка параметров правильности (показатель «открываемость») также свидетельствует об отсутствии значимого статистического различия – значение *t*-критерия 0,071 не превышает критического значения *t*-критерия 2,120.

Таким образом валидационная оценка методик количественного ИК-спектрометрического определения лекарственных веществ, использованных в диссертационной работе, и сравнение с референтыми аналитическими методиками были завершающими этапами процедуры разработки. Вышеуказанные аналитические методики количественного определения кислоты ацетилсалициловой, кофеин-бензоата натрия и папаверина гидрохлорида в таблетированных лекарственных формах методом ИК-Фурье-спектрометрии в режиме НПВО были апробированы в отделах контроля качества ООО «Лекарь» (Приложение 2) и ООО «Самарская фармацевтическая фабрика» (Приложение 3).

Выводы по главе 5

1. Для аналитических методик количественного определения кислоты ацетилсалициловой, кофеин-бензоата натрия и папаверина гидрохлорида в таблетированных лекарственных формах методом ИК-Фурье-спектрометрии в режиме НПВО рабочие диапазоны составили 80%-120% от номинального содержания в соответствующих лекарственных формах.

2. Определены точностные характеристики (правильность, прецизионность) методик количественного определения кислоты ацетилсалициловой, кофеин-бензоата натрия и папаверина гидрохлорида в таблетированных лекарственных формах. Систематическая погрешность в рабочем диапазоне методики составила

0,28% для методики количественного определения кислоты ацетилсалициловой в таблетированных лекарственных формах; 0,26% – для методики количественного определения кофеин-бензоата натрия и 0,30% – для методики количественного определения папаверина гидрохлорида. Полученные значения систематических погрешностей соответствуют критерию приемлемости в контроле качества лекарственных средств.

3. Сходимость методик количественного ИК-спектрометрического определения вышеуказанных лекарственных веществ в таблетированных лекарственных формах оценивали в виде односторонних доверительных интервалов открываемости, которые находились в диапазоне значений 0,85%-2,50% и не превышали рассчитанной для них максимально допустимой неопределенности результатов анализа 3,2%. Оценка промежуточной (внутрилабораторной) прецизионности показала отсутствие статистически значимых различий результатов анализа у разных аналитиков в разные интервалы времени.

4. Сравнение результатов анализа кислоты ацетилсалициловой, кофеин-бензоата натрия и папаверина гидрохлорида в таблетированных лекарственных формах с референтными аналитическими методиками показало отсутствие статистически значимых различий показателей правильности и прецезионности (сходимости). Расчетные значения *F*-критериев и *t*-критериев не превышают их критических значений – 6,029 и 2,12 соответственно, при сравнении результатов анализа кислоты ацетилсалициловой методом алкалиметрического титрования, кофеин-бензоата натрия методом ВЭЖХ и папаверина гидрохлорида методом УФ-спектрофотометрии с результатами количественного ИК-спектрометрического определения этих веществ в таблетированных лекарственных формах.

ОБЩИЕ ВЫВОДЫ

1. Предложен алгоритм разработки математических (градуировочных) моделей в количественном анализе таблетированных лекарственных форм методом ИК-Фурье-спектрометрии в режиме НПВО. Данный алгоритм включает предобработку ИК-спектров анализируемых образцов, разделение массива ИК-спектров градуировочных образцов на «обучающую» и тестовую выборки, построение математических (градуировочных) моделей методом частичных наименьших квадратов, самотестирование модели на тестовой выборке и валидацию модели в условиях реального эксперимента (на контрольных образцах). Предложенный алгоритм имеет циклический характер: оценка эффективности каждого предыдущего этапа возможна только после самотестирования математической модели, критерием приемлемости является величина коэффициента детерминации r^2 не менее 0,99.

2. Получены математические (градуировочные) модели для количественного определения методом ИК-Фурье-спектрометрии кислоты ацетилсалициловой, кофеин-бензоата натрия и папаверина гидрохлорида в таблетированных лекарственных формах. Данные модели имеют вид обратных уравнений множественной линейной регрессии. Количество латентных переменных (компонент) в уравнениях составило: для математической модели количественного определения кислоты ацетилсалициловой – 3, для кофеин-бензоата натрия – 5 и для папаверина гидрохлорида – 2.

3. Для автоматизации процедур обработки данных, построения математических (градуировочных) моделей, расчета результатов количественного ИК-спектрометрического анализа разработана компьютерная программа «Spectral Model Analyzer». Представлен прототип программно-аналитического комплекса для количественного ИК-спектрометрического анализа на основе ИК-Фурье-спектрометра и вышеуказанной компьютерной программы.

4. С применением многофакторного планирования и оптимизации эксперимента по схеме Бокса-Бенкена получены математические модели пробоподготовки таблетированных лекарственных форм, имеющие форму

уравнений множественной линейной регрессии. Данные уравнения позволяют определять наиболее оптимальные значения факторов, влияющие на параметр открываемость лекарственного вещества в количественном ИК-спектрометрическом анализе.

5. Определены оптимальные факторы пробоподготовки таблетированных лекарственных форм для ИК-Фурье-спектрометрии: «Ацетилсалициловая кислота» таблетки 500 мг – размер частиц 180 мкм, влажность 1,5%, интервал времени между пробоподготовкой и анализом не более 60 мин; таблетки на основе состава «Цитрамон П» – размер частиц 180 мкм, влажность 3%, интервал времени между пробоподготовкой и анализом не более 30 мин; «Папаверина гидрохлорид» таблетки 40 мг – размер частиц 180 мкм, влажность 0,5%, интервал времени между пробоподготовкой и анализом не более 60 мин.

6. Для аналитических методик количественного определения кислоты ацетилсалициловой, кофеин-бензоата натрия и папаверина гидрохлорида в таблетированных лекарственных формах методом ИК-Фурье-спектрометрии в режиме НПВО рабочие диапазоны составили 80%-120% от номинального содержания лекарственных веществ в соответствующих таблетированных лекарственных формах.

7. Определены точностные характеристики (правильность, прецизионность) методик количественного определения кислоты ацетилсалициловой, кофеин-бензоата натрия и папаверина гидрохлорида в таблетированных лекарственных формах. Систематическая погрешность в рабочем диапазоне методики составила 0,28% для методики количественного определения кислоты ацетилсалициловой в таблетированных лекарственных формах; 0,26% – для методики количественного определения кофеин-бензоата натрия и 0,30% – для методики количественного определения папаверина гидрохлорида. Полученные значения систематических погрешностей соответствуют критерию приемлемости в контроле качества лекарственных средств.

8. Сходимость методик количественного ИК-спектрометрического определения вышеуказанных лекарственных веществ в таблетированных

лекарственных формах оценивали в виде односторонних доверительных интервалов открываемости, которые находились в диапазоне значений 0,85%-2,50% и не превышали рассчитанной для них максимально допустимой неопределенности результатов анализа 3,2%. Оценка промежуточной (внутрилабораторной) прецизионности показала отсутствие статистически значимых различий результатов анализа у разных аналитиков в разные интервалы времени. Сравнение результатов анализа кислоты ацетилсалициловой, кофеин-бензоата натрия и папаверина гидрохлорида в таблетированных лекарственных формах с референтными аналитическими методиками показало отсутствие статистически значимых различий показателей правильности и прецизионности (сходимости).

9. Разработанные аналитические методики количественного определения кислоты ацетилсалициловой, кофеин-бензоата натрия и папаверина гидрохлорида в таблетированных лекарственных формах методом ИК-Фурье-спектрометрии в режиме НПВО апробированы в отделах контроля качества ООО «Лекарь» и ООО «Самарская фармацевтическая фабрика».

Практические рекомендации

Данные, полученные в ходе диссертационного исследования, имеют практическую значимость в контроле качества лекарственных средств.

Рекомендуется:

- использовать алгоритм разработки аналитических методик количественного определения методом ИК-Фурье-спектрометрии в режиме НПВО для других лекарственных веществ в таблетированных лекарственных формах;

- использовать алгоритм планирования и оптимизации пробоподготовки таблетированных лекарственных веществ для процедуры количественного определения лекарственных веществ методом ИК-Фурье-спектрометрии;

- использовать компьютерную программу для ЭВМ «Spectral Model Analyzer» для целей количественного определения методом ИК-Фурье-

спектрометрии в режиме НПВО в научно-исследовательской работе и рутинной аналитической практике.

Перспективы дальнейшей разработки темы заключаются в создании методических подходов к количественному определению лекарственных веществ методом ИК-Фурье-спектрометрии в режиме НПВО в контроле качества многокомпонентных таблетированных лекарственных форм, содержащих два и более лекарственных веществ.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

НПВО – нарушенное полное внутреннее отражение

PLS – метод частичных наименьших квадратов

БИК – ближняя инфракрасная спектрометрия

ПО – программное обеспечение

ЭВМ – электронно-вычислительная машина

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Автоматизация пробоподготовки на принципах хроматомембранных методов разделения при анализе водных и воздушных сред / Л. Н. Москвин, А. Л. Москвин, О. В. Родинков [и др.] // Журнал аналитической химии. – 2023. – Т. 78, № 2. – С. 99–107.
2. Актуальность применения метода ИК-спектрометрии при определении подлинности лекарственных средств в условиях испытательной лаборатории по контролю качества лекарственных средств / Т. В. Александрова, Л. К. Крючкова, Н. А. Буданова [и др.] // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2016. – № 10-4. – С. 609–613.
3. Алгоритм количественного определения кислоты ацетилсалициловой методом инфракрасной спектрометрии с преобразованием Фурье / А. В. Воронин, Д. Н. Маркин, А. В. Карпов [и др.] // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2025. – Т. 28, № 5. – С. 30–36.
4. Ацетилсалициловая кислота, таблетки : ФС.3.1.0009.18. – Текст : электронный // Государственная фармакопея Российской Федерации. – XIV изд. – Москва, 2018. – Т. 3. – С. 3417–3421. – URL: https://rucml.ru/pages/farma?ysclid=mopduwlk37374518414 (дата обращения: 02.05.2026).
5. Беллами, Л. Инфракрасные спектры молекул / Л. Беллами. – Москва : изд–во иностранной литературы, 1957. – 444 с.
6. Валидация аналитических методик. Количественное описание неопределенности в аналитических измерениях : руководства для лабораторий / пер. с англ. под ред. Г. Р. Нежиховского, Р. Л. Кадиса. – 2-е изд. – Санкт-Петербург, 2016. – 310 с. : ил.
7. Вершинин, В. И. Новые подходы к спектрофотометрическому анализу неразделенных смесей органических веществ / В. И. Вершинин // Химия в интересах устойчивого развития. – 2013. – Т. 21, № 1. – С. 9–20.

8. Галанов, Е. К. Инфракрасный спектрометр для исследования состава газов, жидкостей и твердых тел / Е. К. Галанов, Е. Н. Бодунов // Известия ПГУПС. – 2011. – № 3. – С. 138–143.
9. Дворкин, В. И. Метрология и обеспечение качества химического анализа / В. И. Дворкин. – 2-е изд., испр. и доп. – Москва : ТЕХНОСФЕРА, 2019. – 318 с.
10. Ельяшевич, М. А. Атомная и молекулярная спектроскопия / М. А. Ельяшевич. – Москва : Физматлит, 1962. – 892 с.
11. Иванова, Л. В. ИК-спектрометрия в анализе нефти и нефтепродуктов / Л. В. Иванова, Р. З. Сафиева, В. Н. Кошелев // Вестник Башкирского университета. – 2008. – Т. 13, № 4. – С. 869–874.
12. ИК-спектрометрия при анализе новых серосодержащих производных 6-метил(амино)урацила / С. А. Мещерякова, Д. А. Мунасипова, Т. А. Иванова [и др.] // Медицинский вестник Башкортостана. – 2012. – Т. 7, № 3. – С. 61–62.
13. Колосова, О. А. Изучение возможности применения ИК-спектроскопии для идентификации сырья валерианы сомнительной и волжской / О. А. Колосова, О. В. Тринеева // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2022. – Т. 11, № 3. – С. 162–172.
14. Кофеин-бензоат натрия, таблетки ФС [Проект. Взамен ГФ, ст. 175, ФС 42-3600-98, ФС 42-2145-98]. – URL: https://static-0.minzdrav.gov.ru/system/attachments/attaches/000/037/327/original/%D0%A4%D0%A1_%D0%9A%D0%BE%D1%84%D0%B5%D0%B8%D0%BD-%D0%B1%D0%B5%D0%BD%D0%B7%D0%BE%D0%B0%D1%82_%D0%BD%D0%B0%D1%82%D1%80%D0%B8%D1%8F__%D1%82%D0%B0%D0%B1%D0%BB%D0%B5%D1%82%D0%BA%D0%B8_.docx?1518436547 (дата обращения: 16.01.2026). – Текст : электронный.

15. Курегян, А. Г. ИК-спектрометрия: теория и практика метода : электронное учебно-методическое пособие / А. Г. Курегян, С. В. Печинский ; М-во здравоохранения Рос. Федерации, Пятигорский мед.-фармацевт. ин-т – фил. Волгоградского гос. мед. ун-та. – Казань : Бук, 2023. – 80 с. – URL: https://elibrary.ru/download/elibrary_50441856_97720010.pdf (дата обращения: 12.04.2026). – Текст : электронный.
16. Оготоева, Д. Д. Физико-химические, биологические и хемометрические подходы в оценке качества лекарственных растительных препаратов : специальность 3.4.2. «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» : диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук / Оготоева Дайаана Дмитриевна ; [Место защиты: ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов»]. – Москва, 2024. – 201 с. : ил.
17. Определение суммарного содержания ароматических углеводородов методом ИК-Фурье спектрометрии в продукте гидроочистки дизельного топлива / К. А. Михайлова, В. Д. Черепанов, А. Ю. Волегова [и др.] // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – 2020. – Т. 86, № 7. – С. 20–26.
18. Оптические методы в фармацевтическом анализе : учебное пособие / сост. О. В. Тринеева, А. И. Сливкин ; Министерство науки и высшего образования РФ, Воронежский государственный университет. – Воронеж : Издательский дом ВГУ, 2021. – 376 с.
19. Папаверина гидрохлорид, таблетки ФС [Проект. Вводится впервые Взамен ФС 42-3342-96]. – URL: https://static-0.minzdrav.gov.ru/system/attachments/attaches/000/037/597/original/%D0%9F%D1%80%D0%BE%D0%B5%D0%BA%D1%82_%D0%A4%D0%A1_%D0%9F%D0%B0%D0%BF%D0%B0%D0%B2%D0%B5%D1%80%D0%B8%D0%BD%D0%B0_%D0%B3%D0%B8%D0%B4%D1%80%D0%BE%D1%85%D0%BB%D0%BE%D1%80%D0%B8%D0%B4__%D1%82%D0%B0%D0%B1%D0%BB%D0%B5%D1%82%D0%BA%D0%B8.docx?1519720912 (дата обращения: 16.01.2026). – Текст : электронный.

20. Пичугина, А. И. Инфракрасная спектроскопия с преобразованием Фурье (ИКФС, FTIR) : учебное пособие / А. И. Пичугина, Ю. В. Чурсанов. – Тверь : ТвГТУ, 2025. – 84 с.
21. Потеря в массе при высушивании : ОФС.1.2.1.0010.15. – Текст : электронный // Государственная фармакопея Российской Федерации. – XIII изд. – Москва, 2015. – Т. 1. – С. 556–559. – URL: https://rucml.ru/pages/farma?ysclid=mopduwlk37374518414 (дата обращения: 02.05.2026).
22. Программа ASpec. – Текст : электронный // ИНФРАСПЕК : [сайт]. – URL: https://infraspek.ru/produktsiya/programmyi/aspec/ (дата обращения: 13.04.2026).
23. Разработка и валидация методики количественного определения кофеина-бензоата натрия методом инфракрасной спектрометрии с преобразованием Фурье / А. В. Воронин, Д. Н. Маркин, А. В. Карпов [и др.] // Медико-фармацевтический журнал Пульс. – 2025. – Т. 27, № 12. – С. 139–149.
24. Разработка методики количественного определения папаверина гидрохлорида методом ИК-Фурье-спектрометрии на примере анализа таблетированной лекарственной формы / Д. Н. Маркин, А. В. Воронин, В. А. Катаев [и др.] // Медицинский вестник Башкортостана. – 2026. – Т. 21, № 1. – С. 75-81.
25. Ретроспективный обзор методологических основ новой ОФС «Спектрометрия в ближней инфракрасной области» / О. В. Соболева, Т. Е. Елизарова, А. Ю. Арик [и др.] // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. – 2016. – № 2. – С. 12–18.
26. Руководство по валидации методик анализа лекарственных средств (методические рекомендации) / под ред. Н. В. Юргеля, А. Л. Младенцева, А. В. Бурдейн [и др.] // Руководство для предприятий фармацевтической промышленности. – Москва : Спорт и Культура, 2007. – С. 132–156.
27. Руководство по инструментальным методам исследований при разработке и экспертизе качества лекарственных препаратов / под ред. С. Н. Быковского, И. А. Василенко, М. И. Харченко [и др.]. – Москва : Перо, 2014. – 656 с.

28. Сабирзянов, Д. Р. Разработка хроматографических методик для стандартизации субстанции бромокаина, его трансдермальной лекарственной формы и проведения биоаналитических исследований : специальность 14.04.02 «Фармацевтическая химия. Фармакогнозия» : диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук / Сабирзянов Денис Робертович. – Пермь, 2019. – 144 с.
29. Сапон, Е. С. Применение ИК-Фурье спектроскопии для количественного анализа в фармацевтической промышленности / Е. С. Сапон, В. Г. Лугин // Вестник фармации. – 2017. – № 1(75). – С. 82–92.
30. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № RU2022618582 ChemPlan 1.0. : заявка 2022618101 : дата поступления 21.04.2022 : дата регистрации 12.05.2022 : дата публикации 12.05.2022 / А. В. Воронин, А. В. Карпов, О. В. Баранов ; правообладатель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. – Бюл. № 5. – 1 с.
31. Ситовой анализ : ОФС.1.4.2.0003.15. – Текст : электронный // Государственная фармакопея Российской Федерации. – XV изд. – Москва, 2023. – Т. 1. – С. 2913–2923. – URL: https://rucml.ru/pages/farma?ysclid=mopduwlk37374518414 (дата обращения: 12.02.2026).
32. Скиданов, Р. В. Исследование изображающего спектрометра на основе дифракционной линзы / Р. В. Скиданов, В. А. Бланк, А. А. Морозов // Компьютерная оптика. – 2015. – Т. 39, № 2. – С. 218–223.
33. Спектрометрия в ближней инфракрасной области : ОФС.1.2.1.1.0001. – Текст : электронный // Государственная фармакопея Российской Федерации. – XV изд. – Москва, 2023. – Т. 1. – С. 1137–1156. – URL: https://rucml.ru/pages/farma?ysclid=mopduwlk37374518414 (дата обращения: 02.05.2026).

34. Спектрометрия в инфракрасной области : ОФС.1.2.1.1.0002.15. – Текст : электронный // Государственная фармакопея Российской Федерации. – XIV изд. – Москва, 2018. – Т. 1. – С. 742–748. – URL: https://rucml.ru/pages/farma?ysclid=mopduwlk37374518414 (дата обращения: 02.05.2026).
35. STATISTICA 10 : программный пакет для статистического анализа / StatSoft Inc. – Tulsa, USA, 2011. – 1 CD-ROM. – Загл. с титул. экрана. – Электронная программа : электронная.
36. Статистическая оценка вероятности правильного обнаружения веществ в ИК Фурье-спектрометрии / А. Морозов, И. Кочиков, А. Новгородская [и др.] // Компьютерная оптика. – 2015. – Т. 39, № 4. – С. 614–621.
37. Тарасевич, Б. Н. Основы ИК-спектроскопии с преобразованием Фурье. Подготовка проб в ИК-спектроскопии / Б. Н. Тарасевич. – Москва : МГУ имени М. В. Ломоносова, 2012. – 22 с.
38. Халиуллин, Ф. А. Инфракрасная спектроскопия в фармацевтическом анализе : учебное пособие / Ф. А. Халиуллин, А. Р. Валиева, В. А. Катаев. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2017. – 160 с.
39. Шавейко, А. И. Концепция разработки веб-приложения для автоматизированного планирования химических экспериментов / А. И. Шавейко, А. В. Олеферович // Молодежь и научно-технический прогресс : сборник докладов XIII Международной научно-практической конф. студентов, аспирантов и молодых ученых / Е. Н. Иванцова, В. М. Уваров [и др.]. – Белгород : Белгородский государственный технологический университет им. В. Г. Шухова, 2020. – Т. 1. – С. 201–203.
40. Эрмер, Йоахим. Валидация методик в фармацевтическом анализе. Примеры наилучших практик / Йоахим Эрмер, Джон Х. МакБ. Миллер ; пер. с англ. под ред. А. В. Александрова. – 1-е изд. – Москва : Группа компаний ВИАЛЕК, 2013. – 512 с.

41. A direct DRS-FTIR probe for rapid detection and quantification of fluoroquinolone antibiotics in poultry egg-yolk / R. Kurrey, M. Mahilang, M. Kanti Ded [et al.] // Food Chemistry. – 2019. – Vol. 270. – P. 459–466.
42. A multivariate calibration problem in analytical chemistry solved by partial least-squares models in latent variables / M. Sjöström, S. Wold, W. Lindberg [et al.] // Analytica Chimica Acta. – 1983. – Vol. 150. – P. 61–70.
43. A rapid Fourier-transform infrared (FTIR) spectroscopic method for direct quantification of paracetamol content in solid pharmaceutical formulations / M. A. Mallah, S. T. H. Sherazi, M. I. Bhanger [et al.] // Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. – 2015. – Vol. 141. – P. 64–70.
44. A review of chemometrics combined with modern spectroscopy technology in fertilizer analysis / J. Zhang, W. Guo, T. Liu [et al.] // Analytical Methods. – 2025. – Vol. 17(25). – P. 5133–5149.
45. Akash, M. S. H. Comprehensive Insights into Infrared Spectroscopy / M. S. H. Akash, K. Rehman // Essentials of Pharmaceutical Analysis / by M. S. H. Akash, K. Rehman. – 2nd ed. – Singapore : Springer, 2025. – P. 161–208.
46. Analysis of solid-state transformations of pharmaceutical compounds using vibrational spectroscopy / A. Heinz, C. J. Strachan, K. C. Gordon [et al.] // Journal of Pharmacy and Pharmacology. – 2009. – Vol. 61. – P. 971–988.
47. Application of Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) for Quantitative Analysis of Pharmaceutical Compounds / G. F. Faturachman, A. A. Ramanda, S. Maharani [et al.] // Indonesian Journal of Pharmaceutical Education. – 2025. – Vol. 5(1). – P. 27–33.
48. Arslan, F. N. Chemometrics-assisted ATR-FTIR spectroscopy method for simultaneous detection of dexketoprofen trometamol and thiocolchicoside in pharmaceutical dosages / F. N. Arslan, S. D. Cecen, S. N. K. Elmas. – Text : electronic // Microchemical Journal. – 2025. – Vol. 219. – 116163. – URL: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0026265X2503512X?via%3Dihub (date of access: 10.04.2026).

49. Artificial neural networks (ANNs) and partial least squares (PLS) regression in the quantitative analysis of cocrystal formulations by Raman and ATR-FTIR spectroscopy / P. Barmpalexis, A. Karagianni, I. Nikolakakis [et al.] // Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. – 2018. – Vol. 158. – P. 214–224.
50. ATR-FTIR-Based Direct and Rapid Quantification of Levofloxacin, Degradation and Adulterations via Multivariate Analysis / M. U. Kamal, R. A. Sarfraz, R. Ashraf [et al.]. – Text : electronic // Analytical Science Advances. – 2025. – Vol. 6(2). – e70048. – URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/41048974/ (date of access: 10.04.2026).
51. Attenuated total reflection-Fourier transform infrared spectroscopy (ATR-FTIR) for quantification of piroxicam in tablet dosage form as a green analytical method / Q. T. Nguyen, N. N. Ho, T. M. T. Nguyen [et al.] // Vietnam Journal of Chemistry. – 2020. – Vol. 58(5). – P. 685–690.
52. Bachri, M. PLS calculation of FTIR and spectrophotometric methods for determination simultaneous of dextromethorphan HBr and glycerylguaiacolate in tablet mixture / M. Bachri, Y. M. Permata, H. Syahputra // Rasayan Journal of Chemistry. – 2022. – Vol. 15(1). – P. 143–149.
53. Barnes, R. J. Standard Normal Variate Transformation and De-trending of Near-Infrared Diffuse Reflectance Spectra / R. J. Barnes, M. S. Dhanoa, S. J. Lister // Applied Spectroscopy. – 1989. – Vol. 43(5). – P. 772–777.
54. Blindheim, F. H. The Effect of Sample Preparation Techniques on Lignin Fourier Transform Infrared Spectroscopy / F. H. Blindheim, J. Ruwoldt. – Text : electronic // Polymers. – 2023. – Vol. 15(13). – 2901. – URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37447546/ (date of access: 10.04.2026).
55. Chemometric quality inspection control of pyrantel pamoate, febantel and praziquantel in veterinary tablets by mid infrared spectroscopy / M. S. Piantavini, F. L. D. Pontes, C. P. Uber [et al.] // Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. – 2014. – Vol. 125. – P. 396–403.

56. Chemometrics and infrared spectroscopy – A winning team for the analysis of illicit drug products / E. Deconinck, C. Duchateau, M. Balcaen [et al.] // Reviews in Analytical Chemistry. – 2022. – Vol. 41(1). – P. 228–255.
57. Chemometrics Approach Based on Wavelet Transforms for the Estimation of Monomer Concentrations from FTIR Spectra / A. Wakiuchi, S. Jasial, S. Asano [et al.] // ACS Omega. – 2023. – Vol. 8(22). – P. 19781–19788.
58. Chemometrics-assisted spectroscopic methods for rapid analysis of combined anti-malarial tablets / P. Pruksapha, P. Khongkaew, C. Suwanvecho [et al.] // Journal of Food and Drug Analysis. – 2023. – Vol. 31(2). – P. 338–357.
59. Chrisikou, I. FT-IR/ATR Solid Film Formation: Qualitative and Quantitative Analysis of a Piperacillin-Tazobactam Formulation / I. Chrisikou, M. Orkoula, C. Kontoyannis. – Text : electronic // Molecules. – 2020. – Vol. 25(24). – 6051. – URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33371411/ (date of access: 10.04.2026).
60. Common sampling techniques of FTIR spectroscopy. – Text : electronic // Edinburgh Instruments : [website]. – URL: https://www.edinst.com/resource/common-sampling-techniques-of-ftir-spectroscopy/ (date of publication: 25.04.2023).
61. Consortti, L. P. Green method for quantification of sodium cefotaxime in lyophilized powder by infrared spectroscopy / L. P. Consortti, H. R. N. Salgado // Journal of Pharmaceutical Sciences and Emerging Drugs. – 2017. – Vol. 5. – P. 1–6.
62. Corrêa, J. C. R. A platform for designing quantitative infrared spectrophotometric method for drugs and pharmaceuticals analysis: a rediscover for an ecological and safer technique in the routine quality control laboratories / J. C. R. Corrêa, H. R. N. Salgado // World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. – 2014. – Vol. 3. – P. 2056–2059.
63. Determination and differentiation of surface and bound water in drug substances by near infrared spectroscopy / G. X. Zhou, Z. Ge, J. Dorwart [et al.] // Journal of Pharmaceutical Sciences. – 2003. – Vol. 92(5). – P. 1058–1065.

64. Determination of phenacetin and salophen analgetics in solid binary mixtures with caffeine by infrared linear dichroic and Raman spectroscopy / B. B. Koleva, T. M. Kolev, D. L. Tsalev [et al.] // Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. – 2008. – Vol. 46(2). – P. 267–273.
65. Development and validation of a green spectrophotometric method for simultaneous determination of combined pharmaceutical dosage form (paracetamol and caffeine) using chemometrics technique in comparison with HPLC / B. Alattab, F. A. Alarbagi, M. A. Almagtari [et al.] // Analytical Chemistry Letters. – 2024. – Vol. 14(5). – P. 639–656.
66. Development and validation of an innovative method for the determination of cefadroxil monohydrate in capsules / B. A. Marco, H. R. N. Salgado // Physical Chemistry. – 2016. – Vol. 6. – P. 67–74.
67. Development and validation of chemometric assisted FTIR spectroscopic method for simultaneous estimation of valsartan and hydrochlorothiazide in pure and pharmaceutical dosage forms / A. Rahman, G. J. Sravani, K. Srividya [et al.] // Journal of Young Pharmacists. – 2020. – Vol. 12(2) Suppl. – P. s51–s55.
68. Different experimental approaches for Fourier-transform infrared spectroscopy applications in biology and biotechnology: A selected choice of representative results / S. Errico, M. Moggio, N. Diano [et al.] // Biotechnology and Applied Biochemistry. – 2023. – Vol. 70(3). – P. 937–961.
69. Durak, T. Effect of plant sample preparation and measuring methods on ATR-FTIR spectra results / T. Durak, J. Depciuch. – Text : electronic // Environmental and Experimental Botany. – 2020. – Vol. 169(1). – 103915. – URL: https://www.researchgate.net/publication/336575036_Effect_of_plant_sample_preparation_and_measuring_methods_on_ATR-FTIR_spectra_results (date of access: 10.04.2026).

70. Evaluating the reproducibility and consistency of different sample preparation techniques used for ATR-FTIR spectroscopy from the RILEM 295-FBB TG1 round robin test / J. Mirwald, S. Khalighi, A. Varveri [et al.]. – Text : electronic // Materials and Structures. – 2025. – Vol. 58. – 255. – URL: https://link.springer.com/article/10.1617/s11527-025-02755-1 (date of access: 10.04.2026).
71. Experimental, computational and chemometrics studies of BSA-vitamin B6 interaction by UV–Vis, FT-IR, fluorescence spectroscopy, molecular dynamics simulation and hard-soft modeling methods / F. Manouchehri, Y. Izadmanesh, E. Aghaee [et al.] // Bioorganic Chemistry. – 2016. – Vol. 68. – P. 124–136.
72. Foschi, M. Advanced Analytical Approach Based on Combination of FT-IR and Chemometrics for Quality Control of Pharmaceutical Preparations / M. Foschi, M. Marziale, A. Biancolillo. – Text : electronic // Pharmaceuticals (Basel). – 2022. – Vol. 15(6). – 763. – URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35745682/ (date of access: 10.04.2026).
73. Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopic Analyses of Microbiological Samples and Biogenic Selenium Nanoparticles of Microbial Origin: Sample Preparation Effects / A. A. Kamnev, Yu. A. Dyatlova, O. A. Kenzhegulov [et al.]. – Text : electronic // Molecules. – 2021. – Vol. 26(4). – 1146. – URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33669948/ (date of access: 10.04.2026).
74. Friedman, J. H. Greedy Function Approximation: A Gradient Boosting Machine / J. H. Friedman // The Annals of Statistics. – 2002. – Vol. 29(5). – P. 1189–1232.
75. FTIR combined with chemometric tools (fingerprinting spectroscopy) in comparison to HPLC: which strategy offers more opportunities as a green analytical chemistry technique for pharmaceutical analysis / K. M. Kelani, M. R. Rezk, H. H. Monir [et al.] // Analytical Methods. – 2020. – Vol. 12(48). – P. 5893–5907.
76. FTIR spectrophotometry as a green tool for quantitative analysis of drugs – practical application to amoxicillin / S. Fanelli, A. Zimmermann, E. G. Tótoli [et al.] // Journal of Chemistry. – 2018. – Vol. 2018(11–12). – P. 1–8.

77. FTIR spectroscopy coupled with machine learning approaches as a rapid tool for identification and quantification of artificial sweeteners / Y. T. Wang, B. Li, X. J. Xu [et al.]. – Text : electronic // Food Chemistry. – 2020. – Vol. 303. – 125404. – URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31466033/ (date of access: 10.04.2026).
78. Geladi, P. Computational methods and chemometrics in near infrared spectroscopy / P. Geladi, E. Dåbakk // Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry / ed. J. C. Lindon, G. E. Tranter, D. W. Koppenaal. – 3 ed. – Elsevier, 2017. – Vol. 1. – P. 350–356.
79. Gong, Y. Application of fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy in sample preparation: Material characterization and mechanism investigation / Y. Gong, X. Chen, W. Wu. – Text : electronic // Advances in Sample Preparation. – 2024. – Vol. 11. – 100122. – URL: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2772582024000214 (date of access: 10.04.2026).
80. GRAMS/AI™ Spectroscopy Software. – Text : electronic // ThermoFisher. Scientific : [website]. – URL: https://www.stage.thermofisher.com/order/catalog/product/INF-15000 (date of access: 10.04.2026).
81. Griffiths, P. R. Fourier Transform Infrared Spectrometry / P. R. Griffiths, J. A. de Haseth. – 2nd ed. – Hoboken : Wiley-Interscience, 2007. – 529 p.
82. Griffiths, P. R. Fourier transform infrared spectrometry: A tool for modern agricultural research / P. R. Griffiths, G. L. Pariente // Research Instrumentation for the 21st Century / edited by G. R. Beecher. – Dordrecht : Springer, 1988. – P. 223–246.
83. Hauser, M. A critical comparison of solid sample preparation techniques in infrared spectroscopy / M. Hauser, J. Oelichmann // Mikrochimica Acta. – 1988. – Vol. 94(1-6). – P. 39–43.
84. Hirschfeld, T. Upper Boundaries to the Extent of the Jacquinot or Throughput Advantage in Fourier Transform Infrared Spectroscopy / T. Hirschfeld // Applied Spectroscopy. – 1977. – Vol. 31(5). – P. 471–472.

85. ICH Q2(R2) Validation of analytical procedures - Scientific guideline (Current version - effective from 14/06/2024). – Text : electronic // European Medicines agency. Science medicines health : [website] URL: https://www.ema.europa.eu/en/ich-q2r2-validation-analytical-procedures-scientific-guideline (date of access: 10.04.2026).
86. Infrared Spectroscopy in Aqueous Solutions: Capabilities and Challenges / P. S. Fomina, M. A. Proskurnin, B. Mizaikoff [et al.] // Critical Reviews in Analytical Chemistry. – 2023. – Vol. 53(8). – P. 1748–1765.
87. Infrared Spectrum Characteristics and Quantification of OH Groups in Coal / F. Dai, W. Zhao, R. Li [et al.] // ACS Omega. – 2023. – Vol. 8(19). – P. 17064–17076.
88. Inoue, M. Real-Time Total Content Uniformity Assessment of Solid Dosage Forms Using Near-Infrared Transmission Spectroscopy / M. Inoue, E. Taniguchi, J. Sano // Analytical Chemistry. – 2025. – Vol. 97(11). – P. 6111–6117.
89. Introduction to Spectroscopy / D. L. Pavia, G. M. Lampman, G. S. Kriz [et al.]. – Cengage Learning, 2010. – 680 p.
90. IR-EcoSpectra: Exploring sustainable ex situ and in situ FTIR applications for green chemical and pharmaceutical analysis / A. Cherniienko, R. Lesyk, L. Zaprutko [et al.]. – Text : electronic // Journal of Pharmaceutical Analysis. – 2024. – Vol. 14(9). – 100951. – URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39291244/ (date of access: 10.04.2026).
91. Ivanova, B. B. Aromatic dipeptides and their salts – solid-state linear-dichroic infrared (IR-LD) spectral analysis and ab initio calculations / B. B. Ivanova // Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. – 2008. – Vol. 70(2). – P. 324–331.
92. Ivanova, B. B. Solid state linear dichroic infrared spectral analysis of benzimidazoles and their N1-protonated salts / B. B. Ivanova // Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. – 2005. – Vol. 62(1). – P. 58–65.

93. Jofre, F. C. Infrared radiation: A sustainable and promising sample preparation alternative for inorganic analysis / F. C. Jofre, M. Savio – Text : electronic // Trends in Analytical Chemistry. – 2023. – Vol. 169. – 117469. – URL: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0165993623005563?via%3Dihub (date of access: 10.04.2026).
94. Jordanov, B. Reduced IR-LD spectra of substances oriented as nematic solutions / B. Jordanov, B. Schrader // Journal of Molecular Structure. – 1995. – Vol. 347. – P. 389–398.
95. Kadali, V. A Comprehensive Review of Advancing Pharmaceutical Analysis Technology Through Chemometrics Approaches / V. Kadali, P. Unde, L. Borse. – Text : electronic // Biotech Research Asia. – 2025. – Vol. 22(4). – 1398. – URL: https://www.researchgate.net/publication/399566185 (date of access: 10.04.2026).
96. Kamnev, A. A. Specificities of the Fourier Transform Infrared Spectroscopic Methodology and Interpretation of Spectroscopic Data in Microbiological Analyses / A. A. Kamnev, A. V. Tugarova // Journal of Analytical Chemistry. – 2023. – Vol. 78(10). – P. 1320–1332.
97. Kellner, R. Fourier-transform infrared versus conventional grating-infrared-attenuated total reflectance spectroscopic investigation of the adsorption of blood proteins on polymer surfaces / R. Kellner, G. Gidály // Microchimica Acta. – 1981. – Vol. 75(1). – P. 119–129.
98. Kogawa, A. C. Development and validation of infrared spectroscopy method for the determination of darunavir in tablets / A. C. Kogawa, H. R. N. Salgado // Physical Chemistry. – 2013. – Vol. 3. – P. 1–6.
99. Kogawa, A. C. Quantification of doxycycline in raw material by an eco-friendly method of infrared spectroscopy / A. C. Kogawa, N. P. Mello, H. R. N. Salgado // Pharm. Anal. Acta. – 2016. – Vol. 7(2). – P. 463–466.
100. Kogawa, A. C. Quantitative analysis of pharmaceutical products by spectrophotometry in the infrared region: a practical review / A. C. Kogawa, H. R. N. Salgado // Drug Analytical Research. – 2022. – Vol. 6(2). – P. 3–7.

101. Kogawa, A. C. Spectrophotometry in infrared region: A new, low cost and green way to analyze tablets of rifaximin / A. C. Kogawa, H. R. N. Salgado // Current Pharmaceutical Analysis. – 2018. – Vol. 14. – P. 108–115.
102. Kolev, T. IR-LD spectral and theoretical analysis of L-tyrosinamide hydrochloride monohydrate / T. Kolev // Journal of Molecular Structure. – 2007. – Vol. 828(1). – P. 195–200.
103. Koleva, B. Linear-dichroic infrared spectral (IR-LD) analysis of codeine and its derivatives / B. Koleva, T. Kolev, R. Bakalska // Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. – 2007. – Vol. 67(1). – P. 196–201.
104. Koleva, B. B. Determination of cephalosporins in solid binary mixtures by polarized IR- and Raman spectroscopy / B. B. Koleva, T. M. Kolev, M. Spiteller // Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. – 2008. – Vol. 48(1). – P. 201–204.
105. Koleva, B. B. Polymorphs of Aspirin – Solid-state IR-LD spectroscopic and quantitative determination in solid mixtures / B. B. Koleva // Journal of Molecular Structure. – 2006. – Vol. 800(1). – P. 23–27.
106. LabSolutions IR: Analytical Data System for FTIR. – Text : electronic // Shimadzu [website]. – URL: https://www.shimadzu.com/an/products/molecular-spectroscopy/ftir/ftir-spectroscopy-software/labsolutions-ir/index.html (date of access: 13.04.2026).
107. Larkin, P. J. Infrared and Raman Spectroscopy: Principles and Spectral Interpretation / P. J. Larkin. – Amsterdam : Elsevier, 2011. – 246 p.
108. Lawson, G. Quantitative screening of the pharmaceutical ingredient for the rapid identification of substandard and falsified medicines using reflectance infrared spectroscopy / G. Lawson, J. Ogwu, S. Tanna. – Text : electronic // PLoS One. – 2018. – Vol. 13(8). – e0202059. – URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30096202/ (date of access: 10.04.2026).
109. Lima, J. G. S. Green analytical method for quantification of secnidazole in tablets by Fourier-Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) / J. G. S. Lima, B. A. Marco, H. R. N. Salgado // Drug Analytical Research. – 2018. – Vol. 2. – P. 14–19.

110. Martens, H. Multivariate Linearity Transformation for Near-Infrared Reflectance Spectrometry / H. Martens, S. A. Jensen, P. Geladi // Proceedings of the Nordic Symposium on Applied Statistics / edited by O. H. J. Christie. – Stavanger : Stokkand Forlag, 1983. – P. 208–234.
111. Mayerhöfer, T. G. Beer's Law–why absorbance depends (almost) linearly on concentration / T. G. Mayerhöfer, J. Popp // Chem. Phys. Chem. – 2019. – Vol. 20(4). – P. 511–515.
112. Miller, J. Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry / J. Miller, J. C. Miller. – 7th ed. – Harlow : Pearson Education, 2018. – 312 p.
113. Moreno, A. H. Development and validation of the quantitative analysis of ceftazidime in powder for injection by infrared spectroscopy / A. H. Moreno, H. R. N. Salgado // Physical Chemistry. – 2012. – Vol. 2. – P. 6–11.
114. Multicomponent spectrometric analysis of drugs and their preparations / I. Ahmad, M. A. Sheraz, S. Ahmed [et al.] // Profiles of Drug Substances, Excipients, and Related Methodology / edited by H. G. Brittain. – Cambridge, MA : Academic Press, 2019. – Vol. 44. – P. 379–413.
115. Nascimento, P. A. A green and sustainable method by infrared for quantitative determination of sodium cephalothin / P. A. Nascimento, A. C. Kogawa, H. R. N. Salgado // Austin Journal of Analytical and Pharmaceutical Chemistry. – 2019. – Vol. 6. – P. 1–5.
116. Nascimento, P. A. A new and ecological method to quantify vancomycin in pharmaceutical product by infrared spectrometry / P. A. Nascimento, A. C. Kogawa, H. R. N. Salgado // Acta Chimica Slovenica. – 2021. – Vol. 68. – P. 313–319.
117. Nasereddin, J. Ira: a free and open-source Fourier transform infrared (FTIR) data analysis widget for pharmaceutical applications / J. Nasereddin, M. Shakib // Analytical Letters. – 2023. – Vol. 56(16). – P. 2637–2649.
118. Natori, J. S. H. Development and validation of a green analytical method for determination of norfloxacin in raw material by Fourier-Transform Infrared Spectrophotometry (FT-IR) / J. S. H. Natori, E. G. Tótoli, H. R. N. Salgado // Journal of AOAC International. – 2016. – Vol. 99. – P. 1533–1536.

119. Non-Destructive Analysis of Chlorpheniramine Maleate Tablets and Granules by Chemometrics-Assisted Attenuated Total Reflectance Infrared Spectroscopy / C. Phechkrajang, P. Khongkaew, S. Nuchtavorn [et al.]. – Text : electronic // Molecules. – 2022. – Vol. 27(12). – 3760. – URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35744885/ (date of access: 10.04.2026).
120. Novel approach for the determination of azithromycin in pharmaceutical formulations by Fourier transform infrared spectroscopy in film-through transmission mode / N. F. Robaina, C. E. R. de Paula, D. M. Brum [et al.] // Microchemical Journal. – 2013. – Vol. 110. – P. 301–307.
121. Novel FT-IR spectroscopic method for the quantitation of atenolol in bulk and tablet formulations / G. K. Eri, M. Naik, Y. Padma [et al.] // Journal of Global Trends in Pharmaceutical Sciences. – 2014. – Vol. 5(3). – P. 1750–1755.
122. Ogwu, J. E. Forensic Pharmaceutical Analysis of Counterfeit Medicines: PhD thesis / J. E. Ogwu. – Leicester : De Montfort University, 2018. – 278 p.
123. Optimization and Improvement of Infrared Spectral Analysis Steps: Methods and Practices. – Text : electronic // MtoZ Biolabs : [website]. – URL: https://www.mtoz-biolabs.com/optimization-and-improvement-of-infrared-spectral-analysis-steps-methods-and-practices.html (date of access: 14.04.2026).
124. OPUS Vibrational spectroscopy software. – Text : electronic // BRUKER : [website]. – URL: https://www.bruker.com/ru/products-and-solutions/infrared-and-raman/opus-spectroscopy-software.html (date of access: 10.04.2026).
125. Partial Least Squares-Discriminant Analysis Classification for Patchouli Oil Adulteration Detection by Fourier Transform Infrared Spectroscopy in Combination with Chemometrics / E. Sufriadi, H. Meilina, R. Idroes [et al.] // ACS Omega. – 2023. – Vol. 8(13). – P. 12348–12361.
126. Partial least squares-least squares-support vector machine modeling of ATR-IR as a spectrophotometric method for detection and determination of iron in pharmaceutical formulations / E. Parhizkar, H. Saeedzadeh, F. Ahmadi [et al.] // Iranian Journal of Pharmaceutical Research. – 2019. – Vol. 18(1). – P. 72–79.

127. Pedroso, T. M. Green alternative using infrared spectroscopy as an efficient and stable analytical method for quantifying ertapenem sodium / T. M. Pedroso, H. R. N. Salgado // Advances in Analytical and Pharmaceutical Chemistry. – 2018. – Vol. 2018. – P. 1–5.
128. Perspectives in the use of spectroscopy to characterize pharmaceutical solids / J. Aaltonen, K. C. Gordon, C. J. Strachan [et al.] // International Journal of Pharmaceutics. – 2008. – Vol. 364. – P. 159–169.
129. Potential of FTIR in Pharmaceutical Analysis: A Review / R. M. Doijad, S. V. Chavan, M. S. Charde [et al.] // International Journal of Novel Research and Development. – 2023. – Vol. 8, Issue 6. – P. e831–e842.
130. Practical Sampling Techniques for Infrared Analysis / ed. P. B. Coleman. – Boca Raton : CRC Press, 2020. – 316 p.
131. Prince, Bawuah. Advances in terahertz time-domain spectroscopy of pharmaceutical solids: A review / Prince Bawuah, J. Alex Zeitler. – Text : electronic // TrAC Trends in Analytical Chemistry. – 2021. – Vol. 139(40). – 116272. – URL: https://www.researchgate.net/publication/350199546_Advances_in_terahertz_time-domain_spectroscopy_of_pharmaceutical_solids_A_review (date of access: 10.04.2026).
132. Progress of independent component analysis and its recent application in spectroscopy quantitative analysis / Y. Li, M. Zhang, X. Bian [et al.]. – Text : electronic // Microchemical Journal. – 2024. – Vol. 202. – 110836. – URL: https://www.researchgate.net/publication/380776436 (date of access: 10.04.2026).
133. Quality control of Valerianae Radix by attenuated total reflection fourier transform infrared (ATR-FTIR) spectroscopy / R. Nikzad-Langerodi, K. Arth, V. Klatte-Asselmeyer [et al.] // Planta Medica. – 2018. – Vol. 84(6–7). – P. 442–448.
134. Quantitative Determination of Diosmin in Tablets by Infrared and Raman Spectroscopy / S. Pielorz, M. Węglińska, S. Mazurek [et al.]. – Text : electronic // Molecules. – 2022. – Vol. 27(23). – 8276. – URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36500369/ (date of access: 10.04.2026).

135. Rakesh, P. Quantitative analytical applications of FTIR spectroscopy in pharmaceutical and allied areas / P. Rakesh, P. Charmi // Journal of Advanced Pharmacy Education & Research. – 2014. – Vol. 4(2). – P. 145–157.
136. Rapid and non-invasive analysis of deoxynivalenol in durum and common wheat by Fourier-Transform Near Infrared (FT-NIR) spectroscopy / A. De Girolamo, V. Lippolis, E. Nordkvist [et al.] // Food Additives and Contaminants. – 2009. – Vol. 26(6). – P. 907–917.
137. Rebouças, C. T. A new green method for the quantitative analysis of enrofloxacin by Fourier-Transform infrared spectroscopy / C. T. Rebouças, A. C. Kogawa, H. R. N. Salgado // Journal of AOAC International. – 2018. – Vol. 101(6). – P. 2001–2005.
138. Recent applications of near infrared to pharmaceutical process monitoring and quality control / C. Zhang, Y. Liu, Z. Tang [et al.] // Analytical Sciences. – 2025. – Vol. 41(7). – P. 955–965.
139. Recent applications of quantitative analytical FTIR spectroscopy in pharmaceutical, biomedical, and clinical fields: A brief review / K. M. Fahelelbom, A. Saleh, M. M. A. Al-Tabakha [et al.] // Reviews in Analytical Chemistry. – 2022. – Vol. 41(1). – P. 21–33.
140. Rechelo, B. S. Quantitative analysis of cefazolin sodium in lyophilized powder by infrared spectrophotometry: Green, low cost, fast and effective / B. S. Rechelo, A. C. Kogawa, H. R. N. Salgado // Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. – 2019. – Vol. 208. – P. 157–161.
141. Reed, I. Spectral Data Preprocessing: A Foundational Guide for Robust Analysis in Biomedical Research and Drug Development / I. Reed. – Text : electronic // Forensic Chemistry Explorer. – URL: https://www.forensicchem.com/posts/spectral-data-preprocessing-a-foundational-guide-for-robust-analysis-in-biomedical-research-and-drug-development/ (date of publication: 28.11.2025).
142. Ridge regression: biased estimation for nonorthogonal problems / A. E. Hoerl, R. W. Kennard // Technometrics. – 1970. – Vol. 12(1). – P. 55–67.

143. Rodrigues, D. F. Development and validation of an eco-friendly and low-cost method for the quantification of cefepime hydrochloride in powder for injectable solution using infrared (IR) spectroscopy / D. F. Rodrigues, H. R. N. Salgado // Current Analytical Chemistry. – 2020. – Vol. 16. – P. 456–464.
144. Rohman, A. FTIR spectroscopy combined with partial least square for analysis of red fruit oil in ternary mixture system / A. Rohman, D. L. Setyaningrum, S. Riyanto. – Text : electronic // International Journal of Spectroscopy. – 2014. – Vol. 2014. – 785914. – URL: https://www.academia.edu/52050616/ (date of access: 10.04.2026).
145. Savitzky, A. Smoothing and Differentiation of Data by Simplified Least Squares Procedures / A. Savitzky, M. J. E. Golay // Analytical Chemistry. – 1964. – Vol. 36(8). – P. 1627–1639.
146. Shen, Y. C. Terahertz pulsed spectroscopy and imaging for pharmaceutical applications: A review / Y. C. Shen // International Journal of Pharmaceutics. – 2011. – Vol. 417(1-2). – P. 48–60.
147. Sibik, J. Direct measurement of molecular mobility and crystallisation of amorphous pharmaceuticals using terahertz spectroscopy / J. Sibik, J. A. Zeitler // Advanced Drug Delivery Reviews. – 2016. – Vol. 100. – P. 147–157.
148. Silverstein, R. M. Spectrometric Identification of Organic Compounds / R. M. Silverstein, F. K. Webster, D. J. Kiemle. – 7th ed. – Rio de Janeiro : LTC, 2007. – 512 p.
149. Simultaneous Analysis of Isoniazid and Pyridoxine Hydrochloride in Tablet Dosage Form Using Partial Least Squares Based on Infrared Spectra Profile / L. R. Nasution, S. E. Flavia, Y. Metripermata [et al.] // International Journal of Applied Pharmaceutics. – 2025. – Vol. 17(2). – P. 449–455.
150. Simultaneous determination of paracetamol, guaiphenesin and chlorpheniramine maleate using ultraviolet spectroscopy in combination with multivariate calibration / A. Rohman, Y. Ardiyanti, S. Sudjadi [et al.] // Journal of Medical Sciences. – 2015. – Vol. 15(5). – P. 221–228.

151. Simultaneous Spectrophotometric Determination of Piroxicam, Naproxen, Diclofenac Sodium and Mefenamic Acid in Pharmaceutical Formulations by Partial Least Squares Method / R. M. Mahmood, S. A. Darweesh, N. A. Alassaf [et al.] // Methods and Objects of Chemical Analysis. – 2024. – Vol. 19(2). – P. 101–110.
152. Spectral unmixing via minimum volume simplices: Application to near infrared spectra of counterfeit tablets / M. B. Lopes, J. M. Bioucas-Dias, M. A. T. Figueiredo [et al.] // 1st Workshop on Hyperspectral Image and Signal Processing: Evolution in Remote Sensing (WHISPERS 2009). – Grenoble, France : IEEE, 2009. – P. 1–4.
153. StandardScaler. – Text : electronic // Scikit–learn: machine learning in Python : [website]. – URL: https://scikit-learn.org/stable/modules/generated/sklearn.preprocessing.StandardScaler.html (date of access: 10.04.2026).
154. Support Vector Regression Machines / H. Drucker, C. J. C. Burges, L. Kaufman [et al.] // Advances in Neural Information Processing Systems 9 : proceedings of the 1996 conference, Denver, CO, USA, December 2–5, 1996 / edited by M. C. Mozer, M. I. Jordan, T. Petsche. – Cambridge, MA : MIT Press, 1997. – P. 155–161.
155. Tarigan, R. E. Fourier Transform Infrared Spectrophotometry-Partial Least Square for Simultaneous Quantification of Paracetamol, Guaifenesin, Phenylpropanolamine, and Chlorpeniramine Maleate in Tablet / R. E. Tarigan, M. Sukma, L. R. Nasution // Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development. – 2025. – Vol. 13(4). – P. 1–5.
156. Taylor, T. Choosing the Correct Sample Preparation Technique / T. Taylor. – Text : electronic // LCGC North America. – 2015. – Vol. 33(5). – URL: https://www.chromatographyonline.com/view/choosing-correct-sample-preparation-technique (date of access: 10.04.2026).
157. Terahertz pulsed spectroscopy and imaging in the pharmaceutical setting—a review / J. A. Zeitler, P. F. Taday, D. A. Newnham [et al.] // Journal of Pharmacy and Pharmacology. – 2007. – Vol. 59(2). – P. 209–223.

158. The Application of FTIR Spectroscopy and Chemometrics for the Authentication Analysis of Horse Milk / M. F. Arifah, Irnawati, Ruslin [et al.]. – Text : electronic // International Journal of Food Science. – 2022. – Vol. 2022. – 7643959. – URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35242875/ (date of access: 10.04.2026).
159. The potential synergistic activity of zolmitriptan combined in new self-nanoemulsifying drug delivery systems: ATR-FTIR real-time fast dissolution monitoring and pharmacodynamic assessment / S. M. Abd El-Halim, M. A. Mamdouh, S. M. Eid [et al.] // International Journal of Nanomedicine. – 2021. – Vol. 16. – P. 6395–6412.
160. Tibshirani, R. Regression Shrinkage and Selection via the Lasso / R. Tibshirani // Journal of the Royal Statistical Society. Series B (Methodological). – 1996. – Vol. 58(1). – P. 267–288.
161. Tótoli, E. G. Development and validation of the quantitative analysis of ampicillin sodium in powder for injection by Fourier-transform infrared spectroscopy (FT-IR) / E. G. Tótoli, H. R. N. Salgado // Physical Chemistry. – 2012. – Vol. 2(6). – P. 103–108.
162. Tótoli, E. G. Fourier-Transform infrared (FTIR) spectrophotometry: An ecofriendly method for the analysis of injectable daptomycin / E. G. Tótoli, H. R. N. Salgado // Journal of AOAC International. – 2017. – Vol. 100(5). – P. 1569–1576.
163. Transmission FTIR derivative spectroscopy for estimation of furosemide in raw material and tablet dosage form / M. Gallignani, R. A. Rondón, J. F. Ovalles [et al.] // Acta Pharmaceutica Sinica B. – 2014. – Vol. 4(5). – P. 376–383.
164. Trindade, M. T. Development and validation of a modern and stability-indicating method for the quantification of ceftriaxone sodium in powder for injection by infrared spectroscopy / M. T. Trindade, H. R. N. Salgado // Physical Chemistry. – 2017. – Vol. 7. – P. 55–62.

165. Unveiling the transformative power of near-infrared spectroscopy in biomedical and pharmaceutical analysis: Trends, advancements, and applications / J. Kos, D. Pavelek, M. Kaykhaii [et al.]. – Text : electronic // European Journal of Pharmaceutical Sciences. – 2025. – Vol. 212. – 107175. – URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/40555299/ (date of access: 10.04.2026).
166. Using Fourier transform IR spectroscopy to analyze biological materials / M. J. Baker, J. Trevisan, P. Bassan [et al.] // Nature Protocols. – 2014. – Vol. 9(8). – P. 1771–1791.
167. Using FTIR Spectroscopy to Streamline Pharmaceutical Formulation Processes. – Text : electronic // AZoM : [website]. – URL: https://www.azom.com/article.aspx?ArticleID=24704 (date of publication: 15.10.2025).
168. Utilization of green ATR-FTIR spectroscopic method for quantitative analysis of Ibuprofen tablets / K. M. S.Fahelelbom, A. Saleh, R. Mansour [et al.] // Pharmacia. – 2023. – Vol. 70(4). – P. 999–1004.
169. Validation of a stability indicating capillary electrophoresis method for the determination of darunavir in tablets and comparison with the of infrared absorption spectroscopic method / A. C. Kogawa, F. A. Aguiar, C. M. Gaitani [et al.] // World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. – 2014. – Vol. 3. – P. 283–297.
170. Vibrational Spectroscopy Fingerprinting in Medicine: from Molecular to Clinical Practice / V. Balan, C. T. Mihai, F. D. Cojocaru [et al.]. – Text : electronic // Materials. – 2019. – Vol. 12(18). – 2884. – URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31489927/ (date of access: 10.04.2026).
171. Vieira, D. C. M. Development and validation of the quantitative analysis of cefuroxime sodium in powder for injection by infrared spectroscopy / D. C. M. Vieira, P. C. Ricarte, H. R. N. Salgado // Advances in Analytical Chemistry. – 2012. – Vol. 2. – P. 80–87.
172. Wartewig, S. Pharmaceutical applications of Mid-IR and Raman spectroscopy / S. Wartewig, R. H. Neubert // Advanced Drug Delivery Reviews. – 2005. – Vol. 57. – P. 1144–1170.

173. Weston, F. S. Identification of a pharmaceutical tablet's origin using FT Near-IR and Principal Component Analysis: application note / F. S. Weston – Text : electronic // Labrulez : [website]. – URL: https://gcms.labrulez.com/paper/22311 (date of access: 18.04.2026).
174. Wold, S. PLS-regression: a basic tool of chemometrics / S. Wold, M. Sjöström, L. Eriksson // Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems. – 2001. – Vol. 58(2). – P. 109–130.
175. Yan, C. A review on spectral data preprocessing techniques for machine learning and quantitative analysis / C. Yan. – Text : electronic // iScience. – 2025. – Vol. 28(7). – 112759. – URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/ 40606754/ (date of access: 10.04.2026).
176. Zou, H. Regularization and variable selection via the elastic net / H. Zou, T. Hastie // Journal of the Royal Statistical Society. Series B: Statistical Methodology. – 2005. – Vol. 67(2). – P. 301–320.

ПРИЛОЖЕНИЕ 1

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



СВИДЕТЕЛЬСТВО

о государственной регистрации программы для ЭВМ

№ 2025697371

«Spectral Model Analyzer»

Правообладатель: ***Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (RU)***

Авторы: ***Маркин Дмитрий Николаевич (RU), Воронин Александр Васильевич (RU), Карпов Александр Вячеславович (RU), Жданов Дмитрий Александрович (RU)***



Заявка № **2025696355**

Дата поступления **11 декабря 2025 г.**

Дата государственной регистрации в Реестре программ для ЭВМ ***24 декабря 2025 г.***

Руководитель Федеральной службы по интеллектуальной собственности

ДОКУМЕНТ ПОДПИСАН ЭЛЕКТРОННОЙ ПОДПИСЬЮ
Сертификат 00a570e4f7add8d531b4b8818e75f29506
Владелец **Зубов Юрий Сергеевич**
Действителен с 04.09.2025 по 28.11.2026

Ю.С. Зубов

ПРИЛОЖЕНИЕ 2

Кафедра химии Института фармации СамГМУ

МЕТОДИКА КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ В ТАБЛЕТИРОВАННЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМАХ МЕТОДОМ ИК-ФУРЬЕ-СПЕКТРОМЕТРИИ

Самара, 2026

1. Область назначения методики

Настоящий документ устанавливает методику количественного определения лекарственных веществ в таблетках, таблеточных смесях для прессования таблеток в технологическом производственном цикле методом ИК-Фурье-спектрометрии в режиме нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО).

2. Пробоотбор

Отбор проб должен предусматривать предотвращение загрязнения лекарственных средств и материалов, из которых отбираются пробы, самих отбираемых проб, а также других лекарственных средств, материалов и окружающей среды.

Если подлинность однородной продукции – упаковочных единиц таблеток достоверна, то для расчета количества отбираемых упаковочных единиц следует использовать формулу:

$$N = 1 + \sqrt{n}.$$

Полученное в результате подсчета по формуле дробное число округляют в сторону увеличения или уменьшения до целого числа. Если упаковочных единиц 4 и менее, то отбираются все единицы.

Отбор проб таблеточных смесей при внутрипроизводственном процессе должен учитывать критические стадии производства лекарственных средств и включать установленные контрольные точки отбора проб (емкости, места отбора и т.п.).

Проба таблеточной смеси должна представлять собой объединенные точечные пробы, взятые в количестве 0,1 г., смешанные и, при необходимости, уменьшенные до массы образца, необходимой для испытания продукции на соответствие требованиям количественного содержания лекарственных веществ.

Если пробы таблеточной смеси однородны, то их объединяют, тщательно перемешивая, на чистой сухой поверхности или в подходящей емкости для получения объединенной пробы.

3. Пробоподготовка

Отобранные пробы таблеток в количестве 10 единиц измельчают в агатовой ступке до получения однородной массы, затем из этой массы отбирают навеску 0,1 г и измельчают ее в течение 2-5 мин.

Отобранные пробы таблеточных смесей в количестве 0,1 г измельчают в агатовой ступке в течение 2-5 мин.

Для полученных образцов контролируют измельченность в соответствии с ОФС.1.4.2.0032 «Ситовой анализ». Просеивание проводят через аналитические сита методом механического встряхивания с горизонтально-круговым движением частиц в течение 5 мин. Измельченность проб должна составлять 180±10 мкм.

Для образцов контролируют влажность путем определения потери в массе при высушивании по методике из ОФС.1.2.1.0010 «Потеря в массе при высушивании» (способ 1). Потеря в массе при высушивании образцов должна составлять не более предела установленного экспериментально для каждого вида таблеток.

4. Условия измерений

ИК-спектры регистрируют на ИК-Фурье-спектрометре в режиме НПВО. Условия регистрации сигнала: режим нарушенного полного внутреннего отражения; диапазон волновых чисел – 4000-650 $см^{-1}$; оптическое разрешение – 4 $см^{-1}$; усиление сигнала (gain) – 222; количество сканов образца (sample scans) – 100; количество сканов фона (background scans) – 10. Для каждой пробы исследуемых образцов регистрируют спектры в трех повторностях для исключения влияния неоднородности порошковой пробы.

Необходимо контролировать время «пробоподготовка-регистрация», с целью предотвращения влияния внешней среды на исследуемые пробы.

Проводят параллельное измерение для двух проб каждого из исследуемых образцов

5. Градуировочная зависимость

Для каждого из градуировочных образцов регистрируют ИК-спектры в трех повторностях. Полученные данные загружают в компьютерную программу «Spectral Model Analyzer» для построения градуировочной зависимости с применением метода частичных наименьших квадратов.

Градуировочная зависимость выражается обратным уравнением множественной линейной регрессии, т.е. уравнением зависимости содержания (концентрации) вещества – аргумента от зависимых переменных – латентных переменных (компонент):

$$C = a_1 \cdot X_1 \pm \ldots \pm a_n \cdot X_n + b,$$

где C – содержание анализируемого вещества, %(масс.);

$X_1, \ldots, X_n$ – латентные переменные (компоненты метода частичных наименьших квадратов);

Коэффициенты a перед $X_1, \ldots, X_n$ – коэффициенты регрессии, показывающие взаимосвязь каждой из зависимых переменных (параметров ИК-спектра) с аргументом (содержанием лекарственного вещества);

b – свободный член уравнения (систематическое смещение математической (градуировочной) модели).

В качестве критерия самотестирования математической модели и корректировки количества градуировочных образцов применяют коэффициент детерминации r^2 между фактическими и предсказанными содержаниями лекарственных веществ в градуировочных образцах. Значение коэффициента детерминации r^2 должно быть не менее 0,99.

6. Приготовление градуировочных образцов

Приготовление градуировочных осуществляют массовым методом; измерения массы проводили на аналитических весах 2 класса точности.

Для получения градуировочных образцов использованы образцы соответствующих фармацевтических субстанций и смеси, воспроизводящие состав вспомогательных веществ в таблетках.

Фармацевтические субстанции и смеси вспомогательных веществ смешивают в агатовой ступке до однородного порошка в рассчитанных соотношениях (по массе). Диапазон содержаний (концентраций) анализируемых лекарственных веществ в образцах составляет от 0,00%-100,00% (масс.).

Общее количество градуировочных образцов (градуировочных точек) для анализируемого вещества должно подбираться экспериментальным путем по результатам самотестирования соответствующей математической модели. Среднее количество градуировочных образцов, как правило, составляет не менее 30.

При этом в области номинального содержания лекарственных веществ в таблетках корректируют количество градуировочных образцов.

7. Контроль стабильности градуировочной зависимости

Средствами контроля градуировочной зависимости являются контрольные образцы, приготовленные аналогично градуировочным образцам (не менее 5 образцов). Содержание лекарственных веществ в контрольных образцах должно быть на трех уровнях: 0% (масс.) – «холостая» проба; содержание около номинального содержания в соответствующих таблетках/таблеточной массе; 100% (масс.) – соответствующая фармацевтическая субстанция.

Градуировочную зависимость считают стабильной при выполнении для каждого контрольного образца следующего условия:

$$\left| X - C \right| \leq 1{,}96 \cdot S,$$

где X – результат измерения содержания лекарственного вещества в контрольном образце, %(масс.);

C – принятое опорное значение содержания лекарственного вещества в контрольном образце, %(масс.);

S – стандартное отклонение внутрилабораторной прецизионности, установленное при реализации аналитической методики в лаборатории.

8. Приготовление контрольных образцов

Приготовление контрольных образцов осуществляется аналогичным образом приготовлению градуировочных образцов.

Примечание. Приготовление градуировочных и контрольных образцов осуществляется в отдельных сериях.

9. Обработка результатов измерений

Расчет содержания лекарственных веществ в таблетках, образцах таблеточной массы осуществляют по уравнению градуировочной зависимости и выражают в массовых процентах (% (масс.)).

Расхождение результатов анализа параллельных измерений двух проб не должно превышать предела сходимости $2,77 \cdot S$, где S – стандартное отклонение повторяемости, установленное при реализации аналитической методики в лаборатории. Результат – содержание лекарственного вещества в таблеточной массе представляется как среднее арифметическое содержаний в двух пробах.

ПРИЛОЖЕНИЕ 3

УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
ООО «Лекарь»

_____ Д.Ю. Бобров

«__» _____ 2026 г.

Акт внедрения

Наименование предложения: Методики количественного определения лекарственных веществ методом ИК-Фурье-спектрометрии в режиме НПВО с использованием компьютерной программы «Spectral Model Analyzer».

Кем предложено, адрес исполнителя: Д.Н. Маркиным, очным аспирантом кафедры химии Института фармации ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России, 443099, г. Самара, ул. Чапаевская, 89.

Место внедрения: ООО «Самарская фармацевтическая фабрика», 446112, Самарская область, г. Чапаевск, ул. 1-ая Монтажная, д. 12а, офис 5.

Результаты внедрения: Разработанные автором методики количественного ИК-спектрометрического определения кислоты ацетилсалициловой, кофеин-бензоата натрия и папаверина гидрохлорида в таблетированных лекарственных формах (с применением компьютерной программы «Spectral Model Analyzer») требуют применения ИК-Фурье-спектрометров. В ходе валидации методик были получены показатели правильности и прецизионности, соответствующие критериям приемлемости в контроле качества лекарственных средств. Преимуществом предложенных методик является возможность сочетания идентификации и количественного определения лекарственных веществ в одном аналитическом цикле.

Начальник ООК
ООО «Лекарь» **Л.М. Барсукова**

«26» 03 2026 г.

ПРИЛОЖЕНИЕ 4

УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
ООО «Самарская фармацевтическая фабрика»

_____ М.С. Глебов

«25» 03 2026 г.

Акт внедрения

Наименование предложения: Методики количественного определения лекарственных веществ методом ИК-Фурье-спектрометрии в режиме НПВО с использованием компьютерной программы «Spectral Model Analyzer».

Кем предложено, адрес исполнителя: Д.Н. Маркиным, очным аспирантом кафедры химии Института фармации ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России, 443099, г. Самара, ул. Чапаевская, 89.

Место внедрения: ООО «Самарская фармацевтическая фабрика», 446112, Самарская область, г. Чапаевск, ул. 1-ая Монтажная, д. 12а, офис 5.

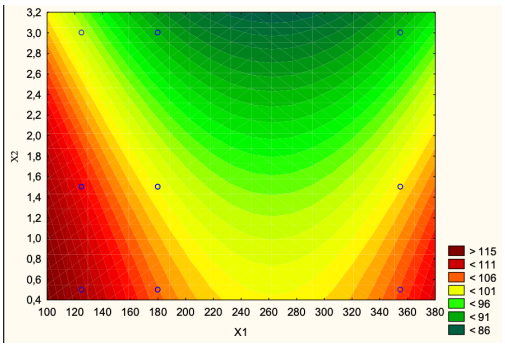
Результаты внедрения: Разработанные автором методики количественного ИК-спектрометрического определения кислоты ацетилсалициловой, кофеин-бензоата натрия и папаверина гидрохлорида в таблетированных лекарственных формах (с применением компьютерной программы «Spectral Model Analyzer») требуют применения ИК-Фурье-спектрометров. В ходе валидации методик были получены показатели правильности и прецизионности, соответствующие критериям приемлемости в контроле качества лекарственных средств. Преимуществом предложенных методик является возможность сочетания идентификации и количественного определения лекарственных веществ в одном аналитическом цикле.

Главный технолог
ООО «Самарская фармацевтическая фабрика» **Д.С. Зуев**

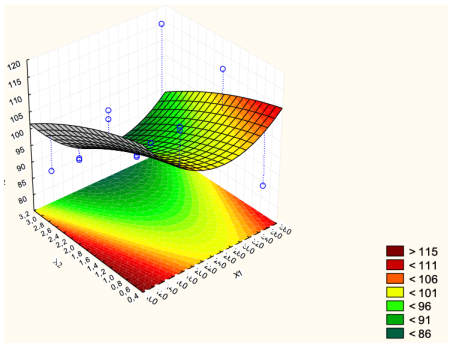
«25» 03 2026 г.

ПРИЛОЖЕНИЕ 5

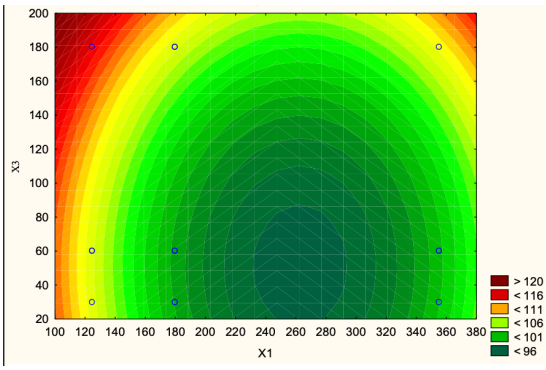
Поверхности отклика и контурные диаграмм зависимости показателя «Открываемость» от параметров пробоподготовки для таблеток «Ацетилсалициловая кислота» и таблеток «Папаверина гидрохлорид»



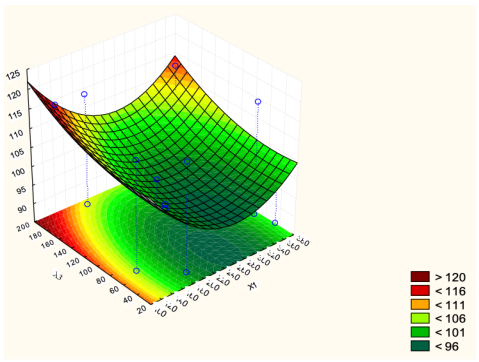
а



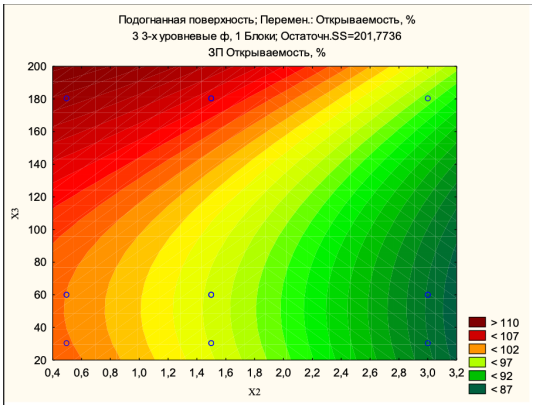
б



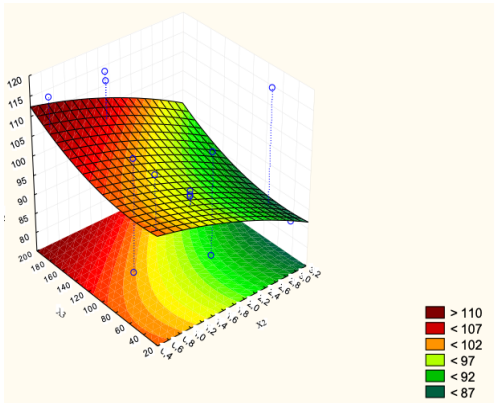
в



г

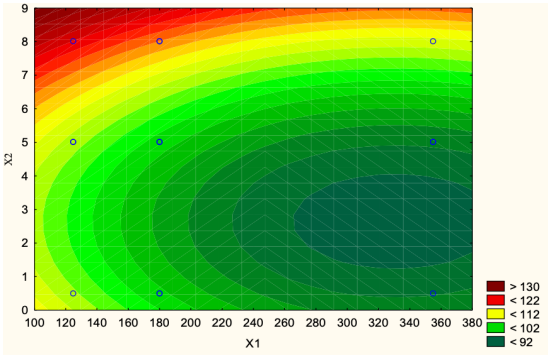


д

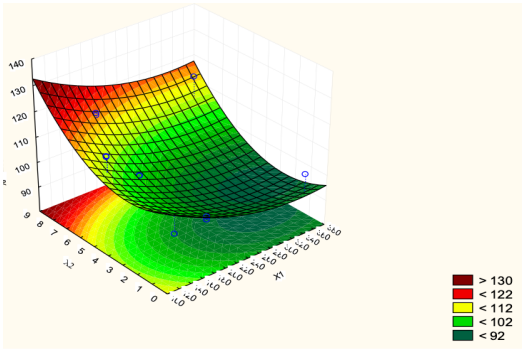


е

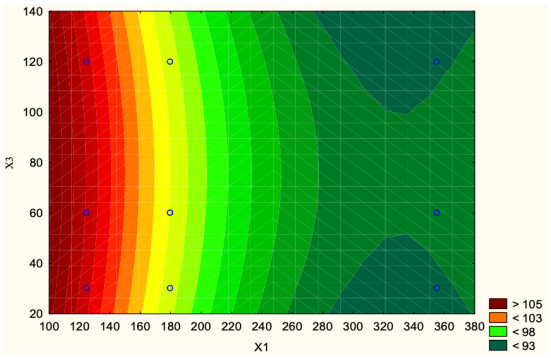
Рисунок 4.6 – Контурные диаграммы (а, в, д) и поверхности отклика (б, г, е) зависимости значения «Открываемость», % от значимых факторов X_1, X_2, X_3 для таблеток «Ацетилсалициловая кислота»



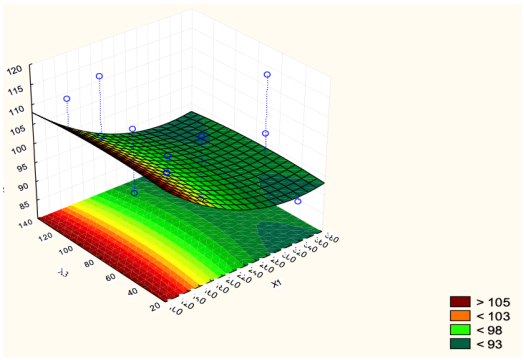
а



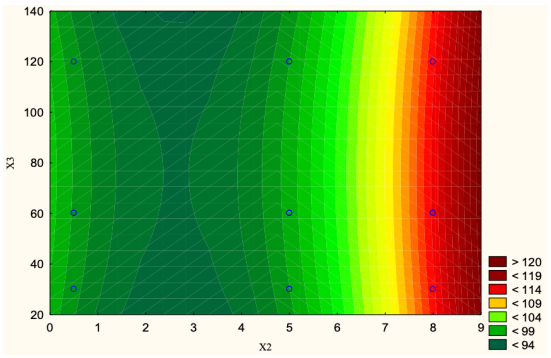
б



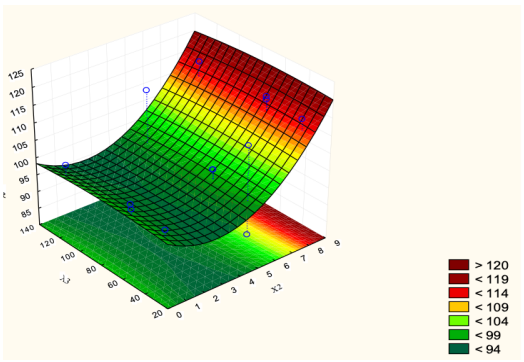
в



г



д



е

Рисунок 4.8 – Контурные диаграммы (а, в, д) и поверхности отклика (б, г, е) зависимости значения «Открываемость», % от значимых факторов X_1, X_2, X_3 для таблеток «Папаверина гидрохлорид»