

На правах рукописи

Чапленко Александр Андреевич

**ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДЕЙСТВУЮЩИХ
ВЕЩЕСТВ В ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВАХ
МЕТОДОМ ЦИФРОВОЙ ЦВЕТОМЕТРИИ**

14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

Москва – 2019

Диссертационная работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова».

Научный руководитель:

кандидат химических наук, доцент

Моногарова Оксана Викторовна

Официальные оппоненты:

Прокопов Алексей Александрович – доктор химических наук, доцент, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, стоматологический факультет, заведующий кафедрой общей и биоорганической химии.

Рудакова Людмила Васильевна – доктор химических наук, доцент, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации, фармацевтический факультет, заведующий кафедрой фармацевтической химии и фармацевтической технологии.

Ведущая организация:

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова (Сеченовский Университет) Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита диссертации состоится «___» _____ 2020 г. в ___ часов на заседании Диссертационного Совета ПДС 0300.001 на базе Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов» по фармацевтическим наукам по адресу: 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 8.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» по адресу: 117198, ул. Миклухо-Маклая, д.6 и на сайте <http://dissovet.rudn.ru>.

Автореферат разослан «__» _____ 2019 г.

Ученый секретарь

Диссертационного Совета **ПДС 0300.001**

доктор фармацевтических наук, профессор

Успенская Елена Валерьевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

АКТУАЛЬНОСТЬ ТЕМЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Несмотря на постоянное совершенствование современных физико-химических инструментальных методов анализа лекарств, доля фальсифицированных или недоброкачественных лекарственных препаратов растет, особенно в развивающихся странах. Одной из причин этой проблемы является недостаток финансов в системе здравоохранения для оснащения контрольных лабораторий современным оборудованием и повышения квалификации специалистов регуляторных органов. Возможным решением является проведение выборочного контроля качества лекарственных средств (ЛС) с использованием доступных тест-методов анализа.

Таким образом, разработка технически простых и недорогих способов определения состава ЛС является одной из приоритетных задач современной фармацевтической химии. Особый интерес представляют подходы, сочетающие доступность химических тест-методов с визуальным детектированием и хорошие метрологические характеристики инструментальных методов, прежде всего, оптической молекулярной спектрометрии. Предельно низкая стоимость анализа с использованием таких химико-инструментальных подходов обусловлена измерением аналитического сигнала с помощью бытовых цифровых оптических устройств, не сертифицированных в качестве средств измерения (фотокамеры смартфона, офисного сканера и т.п.). Метод, основанный на определении количественных характеристик цвета и установлении их взаимосвязи с содержанием определяемых веществ в анализируемых объектах, получил название цифровой цветометрии. Разработка новых методик анализа различных объектов методом цифровой цветометрии является актуальным направлением химии: ежегодно публикуются данные о нескольких тысячах исследований, посвященных оценке химического состава объектов с использованием цифрового изображения окрашенного образца. В нашей стране исследованиями в области цветометрии в химическом анализе занимались такие известные учёные, как В. М. Иванов, С. Г. Дмитриенко, В. В. Апяри, Т. Ф. Рудометкина, Л. В. Рудакова и О. В. Байдичева и другие. Основное направление исследований – полевой анализ природных объектов и отходов промышленности, отдельные работы посвящены цветометрическому анализу строительных материалов и биологически активных веществ.

Ключевыми преимуществами метода цифровой цветометрии являются невысокая стоимость, экспрессность, отсутствие необходимости высокой квалификации оператора, а также возможность электронной документации первичных данных и их обработки с помощью хемометрических алгоритмов. При этом, в отличие от визуальной колориметрии, цифровая цветометрия исключает субъективность оценки цвета оператором, позволяет проводить полноценный количественный анализ.

Улучшение метрологических характеристик методики для их соответствия требованиям Государственной Фармакопеи и нормативно-правовых актов может быть достигнуто как с помощью усовершенствования способа измерения аналитического сигнала, так и путем использования новых методов обработки массива получаемых цветометрических данных. Использование обоих подходов актуально при разработке цветометрических способов идентификации и определения действующих веществ в ЛС.

СТЕПЕНЬ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

К настоящему времени в литературе описано значительное число цифровых цветометрических методик оценки химического состава различных объектов, чаще всего в формате полевого анализа природных/сточных вод, биологических жидкостей и продуктов питания. В анализе лекарственных препаратов, фармацевтических субстанций и лекарственного растительного сырья цифровая цветометрия используется относительно меньше. Применяемые в фармации методики предложены для оценки белизны порошков и таблеток, цветности растворов, а также для характеристики интегрального показателя подлинности лекарственного растительного сырья.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Целью настоящего исследования является разработка эффективных, экспрессных, технически простых и доступных способов идентификации и определения действующих веществ в ЛС методом цифровой цветометрии. Для достижения поставленной цели необходимо решить следующие задачи:

1. Разработать и проверить эффективность устройства на основе офисного планшетного сканера со слайд-адаптером для анализа ЛС различными методами оптической молекулярной спектроскопии.

2. Сформулировать принципы выбора условий измерения аналитического сигнала при анализе лекарственных препаратов методом цифровой цветометрии с использованием планшетного офисного сканера и цифрового фотоаппарата с дополнительными источниками освещения и устройствами стабилизации условий съемки.
3. Разработать способы одновременной идентификации ЛС различных фармакологических групп методом мультисенсорной цифровой цветометрии.
4. Разработать методики количественного и полуколичественного анализа лекарственных препаратов методом мультисенсорной цветометрии с применением хемометрических алгоритмов обработки получаемых данных.

НАУЧНАЯ НОВИЗНА

1. Разработан прототип нового анализатора на основе офисного планшетного сканера со слайд-адаптером для определения химического состава лекарственных средств методами цветометрии, фотометрии, флуориметрии и нефелометрии.
2. Предложен оригинальный подход к одновременному скрининговому анализу препаратов различных фармакологических групп методом мультисенсорной цифровой цветометрии. Необходимая селективность скрининга обеспечивается одновременным использованием большого числа неселективных химических сенсоров с последующей дискретизацией аналитического сигнала.
3. Предложено использование одномерного «штрих-кода» для идентификации и двумерного кода – для определения действующих веществ в лекарственных препаратах. Эффективность разработанных подходов подтверждена при проверке подлинности более 40 ЛС.

ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ И ПРАКТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

Разработаны теоретические подходы к оценке качества ЛС методом цифровой цветометрии. Обоснована применимость разработанных подходов с учетом отечественных и международных требований к фармакопейным методам анализа.

Предложенные универсальные способы идентификации действующих веществ возможно применить для оценки подлинности ЛС, содержащих практически любые низкомолекулярные соединения.

Комбинированные способы цифрового анализа ЛС отличаются высокой экспрессностью, низкой стоимостью и могут быть реализованы в полевых лабораториях, осуществляющих выборочный контроль качества лекарственных препаратов.

ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ, ВЫНОСИМЫЕ НА ЗАЩИТУ

1. Прототип анализатора на основе офисного планшетного сканера со слайд-адаптером для определения химического состава ЛС четырьмя методами оптической молекулярной спектроскопии. Аналитические возможности разработанного прототипа оптического молекулярного анализатора продемонстрированы на примере определения рибофлавина в инъекционном растворе, ацетилсалициловой кислоты и гидроксида магния лекарственном препарате *Кардиомагнил®*.
2. Цифровые цветометрические методики оценки подлинности ЛС, для которых доказана возможность идентификации 44 различных действующих веществ.
3. Новый оригинальный подход для оценки подлинности более 40 лекарственных препаратов (нестероидные анальгетики и противовоспалительные препараты, β -адреноблокаторы, секретолитики, фторхинолоны, метаболические стимуляторы и др.) методом цифровой колориметрии с использованием офисного планшетного сканера.
4. Способ компьютерной обработки растрового изображения и дискретизация мультисенсорного сигнала, позволяющий получить уникальный штрих-код, подходящий для идентификации и определения действующих веществ в ЛС.
5. Методика цифрового мультисенсорного анализа препаратов хлорамфеникол, троксерутин, дидрогестерон и адеметионин с использованием метода главных компонент.

МЕТОДОЛОГИЯ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Методология исследования заключалась в изучении литературных данных по теме, оценке её актуальности и степени разработанности, постановке соответствующих целей и задач по разработке методик цветометрического анализа ЛС, обработке полученных данных, формулировании выводов на основе результатов и определении практической значимости результатов работы. Статистическую обработку полученных экспериментальных данных осуществляли в соответствии с требованиями ГОСТ Р ИСО 5725-1-02, ГОСТ Р ИСО 5725-3-2002, ГФ РФ ОФС.1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик» с применением программного обеспечения STATISTICA 6.1 (Statsoft,

Россия), «MS Office Excel 2010» (Microsoft, США) с надстройкой «Chemometrics Add-In».

ДОСТОВЕРНОСТЬ НАУЧНЫХ ПОЛОЖЕНИЙ И ВЫВОДОВ

Степень достоверности обеспечивалась применением современного химико-аналитического оборудования с использованием аттестованных стандартных образцов ЛС ведущих мировых Фармакопей (USP, EP). На момент проведения измерений все серийно выпускаемое оборудование имело свидетельство о периодической поверке.

АПРОБАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Основные положения работы и результаты исследования доложены и обсуждены на следующих конференциях, симпозиумах и конгрессах: I Всероссийской конференции с международным участием «Химический анализ и медицина», 9-12 ноября 2015 года, Москва, Россия; Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов-2016», МГУ имени М.В. Ломоносова, 11-15 апреля 2016, Москва, Россия; XXIV Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых "Ломоносов – 2017", МГУ имени М.В.Ломоносова, 20 апреля 2017, Москва, Россия; Третьем съезде аналитиков России, 8-13 октября 2017г., Научно-методический центр (НМЦ) профсоюза работников АПК, г. Московский, Россия; XXV Международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых "Ломоносов-2018". Секция "Инновации в химии: достижения и перспективы"; XXVI Международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых "Ломоносов-2019". Секция "Химия".

Апробация диссертации состоялась 11 сентября 2019 г. на заседании кафедры аналитической химии химического факультета федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова».

ЛИЧНЫЙ ВКЛАД АВТОРА

В экспериментальную часть диссертационной работы положены исследования, проведенные непосредственно автором в период с 2014 по 2019 гг. Экспериментальные результаты получены, обработаны и представлены автором лично.

ВНЕДРЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Разработанные в результате проведенной работы методики внедрены в практическую деятельность Испытательного центра экспертизы качества ЛС ФГБУ НЦЭСМП Минздрава РФ, используются в химико-технологической лаборатории опытно-технологического отдела ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В. В. Закусова», а также в работе ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В. Н. Ореховича».

СООТВЕТСТВИЕ ДИССЕРТАЦИИ ПАСПОРТУ НАУЧНОЙ СПЕЦИАЛЬНОСТИ

Диссертационная работа является прикладным исследованием для решения задач фармацевтического анализа. Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия (фармацевтические науки). Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, конкретно пунктам 2 и 3 паспорта специальности:

2) формулирование и развитие принципов стандартизации и установление нормативов качества, обеспечивающих терапевтическую активность и безопасность лекарственных средств;

3) разработка новых, совершенствование, унификация и валидация существующих методов контроля качества лекарственных средств на этапах их разработки, производства и потребления.

ОБЪЕМ И СТРУКТУРА ДИССЕРТАЦИИ

Диссертация изложена на 153 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, общих выводов и списка литературы (162 источника). Диссертация включает 28 таблиц и 41 рисунок.

ПУБЛИКАЦИИ

По материалам диссертации опубликованы 7 статей (в том числе 6 – в периодических изданиях, рекомендованных ВАК РФ для опубликования научных трудов, из которых 2 статьи – в зарубежных высокорейтинговых журналах) и 9 тезисов докладов.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

ОБОРУДОВАНИЕ И ОБЪЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оборудование

Данные настоящей диссертационной работы получены с использованием следующего лабораторного вспомогательного и аналитического оборудования: дозаторов механических одноканальных и восьмиканальных с варьируемым объемом дозирования (с использованием нестерильных наконечников без фильтра) производства Eppendorf (Германия), перемешивающего устройства для кювет и планшетов MixMate (Eppendorf, Германия), pH метра SevenCompact S220 (Mettler-Toledo, Швейцария), мешалки магнитной с подогревом IKA RCT basic (IKA, Германия), спектрофотометра U-2900 (Hitachi, Япония), спектрофлуориметра FP-8200 (Jasco, Япония) и микропланшетного ридера CLARIOstar (BMG Labtech, Германия). Оптический спектральный и цифровой цветометрический анализ образцов проводили в кюветах стеклянных, кварцевых и полипропиленовых для спектрофотометрии, а также в прозрачных планшетах из полипропилена с плоским дном на 96 ячеек. Для создания адаптеров и приставок к сканеру и фотокамере использовали тефлоновые кассеты для кювет клиновидной формы, стеклянные и пленочные абсорбционные светофильтры для ФЭК-56М и листы гофрокартона.

Наряду со стандартным лабораторным аналитическим и вспомогательным оборудованием использовали бытовые цветорегистрирующие приборы – сканеры HP LaserJet M1120 MFP (Hewlett-Packard, США), Epson Perfection 1670 (Epson, Япония), цифровые фотоаппараты – Canon EOS 750D kit (Canon, США), Sony DSC-RX100 II (Sony, Япония), Lumix DMC-G7 (Panasonic, Япония), смартфон iPhone X (Apple, США).

Объекты исследования

Фармацевтические субстанции тетрациклина, рибофлавина, ацетилсалициловой кислоты, парацетамола, мельдония дигидрата, карведилола, бромгексина, офлоксацина, лидокаина, ибупрофена, амоксициллина тригидрата, диосмина, бензилдиметил [3-(миристоиламино) пропил]аммоний хлорида моногидрата, полиметилсилоксана полигидрата, дидрогестерона, нимесулида, адеметионина, имидазолилэтанамид пентандиовой кислоты, фабомотизола, троксерутина, 3-гидрокси-6-метил-2-этилпиридина сукцината, нафтифина гидрохлорида, хлорамфеникола, клопидогрела гидросульфата, аторвастатина кальция тригидрата, глицина, пароксетина гидрохлорида

гемигидрата, триамцинолона, дипиридамола, алендроната натрия, гидроксизина гидрохлорида, тимолола малеата, прегабалина, месалазина, ацеклофенака, левокарнитина, спиронолактона, омепразола, бетагистина и ивабрадина.

Лекарственные препараты: «*Оспамокс*» (Амоксициллин); *Троксерутин*; «*Флемоксин Солютаб*» (Амоксициллин); *Бромгексин*; «*Гептрал*» (Адеметионин); *Глицин*; *Диосмин*; «*Дюфастон*» (Дидрогестерон); «*Неболин капс*» (Ибупрофен); «*Аторис*» (Аторвастатин); *Левомецетин*; «*Мовалис*» (Мелоксикам); «*Амелотекс*» (Мелоксикам); «*Артрозан*» (Мелоксикам); «*Ксефокам*» (Лорноксикам); «*Тексаред*» (Теноксикам).

Для оценки правильности разрабатываемых методик использовали фармакопейные стандартные образцы дидрогестерона (стандарт Европейской Фармакопеи, EP CRS Y0001004), адеметионина дисульфата тозилата (стандарт Фармакопеи США, USP CRS 1012134), троксерутина (стандарт Европейской Фармакопеи, EP CRS Y0000497), хлорамфеникола (стандарт Европейской Фармакопеи EP CRS C1200000).

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БЫТОВЫХ ЦВЕТОРЕГИСТРИРУЮЩИХ УСТРОЙСТВ В АНАЛИЗЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

При использовании в качестве средств измерения несертифицированного оборудования – цифровых оптических гаджетов (смартфонов, фотокамер и других устройств, укомплектованных светочувствительным датчиком) – для проведения химического анализа необходимо учитывать весьма посредственные характеристики результатов измерений. Низкая чувствительность и селективность, высокая погрешность, узкий диапазон линейности градуировочной зависимости существенно ограничивают возможности химического анализа. Использование приставок, стандартизирующих условия получения аналитического сигнала, может существенно улучшить метрологические характеристики результатов измерения и расширить аналитические возможности указанных устройств.

Современные цифровые оптические гаджеты объединяют в одном корпусе светочувствительный датчик (детектор), три абсорбционных светофильтра (рудиментарный полихроматор), микроконтроллер, а также, в ряде случаев, систему освещения и регистрирующее устройство. Описанная схема идеальна для построения нерегистрирующего фотоколориметра начального уровня (всего три цветовых канала!), позволяющего регистрировать достаточно интенсивные потоки первичного излучения, взаимодействующего с пробой. К сожалению, отсутствие серьезной аппаратной системы усиления сигнала и эффективного подавления шумов ограничивает возможность детек-

тирования слабых потоков вторичного излучения, испущенного аналитом. Перечисленные причины обуславливают преимущественное использование гаджетов для цветометрического анализа. При этом, согласно литературным данным, наиболее востребованными являются цифровые камеры и смартфоны, к числу преимуществ которых следует отнести компактность, мобильность и, главное, возможность получения результата без применения стационарного компьютера или ноутбука.

Цветометрический анализ препаратов группы оксикамов с использованием цифровой фотокамеры

В качестве объектов анализа были выбраны современные широко востребованные препараты группы оксикамов – мелоксикам, теноксикам, лорноксикам. На первом этапе проводили щелочной гидролиз неокрашенных препаратов, молекулы продуктов содержат первичную ароматическую аминогруппу (рис. 1). На втором этапе проводят реакцию взаимодействия полученных продуктов со специфическим реагентом для образования окрашенных соединений. Среди большого числа реагентов на первичную ароматическую аминогруппу можно выделить 7-хлор-4-нитробензо-2-окси-1,3-диазол (НБД-хлорид). НБД-хлорид реагирует с первичными ароматическими аминами по механизму нуклеофильного замещения.

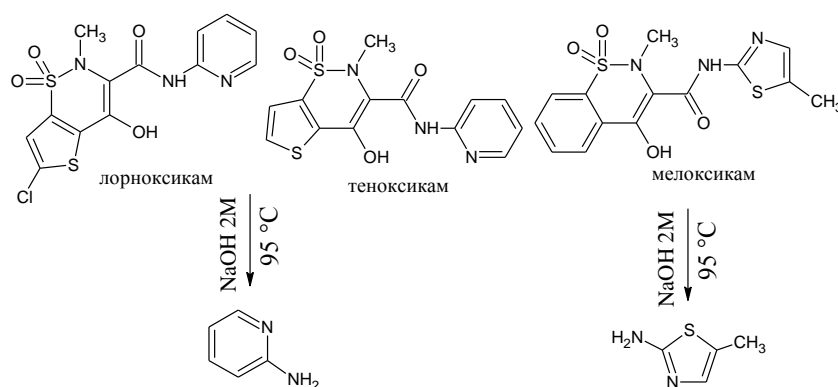


Рисунок 1. Реакции щелочного гидролиза лекарственных препаратов группы оксикамов

Продукты щелочного гидролиза (2-аминопиридин (2-АП), 2-амино-5-метилтиазол (2-АМТ)) реагируют с НБД-хлоридом с образованием соединения желто-коричневого цвета (рис. 2). Таким образом, реакцию взаимодействия гидролизата оксикамов с НБД-хлоридом можно использовать для цветометрического определения примеси продуктов разложения оксикамов в лекарственных препаратах, определения действующих веществ, а также для оценки стабильности препаратов оксикамов.

Для проведения анализа готовили серию градуировочных (с использованием стандартных образцов субстанций оксикамов) и анализируемых растворов препаратов. После проведения аналитической реакции окрашенные растворы помещали в стандартные полипропиленовые кюветы для спектрофотометрии. При получении цифровых изображений образца важно стандартизировать условия съемки, поэтому кюветы помещали в кубический фотобокс из гофрокартона с встроенными источниками освещения – галогеновыми лампами. Положение кюветы и ламп было зафиксировано.

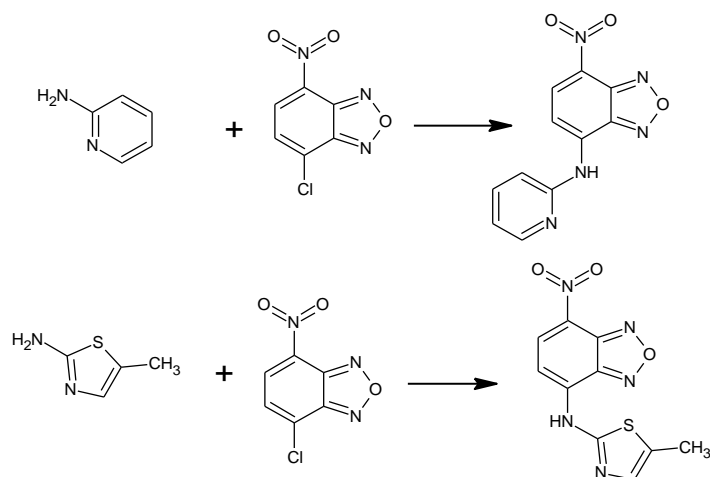


Рисунок 2. Реакции взаимодействия НБД-хлорида с продуктами щелочного гидролиза оксикамов

В качестве аналитического сигнала использовали усредненное значение светлоты *R*-канала изображения окрашенной области кюветы. Метрологические характеристики методики представлены в табл. 1.

Таблица 1. Метрологические характеристики методики цветометрического определения оксикамов

Вещество	Диапазон линейности градуировочной зависимости, мкг/мл	r^2	$s_r (c = 3 \text{ мкг/мл})$
Лорноксикам	1 – 12	0,9882	0,24
Теноксикам	1 – 16	0,9916	0,21
Мелоксикам	0,5 – 6,2	0,9864	0,18

Невысокая воспроизводимость результатов анализа и достаточно узкий диапазон линейности градуировочной зависимости позволяет проводить лишь первичный скрининг качества лекарств. Предложенный способ был апробирован для оценки качества лекарственных препаратов оксикамов (табл. 2).

Таким образом, использование для цветометрического анализа цифровой фотокамеры, даже при условии применения специальных устройств стабилизации освещения изображения, как правило, не позволяет достичь достаточной для количественного анализа воспроизводимости результатов определения ЛС.

Таблица 2. Результаты цветометрического анализа препаратов оксикамов

Лекарственный препарат	Содержание действующего вещества в % от заявленного, определенное (n = 5; P = 0,95)	
	методом цифровой цветометрии	согласно методике нормативной документации
<i>Ксефокам®</i> (Лорноксикам)	88 ± 18	98,0 ± 1,4
<i>Тексамен®</i> (Теноксикам)	111 ± 20	101,1 ± 1,9
<i>Мовалис®</i> (Мелоксикам)	83 ± 19	100,8 ± 1,1

Возможной альтернативой цифровой фотокамере в качестве источника цифрового изображения образца является офисный планшетный сканер. По совокупности характеристик – размеры, форм-фактор, возможность выбора условий измерений, обеспечения их стабильности (фиксированное расположение источника освещения, автоматический баланс белого, отсутствие встроенных алгоритмов улучшения изображения, постоянство фокусного расстояния и других фотографических параметров), сочетания с дополнительными вспомогательными устройствами – для использования в химическом анализе наиболее удобен офисный планшетный фотосканер со слайд-адаптером.

Цветометрическое и фотометрическое определение салициловой кислоты с использованием планшетного сканера со слайд-адаптером, оборудованного дополнительными приставками

Поскольку размер анализируемой пробы существенно больше размера отдельных диодов ПЗС-матрицы сканера, пространственное варьирование условий формирования аналитического сигнала в широких пределах позволяет извлечь больший объем информации за один акт измерения. Последующая математическая обработка полученного массива данных может быть использована для выбора оптимальных условий измерения сигнала и улучшения метрологических характеристик результатов анализа.

Для реализации подхода к варьированию условий формирования цифрового изображения было предложено с одной стороны, помещать в слайд-адаптер сканера одновременно несколько кювет с образцами, содержащих различные концентрации

аналита, с другой – варьировать толщину окрашенного раствора. С данной целью разработана приставка из тефлона, снабженная отверстиями под стандартные кюветы для фотометрии. Каждая кювета закрывается клинообразным тефлоновым вкладышем, позволяющим варьировать толщину поглощающего слоя. Блок-схема разработанной системы представлена на рис. 3а.

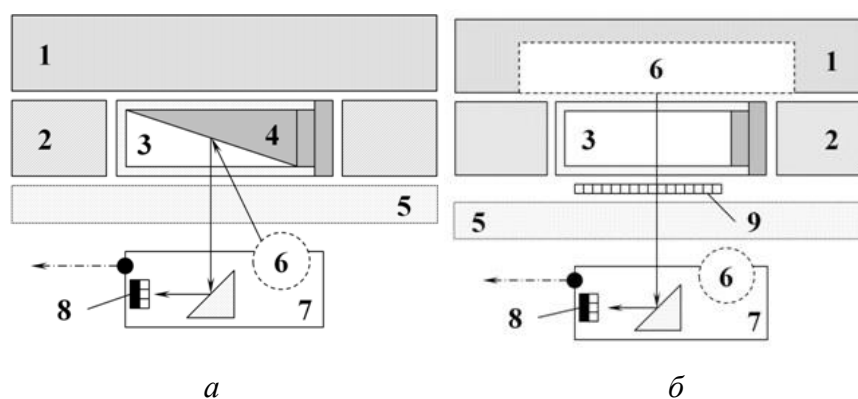


Рисунок 3. Блок-схема приставок к планшетному сканеру для цветиметрического (а) и фотометрического (б) анализа: 1 – крышка сканера, 2 – тефлоновая кассета, 3 – кювета для фотометрии, 4 – клинообразный вкладыш, 5 – стеклянный стол сканера, 6 – лампа, 7 – каретка сканера, 8 – ПЗС-матрица, 9 – универсальный плёночный светофильтр

Приставка позволяет получить изображения нескольких кювет за один проход каретки, исключает паразитные засветки ПЗС-матрицы, обеспечивает постоянную позицию каждой кюветы на стеклянном столе сканера и удобство последующего снятия информации о светлоте выбранного канала с одних и тех же участков разных кювет.

Офисный планшетный сканер, укомплектованный приставкой для цветиметрического анализа, можно рассматривать в качестве нерегистрирующего фотоколориметра, если рассматривать выделяемые цветные каналы – R , G и B как светофильтры. Малое число светофильтров (3 вместо 9, например, у ФЭК-56М) ограничивает круг решаемых аналитических задач. В настоящей работе для проведения фотометрического анализа предложено использовать приставку с дополнительными абсорбционными светофильтрами, помещаемыми между кюветами в тефлоновой кассете и стеклянным столом сканера. Одновременно в кассету можно поместить по две стандартные кюветы ($l = 10$ мм) с фотометрируемыми растворами и раствором сравнения (рис. 4б).

Для проверки эффективности предложенных технических решений была выбрана реакция взаимодействия салициловой кислоты с ионами железа(III). Условия определения салициловой кислоты подбирали экспериментально при выполнении спектро-

фотометрического анализа. Раствор фотометрировали относительно воды на длине волны 525 нм и строили градуировочную зависимость.

Далее методику воспроизводили при выполнении фотометрического и цветометрического анализа. В фотометрическом определении использовали «сэндвич» из 10 пленочных фильтров на 530 нм.

Для проведения цветометрического анализа получали градиентные изображения (рис. 4) и измеряли сигнал на нескольких толщинах.

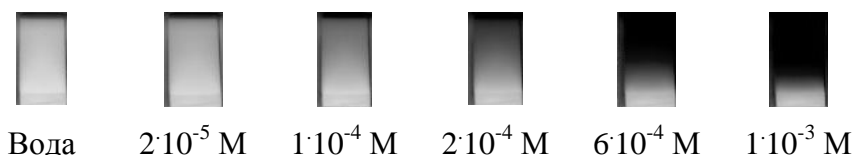


Рисунок 4. Цветометрический ряд градиентных изображений растворов комплекса салициловой кислоты в различных концентрациях с избытком ионов железа(III)

В качестве аналитического сигнала выбрали величины эффективного поглощения по зеленому каналу (L_G^0/L_G – светлота зелёного канала для раствора сравнения/анализируемого раствора) и эффективной яркости (L_Y^0/L_Y – яркость ($0,299 \times R + 0,587 \times G + 0,114 \times B$) для раствора сравнения/анализируемого раствора), поскольку полоса пропускания данного фильтра, соответствует области поглощения салициловой кислоты. Метрологические характеристики определения салициловой кислоты различными методами представлены в табл. 3. Наименьшие пределы обнаружения и соответственно пределы определения достигаются в случае спектрофотометрического и цветометрического (на толщине поглощающего слоя 16 мм) определения.

Таким образом, метрологические характеристики результатов цветометрического определения почти не уступают таковым для результатов фотометрического определения с помощью двухлучевого регистрирующего спектрофотометра Hitachi U-2900. Результаты определения ацетилсалициловой кислоты после гидролиза в лекарственном препарате *Кардиомагнил*® разными методами отличаются незначимо (табл. 4).

Таблица 3. Метрологические характеристики результатов определения салициловой кислоты в водных растворах по реакции с ионами железа(III) различными методами (n = 3, P = 0,95)

Метод	Уравнение	Диапазон линейности, М·10 ⁶	c _{min} , М·10 ⁶	2·s _{r min} , (с, М·10 ⁶)
Спектрофотометрический (525 нм)	$A = (1580 \pm 30) \times c$	10 – 2000	3	0,022 (400)
Фотометрический (530 нм)	$\lg(L_Y^0/L_Y) = (750 \pm 20) \times c$	80 – 1000	20	0,026 (400)
Цветометрический (4 мм)	$\lg(L_G^0/L_G) = (630 \pm 20) \times c$	26 – 600	8	0,025 (200)
Цветометрический (8 мм)	$\lg(L_G^0/L_G) = (1500 \pm 20) \times c$	15 – 300	4	0,023 (100)
Цветометрический (16 мм)	$\lg(L_G^0/L_G) = (2850 \pm 130) \times c$	8,2 – 160	2	0,018 (100)

Таблица 4. Результаты цветометрического и фотометрического определения аспирина в препарате Кардиомагнил®

Содержание ацетилсалициловой кислоты, мг/табл. (n = 3, P = 0,95)	
Номинальное содержание	75 ± 4
Цветометрия (сканер, l = 8 мм)	70 ± 5
Фотометрия (сканер)	73 ± 7
Спектрофотометрия (Hitachi U-2900)	71 ± 3

Флуориметрическое определение рибофлавина и нефелометрическое определение сульфата магния с использованием планшетного сканера со слайд-адаптером, оборудованного дополнительными приставками

Для проведения флуориметрического анализа в качестве источника возбуждения было предложено использовать фиолетовый лазер (длина волны 405 нм). Для монохроматизации вторичного излучения люминофора в видимом диапазоне длин волн использованы линейные светофильтры с варьируемой полосой пропускания, полученные техникой струйной печати на прозрачных полимерных плёнках толщиной 100 мкм, с шириной полосы пропускания порядка 70 нм и протяжённостью 40 мм, аналогичные тем,

что использовались для фотометрического анализа. Схемы получаемых установок представлены на рис. 5.

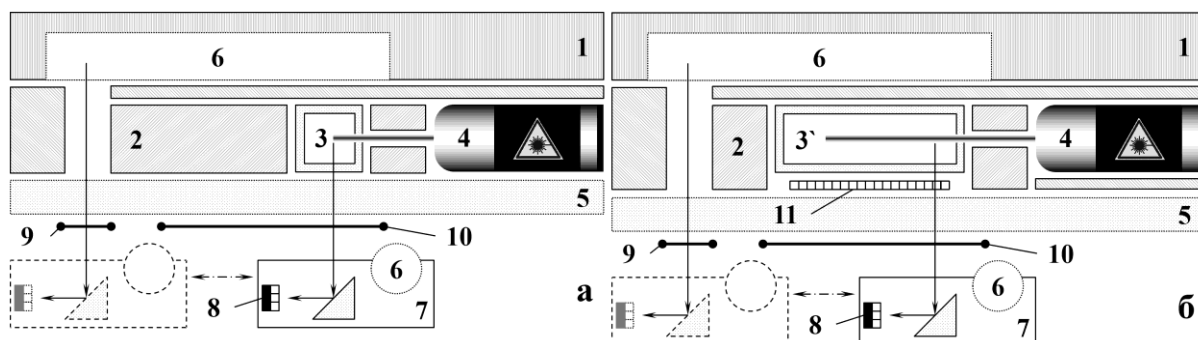


Рисунок 5. Блок-схема приставки к планшетному сканеру для проведения флуориметрического анализа (а – режим измерения интегрального сигнала вторичного или рассеянного первичного излучения; б – режим измерения спектра флуоресценции): 1 – крышка сканера, 2 – тефлоновая кассета, 3 – кювета для спектрофлуориметра ($l = 10$ мм), 3' – кювета для КФК ($l = 50$ мм), 4 – фиолетовый лазер, 5 – стеклянный стол сканера, 6 – лампа, 7 – каретка сканера, 8 – ПЗС-матрица, 9 – зона настройки чувствительности ПЗС-матрицы, 10 – зона измерения сигнала, 11 – линейный светофильтр

Для проверки эффективности предложенного технического решения воспроизвели методику флуориметрического определения рибофлавина. Для этого серию растворов рибофлавина сканировали в режиме «на просвет». Получали растровые изображения. В качестве аналитического сигнала использовали осевое значение светлоты зеленого канала на расстоянии 2 мм от стенки кюветы на оси луча и на периферии. Метрологические характеристики определения рибофлавина приведены в табл. 5.

Таблица 5. Метрологические характеристики результатов определения рибофлавина ($n = 3, P = 0,95$)

Измерение сигнала на	Уравнение градуировочной зависимости	Диапазон линейности, мкг/мл	c_{\min} , мкг/мл	s_{Γ} (c , мкг/мл)
оси	$L_G = (19,7 \pm 1,9) \times c + (60 \pm 11)$	1 – 10	0,3	0,01 (5)
периферии	$L_G = (2,45 \pm 0,12) \times c + (94 \pm 5)$	10 – 60	3	0,01 (20)

Эффективность предложенного технического решения апробирована при определении рибофлавина в инъекционном растворе. Полученные значения содержания рибофлавина соответствуют заявленным производителем.

Для проведения нефелометрического анализа использовали систему аналогичную той, что была предложена для измерения интенсивности флуоресценции образца. Для проверки эффективности предложенного технического решения была выбрана реакция взаимодействия сульфата магния с гидроксидом натрия. В качестве аналитического сигнала использовали осевое значение светлоты синего канала на расстоянии 5 мм от стенки кюветы (табл. 6).

Таблица 6. Метрологические характеристики результатов определения магния в виде гидроксида (n = 3, P = 0,95)

Уравнение градуировочной зависимости	Диапазон линейности, г/л	c_{\min} , г/л	s_T ($c = 0,64$ г/л)
$L_B = (210 \pm 6) \times c + (130 \pm 5)$	0,16 – 1,28	0,05	0,012

Эффективность предложенного технического решения апробирована при определении гидроксида магния в препарате *Кардиомагнил*®. Результаты нефелометрического определения хорошо согласуются с данными производителя, а также отличаются высокой воспроизводимостью.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МУЛЬТИСЕНСОРНОЙ ЦИФРОВОЙ ЦВЕТОМЕТРИИ ПРИ АНАЛИЗЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Перспективным направлением развития цветометрического анализа является использование нескольких реакций аналита с веществами, способными изменять окраску при химическом или физико-химическом взаимодействии, содержащими хромофорные группы. Для таких соединений возможно использовать термин «оптические молекулярные сенсоры»/«молекулярные сенсоры»/«сенсоры», предложенный ранее для краун-эфиров, изменяющих свою окраску при взаимодействии с катионами щелочных металлов.

Оценка подлинности ЛС методом мультисенсорной цветометрии

Оценку подлинности лекарственных препаратов предложено проводить, анализируя изменение окраски при взаимодействии анализируемого раствора с растворами каждого из 8 сенсоров универсального набора – соединений, ранее используемые авторами для мультисенсорной идентификации биологически активных веществ, дополненные реагентами цветных реакций, используемых в фармации: этанол (C_1); антрахиноновый зеленый (C_2); 3-метилбензотиазолинонгидразон (C_3); метилоранж (C_4); суль-

фородамин В (C₅); 1-гидроксипирен – (C₆); красный очаровательный АС (C₇); хлорид железа (III) (C₈) (рис. 6). Список составлен таким образом, чтобы цветометрические данные, получаемые при взаимодействии аналита с каждым из сенсоров, дополняли друг друга, представлены как индикаторы рН, так и сольватохромные молекулы, реагирующие на изменение диэлектрической проницаемости раствора аналита.

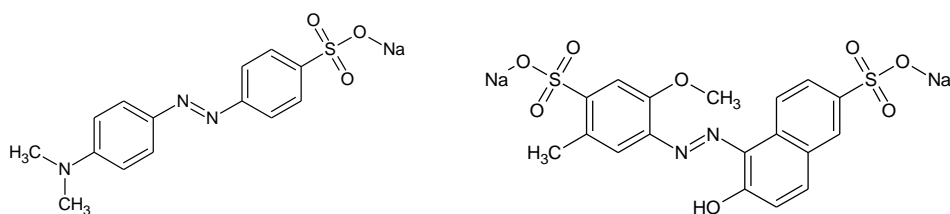


Рисунок 6. Примеры структур соединений, используемых в качестве сенсоров при анализе лекарственных препаратов

В качестве матрицы для проведения анализа был выбран стандартный прозрачный 96-луночный планшет, широко используемый в иммунологических и биохимических исследованиях. 8 рядов планшета последовательно заполняли растворами 8 сенсоров, затем во все столбцы планшета, кроме первого, вносили испытуемые растворы фармацевтических субстанций (первый столбец – контрольный, для сравнения интенсивности окраски). Затем планшет заклеивали прозрачной пленкой и сканировали на сканере Epson Perfection 1670 (рис. 7).

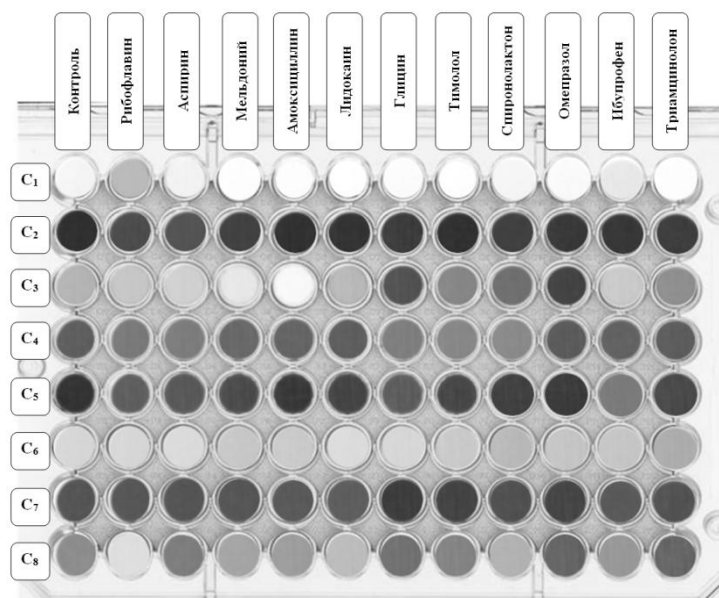


Рисунок 7. Пример скана планшета, полученного при мультисенсорном анализе

Формируемый массив цветометрических данных (разности светлот *R*, *G*, *B*-каналов до и после взаимодействия препарата и сенсора) позволяет уникальным обра-

зом идентифицировать каждое ЛС. Вместо непрерывной переменной, соответствующей разности светлот цветных каналов (которая изменяется в диапазоне от 0 до 255) предлагается использовать номинальное значение 0/1, где ноль соответствует не изменяющемуся от взаимодействия с лекарством цвету сенсора, 1 – изменению. Поскольку изменение окраски рассчитывают по каждому из цветных каналов (R , G , B), возможно не только учесть сам факт взаимодействия вещества и образца, но и то, как именно изменилась окраска (изменение светлоты каких цветных каналов привело к изменению окраски). Тогда для каждого вещества возможно сформировать код из 24 (3 канала×8 сенсоров) значений 1/0 (24-битный код), каждое из которых косвенно указывает на взаимодействие/не взаимодействие вещества с сенсором в каждом из цветных каналов. Эмпирически было показано, что уникальность получаемого кода достигается при пороговых значениях (1/0) в интервалах от 21 до 31 и от 34 до 43 единиц светлоты, наибольшая воспроизводимость – при значении, равном 27. Данное значение было выбрано для формирования библиотеки цветометрических «штрих-кодов» 40 фармацевтических субстанций (табл. 7).

Разработанный способ идентификации использовали для анализа ряда лекарственных препаратов, содержащих действующие вещества (соответствующие вышеописанным субстанциям) в различных лекарственных формах от различных производителей. Для всех проанализированных препаратов показана пригодность предложенной методики для экспрессной оценки подлинности (табл. 8).

Полуколичественный анализ ЛС методом мультисенсорной цветометрии

Метод мультисенсорной цифровой цветометрии с использованием «штрих-кодов» можно использовать для быстрого полуколичественного анализа лекарств. Преимуществом такого подхода является возможность экспресс-анализа препаратов для предварительного выявления подделок. Для каждой концентрации определяемого вещества может быть создан уникальный цветометрический код, который должен быть интерпретирован однозначно. Для разработки способа полуколичественного анализа приготовлена серия градуировочных растворов дидрогестерона, троксерутина и адеметионина в диапазоне концентраций, соответствующем реальным препаратам. Градуировочные растворы были проанализированы методом мультисенсорной цветометрии с использованием набора сенсоров (C_1 - C_8), описанных ранее. Полученные данные были обработаны в табличном редакторе MS Office Excel, выбрано оптимальное пороговое значение, сформированы двумерные штрих-коды (табл. 8).

Таблица 7. Результаты мультисенсорного анализа некоторых из проанализированных лекарственных средств (C₁-C₈ – сенсоры, 1 – чёрная заливка ячейки, изменение более 27 ед. светлоты, 0 – белая заливка ячейки, изменение менее 27 ед. светлоты).

Лекарственное вещество	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	C ₆	C ₇	C ₈
Амоксициллин	0	0	0	0	0	0	0	0
Аторвастатин	0	0	1	0	0	0	0	0
Бетагистин	0	0	1	1	0	0	0	0
Бромгексин	0	1	0	0	0	0	0	0
Клопидогрел	0	0	1	1	0	0	0	0
Дидрогестерон	0	1	0	0	0	0	0	0
Ибупрофен	0	0	0	0	0	0	0	0
Ивабрадин	0	1	0	0	0	0	0	0
Лидокаин	0	0	1	0	0	0	0	0
Нафтифин	0	1	0	0	0	0	0	0
Нимесулид	0	0	1	0	0	0	0	0
Офлоксацин	0	0	0	0	0	0	0	0
Омепразол	0	0	1	1	0	0	0	0
Парацетамол	0	0	0	0	0	0	0	0
Рибофлавин	1	1	0	0	0	0	0	0
Спиринолактон	0	0	0	0	0	0	0	0
Тимолол	0	0	1	0	0	0	0	0
Троксерутин	1	1	0	0	0	0	0	0

Полученный двумерный код содержит полную информацию как о природе, так и о приблизительном содержании активного вещества в препарате с минимальным уровнем информационного шума. Интерпретация двумерного кода для идентификации и определения веществ возможна как в визуальном, так и в «инструментальном» режиме, например, с помощью программного сканера «штрих-кода» на смартфоне после его предварительной настройки. Последний режим особенно полезен при обработке больших массивов данных для повышения достоверности полученных результатов анализа.

Таким образом, полуколичественный анализ лекарственных средств может быть упрощен до варианта сравнения кода испытуемого раствора с соответствующим кодом стандартного раствора с известной концентрацией.

Таблица 8. Двумерные «штрих-коды» для одновременного анализа дидрогестерона, троксерутина и адеметионина. C₁-C₈ – сенсоры. Тёмная заливка ячейки соответствует наличию сигнала, светлая – его отсутствию.

Действующее вещество, с, мг/мл	C ₁			C ₂			C ₃			C ₄			C ₅			C ₆			C ₇			C ₈		
	R	G	B	R	G	B	R	G	B	R	G	B	R	G	B	R	G	B	R	G	B	R	G	B
Дидрогестерон				■		■			■		■			■		■		■	■					
1,0																			■					
1,5				■															■					
2,0				■															■					
2,5				■						■								■	■					
3,0				■						■							■	■	■					
Троксерутин		■	■	■		■		■		■		■	■	■					■	■				
4																								
8										■														
12										■					■									
16										■					■				■					
20										■					■				■			■		
Адеметионин				■	■		■		■		■											■	■	
4															■									
8				■											■									
12				■			■		■						■									
16				■			■		■						■					■				
20				■	■		■		■						■					■				

Использование метода главных компонент для обработки данных мульти-сенсорной цифровой цветометрии

Для уменьшения влияния шумовой составляющей, а также для сокращения размерности данных целесообразна обработка массива цветометрических данных с применением хемометрических алгоритмов, например, метода анализа главных компонент (principal component analysis, PCA). С целью демонстрации преимуществ предложенного подхода были проведен PCA-анализ (алгоритм NIPALS) цветометрических данных трех препаратов из числа описанных ранее. Полученные цветометрические данные были обработаны методом PCA, получены матрицы счетов и нагрузок. На рис. 8 представлены значения PC1 и PC2 для всех образцов.

Ниже представлены формулы для расчета первой и второй главных компонент:

$$PC_1 = 0,67 \cdot \Delta R_1 + 0,54 \cdot \Delta G_1 + 0,15 \cdot \Delta B_1 + 0,25 \cdot \Delta R_2 + 0,24 \cdot \Delta G_2 + 0,24 \cdot \Delta B_2 + 0,12 \cdot \Delta R_3 + 0,15 \cdot \Delta G_3 + 0,14 \cdot \Delta B_3$$

$$PC_2 = 0,09 \cdot \Delta R_1 - 0,24 \cdot \Delta G_1 + 0,13 \cdot \Delta B_1 - 0,13 \cdot \Delta R_2 + 0,04 \cdot \Delta G_2 - 0,06 \cdot \Delta B_2 + 0,94 \cdot \Delta R_3 - 0,06 \cdot \Delta G_3 - 0,11 \cdot \Delta B_3$$

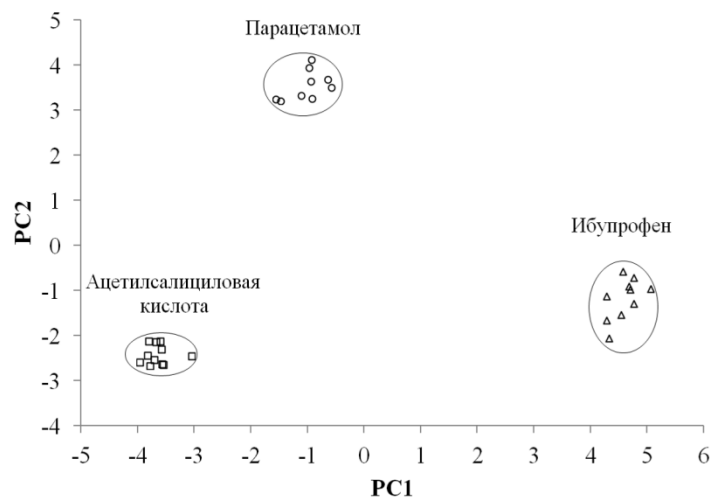


Рисунок 8. Результаты обработки цветометрических данных для образцов нестероидных противовоспалительных средств методом PCA NIPALS.

Наглядно представлена возможность идентификации препаратов по данным хемометрического анализа, образцы препаратов формируют непересекающиеся группы (кластеры). Регрессия на главные компоненты может быть использована и для количественного цветометрического анализа ЛС. Подход апробировали на примере капель глазных хлорамфеникола (левомицетина) 0,25%. В качестве обучающего набора использовали градуировочные растворы стандарта левомицетина. Установлено, что значение первой главной компоненты линейно коррелирует с содержанием действующего вещества в образце. Точность градуировки охарактеризована величинами среднеквадратичного остатка градуировки ($RMSEC = 3,364$) и проверки ($RMSEP = 3,690$), а также коэффициентом детерминации ($r^2 = 0,998$) (рис. 9).

Анализ главных компонент цветометрических данных может выявить образцы, качественный состав которых отличается от остальных, например, препараты с истекшим сроком годности. В качестве образцов, моделирующих неправильное хранение/нарушение сроков годности, предложены капли левомицетина после стресс-теста – нагревания до 95 °C в течение 5 минут. Для всего данных цветометрического анализа набора образцов проведен анализ главных компонент (рис. 10). Из полученных данных

следует, что вторая главная компонента (PC2) может быть использована для определения недоброкачественных образцов, содержащих, наряду с действующим веществом, продукты его деградации и/или технологические примеси.

Данная возможность предлагаемого подхода является важным преимуществом для его использования в анализе качества ЛС.

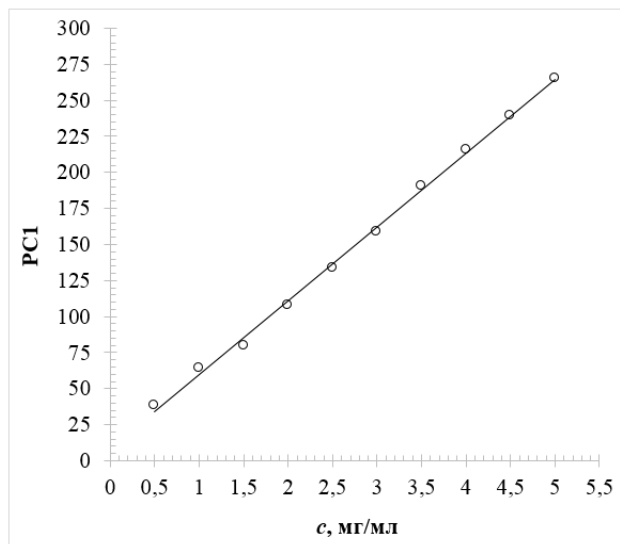


Рисунок 9. Градуировка образцов левомецитина методом регрессии на первую главную компоненту (PC1), построенная по данным цветометрического анализа

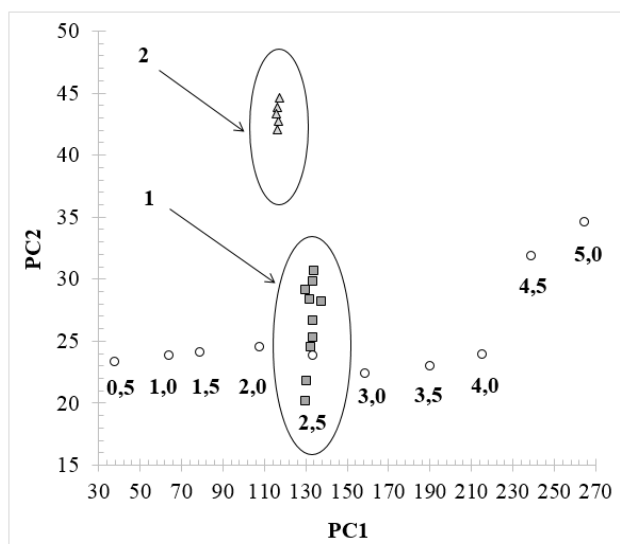


Рисунок 10. Результаты обработки цветометрических данных, полученных для градуировочных (с концентрацией 0,5 – 5,0 мг/мл) и анализируемых растворов левомецитина до (1) и после (2) «стресс-теста».

ОБЩИЕ ВЫВОДЫ

1. Разработаны способы анализа ЛС методом цифровой цветометрии с использованием фотокамеры и офисного планшетного сканера, соответствующие по метрологическим характеристикам фармакопейным критериям.
2. Создан прототип анализатора на основе офисного планшетного сканера со слайд-адаптером для определения химического состава лекарственных препаратов.
3. Предложен новый универсальный подход к скрининговому анализу ЛС методом цифровой цветометрии. Одновременное использование нескольких химических сенсоров в чипе обеспечивает достаточную селективность. Дискретизация мультисенсорного сигнала позволяет получить уникальный штрих-код, подходящий для идентификации и определения действующих веществ в препаратах. С использованием предложенного подхода проведена проверка подлинности более 40 лекарственных препаратов.
4. Предложен комбинированный способ анализа препаратов, основанный на хемометрической обработке данных, полученных методом мультисенсорной цифровой цветометрии. Разработанный подход позволяет проводить идентификацию и определение препаратов, а также экспрессно выявлять образцы, содержащие продукты деградации действующего вещества и/или технологические примеси.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Рекомендуется применение разработанных методик цветометрического анализа в выборочном контроле качества ЛС. Предложенный универсальный способ оценки подлинности может для некоторых препаратов заменить существующие цветные химические реакции, индивидуальные для каждого действующего вещества.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи:

1. Monogarova O. V., Chaplenko A. A., Oskolok K. V. Multisensory digital colorimetry to identify and determination of active substances in drugs // Sensors and Actuators B: Chem. 2019. V. 299.
2. Oskolok K. V., Shults E. V., Monogarova O. V., Chaplenko A. A. Optical molecular analysis using office flatbed photo scanner: New approaches and solutions // Talanta. 2018. V. 178. P. 377.
3. Чапленко А. А., Моногарова О. В., Осколок К. В. Использование комплекса молекулярных сенсоров с цветометрическим детектированием для идентификации действующих веществ в составе лекарственных средств // Хим.-фарм. журнал. 2019. Т. 53. № 4. С. 44.
4. Chaplenko A. A., Monogarova O. V., Oskolok K. V. Spectroscopic and colorimetric determination of meloxicam, lornoxicam, tenoxicam in drugs // Int. J. Pharm. Biol. Arch. 2018.V. 9. N. 1. P. 31.
5. Осколок К. В., Шульц Э. В., Моногарова О. В., Чапленко А. А. Оптический молекулярный анализ фармацевтических препаратов с использованием офисного планшетного сканера: флуориметрия и нефелометрия // Вопросы биол., мед. и фарм. химии. 2017. Т. 20. № 11. С. 15.
6. Осколок К. В., Шульц Э. В., Моногарова О. В., Чапленко А. А. Оптический молекулярный анализ фармацевтических препаратов с использованием офисного планшетного сканера: цветометрия и фотометрия // Вопросы биол., мед. и фарм. химии. 2017. Т. 20. № 8. С. 22.
7. Чапленко А. А., Моногарова О. В., Осколок К. В. Спектрофотометрическое и цветометрическое определение действующих веществ в лекарственных препаратах группы оксикамов // Вопросы биол., мед. и фарм. химии. 2017. Т. 20. № 3. С. 7.

Тезисы:

1. Чапленко А. А., Моногарова О. В., Осколок К. В. Использование мультисенсорной цифровой цветометрии в качественном анализе лекарственных препаратов. // Тезисы докладов XXI Менделеевского съезда по общей и прикладной химии, г. Санкт-Петербург, 2019. С. 391.

2. Чапленко А. А., Моногарова О. В., Осолок К. В. Применение мультисенсорной цифровой цветометрии в качественном анализе лекарственных средств // Тезисы доклада Шестой республиканской конференции по аналитической химии с международным участием "Аналитика РБ-2018", г. Минск. Белорусский государственный ун-т, 2018. С. 161.
3. Чапленко А. А. Использование мультиспектральной съемки для определения действующего вещества в лекарственном препарате «Левомецетин» // Материалы Международного молодежного научного Форума «Ломоносов-2019», 8-12 апреля 2019 г., Москва. 2019. С. 618.
4. Чапленко А. А. Использование комплекса молекулярных сенсоров с цветометрическим детектированием для идентификации действующих веществ в составе лекарственных средств // Материалы Международного молодежного научного Форума «Ломоносов-2018», 9-13 апреля 2018 г. Москва. 2018. С. 545.
5. Осолок К. В., Шульц Э. В., Моногарова О. В., Чапленко А. А. Молекулярный спектральный анализ с использованием офисного планшетного сканера / // Материалы Третьего съезда аналитиков России, Москва. 2017. С. 64.
6. Чапленко А. А., Моногарова О. В., Осолок К. В., Шульц Э. В. Применение мультиплексного цветометрического анализа для идентификации и определения некоторых групп лекарственных средств // Материалы Третьего съезда аналитиков России. Москва. 2017. С. 63.
7. Чапленко А. А. Цветометрическое определение действующих веществ и продуктов их деградации в лекарственных препаратах группы оксикамов // Материалы Международного молодежного научного Форума «Ломоносов-2017», 9-13 апреля 2017 г., Москва, Россия. 2017. С. 545.
8. Осолок К. В., Шульц Э. В., Моногарова О. В., Чапленко А. А. Спектральные приборы на основе офисного планшетного сканера для практикума по аналитической химии // Сборник тезисов докладов Пятой Республиканской конференции по аналитической химии «Аналитика РБ-2017». Минск, 2017. С. 74.
9. Моногарова О. В., Чапленко А. А., Осолок К. В. Цветометрическое определение мелоксикама, лорноксикама, теноксикама и продуктов их деградации в лекарственных препаратах // Сборник тезисов докладов Пятой Республиканской конференции по аналитической химии «Аналитика РБ-2017». Минск, 2017. С. 159.