

На правах рукописи



ДЕНИСОВ
МИХАИЛ АНДРЕЕВИЧ

**ПОИСК УНИФИЦИРОВАННЫХ ПОДХОДОВ ИДЕНТИФИКАЦИИ
МНОГОКОМПОНЕНТНЫХ ГОТОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ
МЕТОДАМИ УЛЬТРАФИОЛЕТОВОЙ И ИНФРАКРАСНОЙ СПЕКТРОМЕТРИИ**

3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

Санкт-Петербург

2023 г.

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель:

Саушкина Анна Степановна кандидат фармацевтических наук, доцент

Официальные оппоненты:

Сенченко Сергей Петрович доктор фармацевтических наук, доцент,
Общество с ограниченной ответственностью
«Испытательный центр «ФАРМОБОРОНА»,
начальник отдела разработки аналитических
методик

Шутов Роман Вадимович кандидат фармацевтических наук, закрытое
акционерное общество «БИОКАД», владелец
продукта департамента разработки
инновационных малых молекул

Ведущая организация:

федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «30» мая 2023 года в 16.00 часов на заседании диссертационного совета 21.2.063.01, созданного на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (197022, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д.14, лит. А).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (197227, г. Санкт-Петербург, пр. Испытателей, д.14) и на сайте организации (<https://sites.google.com/a/pharminnotech.com/dissovet>).

Автореферат разослан «___» _____ 2023 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета 21.2.063.01,

кандидат фармацевтических наук, доцент



Орлов А.С.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Требования к качеству готовых лекарственных средств (ГЛС), обращающихся на российском фармацевтическом рынке, декларированы Федеральными законами Российской Федерации от 12.04.2010 г. №61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств»; 21.11.2011 г. №323-ФЗ "Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации"; 07.02.1992 №2300-1 (ред. от 14.07.2022) "О защите прав потребителей" и Постановлением правительства РФ 30.06.2020 года №955 «Об особенностях ввода в гражданский оборот лекарственных препаратов для медицинского применения».

Они заключаются в соответствии и стабильности всех показателей качества ГЛС нормативной документации (НД) на разных этапах жизненного цикла, включая создание, разработку, производство, стандартизацию, распределение, хранение, потребление. Это особенно важно сейчас, когда правительством Российской Федерации взят курс на активное замещение импортной продукции. Существенное увеличение выпуска ГЛС фармацевтическими предприятиями невозможно без изменения подхода к контролю качества, и, прежде всего, к экспрессности и специфичности.

Актуальность исследования заключается в необходимости повысить объективность и экспрессность оценки ГЛС сложного состава по показателю «Подлинность». Это возможно с помощью включения в указанный раздел НД суммарных УФ- и ИК-спектров поглощения, что хорошо согласуется с решением Коллегии Евразийской экономической комиссии от 04.10.2022 г. №137 "О внесении изменений в Руководство по составлению нормативного документа по качеству лекарственного препарата", согласно которому в НД на лекарственное средство в раздел «Подлинность» необходимо включать метод определения, специфичный к активной фармацевтической субстанции (АФС).

По нашему мнению, такими специфичными методами для установления подлинности ГЛС сложного состава могут быть УФ- и ИК-спектроскопия. Это обусловлено, прежде всего, возможностью математической обработки, автоматизации измерений, архивирования, транспортирования и другими общеизвестными достоинствами указанных методов, а также доступностью оборудования.

Для этого необходимо изучить суммарные УФ- и ИК-спектры модельных смесей и ГЛС аналогичного состава, вклад каждой активной фармацевтической субстанции (АФС) и вспомогательных веществ в суммарное поглощение ГЛС, выявить области или участки УФ- и ИК-спектров, на которых проявляются свободные от наложения индивидуальные полосы поглощения каждого ингредиента и достоверно подтверждают их присутствие в анализируемом образце. Такой подход позволит повысить специфичность и упростить

определение подлинности ГЛС сложного состава, значительно сократить длительность и стоимость анализа за счёт исключения операций по разделению ингредиентов.

Объектами исследования служили некоторые серийно выпускаемые промышленностью многокомпонентные ГЛС, содержащие акридонуксусную, аскорбиновую, ацетилсалициловую кислоты, кофеин, N-метилглюкамин и парацетамол.

Степень разработанности темы исследования. Изучение российской и зарубежных государственных фармакопей (ГФ) показало, что практически во всех показатель «Подлинность» АФС определяют сочетанием качественных реакций и физико-химических характеристик, чаще ИК-спектров и реже УФ-спектров. Подлинность ингредиентов многокомпонентных ГЛС во всех изученных ГФ устанавливают в основном химическими методами. В отдельных НД описано определение подлинности с помощью ИК-спектров. Так в USP 43-NF 38 подлинность некоторых АФС разных фармакологических групп в растворах и суспензиях для инъекций и внутреннего употребления, назальных ГЛС, капсулах, таблетках, аэрозолях для ингаляций устанавливают с помощью ИК-спектров после предварительного выделения.

В работах отечественных авторов (Арзамасцева А.П., Дорофеева В.Л. (2004), Корогода К.М. (2012) и др.) впервые описано использование ИК-спектров для выявления фальсифицированной продукции на примере таблеток, содержащих одну АФС (ранитидина гидрохлорид, индометацин, фторхинолоны, цефалоспорины и др.). Авторы минимизировали или исключали поглощение наполнителей на ИК-спектре и устанавливали предполагаемую фальсификацию ГЛС по отсутствию полос поглощения искомой АФС.

Александрова Т.В. (2016) с соавторами использовала ИК-спектры для идентификации некоторых АФС и однокомпонентных ГЛС, поступивших в испытательный центр от оптовых и аптечных организаций, индивидуальных предпринимателей и населения в порядке сомнения в качестве по несоответствию ГЛС по упаковке, маркировке или упоминанию в письмах Росздравнадзора. Возможную фальсификацию устанавливали сравнением ИК-спектров соответствующих стандартных и поступивших образцов после пробоподготовки (высушивание, осаждение и др.).

В отечественной и зарубежной НД и научной литературе УФ-спектры ингредиентов ГЛС сложного состава используются только для выбора аналитических длин волн и способов количественного определения АФС в субстанции и многокомпонентных ГЛС: Беликов В.Г. с соавторами (1988); Власова И.В. с соавторами (2008); Кобелева Т.А. с соавторами (2017); Котлова Л.И., Цокова Т.Н. (2019); S.Sabri Al Samarraï, E.Thiab Alsamarraï, Khalaf F. Alsamarraï (2016), U.Shau (2015), A.Gandhi (2018), R.Medina (2016) и др., а для установления подлинности не используются.

Цель и задачи диссертационной работы. Изучить возможность идентификации многокомпонентных ГЛС с помощью суммарных УФ-, ИК-спектров и результатов их математической обработки.

Для достижения поставленной цели определены следующие задачи исследования:

1. Изучить возможность использования суммарных УФ-спектров поглощения многокомпонентных ГЛС, а также их дополнительных характеристик (производной второго порядка и интегральной интенсивности) для определения подлинности по содержанию АФС (доминирующих и минорных).

2. Провести валидационную оценку величины интегральной интенсивности на примере некоторых исследуемых ГЛС.

3. Изучить возможность установления подлинности некоторых многокомпонентных ГЛС по содержанию действующих веществ с помощью суммарных ИК-спектров пропускания и НПВО.

4. Разработать методики и рекомендации по идентификации состава некоторых многокомпонентных твердых ГЛС с помощью суммарных УФ-спектров и результатов их математической обработки и ИК-спектров пропускания и НПВО.

5. Разработать алгоритм подготовки многокомпонентных стандартных образцов для измерения суммарных УФ- и ИК-спектров ГЛС сложного состава для включения в банк данных и нормативную документацию на лекарственное средство в раздел «Подлинность».

6. Сформировать банк суммарных УФ-, ИК-спектров (пропускания и НПВО), производных суммарных УФ-спектров некоторых многокомпонентных ГЛС, содержащих акридонуксусную, аскорбиновую, ацетилсалициловую кислоты, кофеин, N-метилглюкамин, парацетамол.

Научная новизна работы. Впервые показана возможность установления подлинности АФС с помощью суммарных УФ- и ИК-спектров на примере двух- и трехкомпонентных модельных смесей и некоторых многокомпонентных ГЛС, содержащих акридонуксусную, аскорбиновую, ацетилсалициловую кислоты, кофеин, N-метилглюкамин и парацетамол.

Впервые предложено комплексное использование суммарных УФ-спектров и результатов их математической обработки (производной второго порядка и интегральной интенсивности) и суммарных ИК-спектров (пропускания и НПВО) для идентификации ГЛС сложного состава, позволяющих проводить первичную скрининговую оценку подлинности и, в ряде случаев, выявлять фальсифицированную продукцию.

Впервые проведена валидационная оценка интегральной интенсивности суммарных УФ-спектров двухкомпонентных модельных смесей, показавшая стабильность этого

показателя при нормативном содержании действующих веществ в объектах исследования и возможность использования наряду с суммарными УФ-спектрами многокомпонентных ГЛС в качестве дополнительного показателя подлинности, а в ряде случаев и предварительной оценки количественного содержания.

Теоретическая и практическая значимость работы. Исследования, выполненные на примере некоторых двух- и трехкомпонентных модельных смесей и ГЛС, содержащих акридонуксусную, аскорбиновую, ацетилсалициловую кислоты, кофеин, N-метилглюкамин и парацетамол, показали возможность использовать суммарные УФ-спектры, результаты их математической обработки (производную второго порядка и интегральную интенсивность) и суммарные ИК-спектры пропускания и НПВО для установления подлинности без разделения АФС.

Разработан алгоритм подготовки многокомпонентного стандартного образца для измерения стандартных суммарных УФ- и ИК-спектров ГЛС сложного состава для включения в банк данных и НД на лекарственное средство в раздел «Подлинность».

Сформированный банк суммарных УФ-, ИК-спектров (пропускания и НПВО) некоторых ГЛС сложного состава, содержащих акридонуксусную кислоту, аскорбиновую кислоту, ацетилсалициловую кислоту, кофеин, N-метилглюкамин, парацетамол, может быть использован в контроле их качества как в условиях промышленного предприятия, так и контрольно-аналитических служб России.

Результаты исследования апробированы и внедрены в нормативную документацию по разработке лекарственных средств промышленного изготовления АО «Фармпроект» (г. Санкт-Петербург) (акт внедрения от 15.04.2021), АО «Фармасинтез-Норд» (г. Санкт-Петербург) (акт внедрения от 20.04.2022), АО «Фармасинтез» (г. Иркутск) (акт внедрения от 17.05.2022), ООО «Фармасинтез-Тюмень» (г. Тюмень) (акт внедрения от 15.06.2022).

Результаты исследования внедрены в учебный процесс (лекции и практические занятия) кафедры фармации ФГБОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М.Кирова» МО РФ для курсантов, слушателей и студентов 3-4 курсов по теме «Физико-химические и хроматографические методы анализа» и курсов повышения квалификации провизоров-аналитиков по циклу «Физико-химические методы анализа» (акты внедрения от 15.06.2022).

Результаты исследования внедрены в учебный процесс ординатуры кафедры фармацевтической химии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский химико-фармацевтический университет» МЗ РФ по дисциплине «Применение современных методов в фармацевтическом анализе» (акт внедрения от 21.11.2022).

Методология и методы исследования. В работе использованы классические и современные научные методологические подходы, направленные на разработку способов установления подлинности ГЛС сложного состава методами ультрафиолетовой и инфракрасной спектроскопии. Полученные результаты обработаны методами математической статистики с помощью программ «Microsoft Excel» версия 2019 года, «Minitab» версия 21.1.0.

Положения, выносимые на защиту. На защиту выносятся следующие положения и результаты, определяющие новизну и практическую значимость исследования:

1. Результаты использования суммарных УФ-спектров и результатов их математической обработки (производных спектров, интегральной интенсивности) для оценки подлинности на примере некоторых многокомпонентных ГЛС, содержащих акридонуксусную, аскорбиновую, ацетилсалициловую кислоты, кофеин, N-метилглюкамин и парацетамол.

2. Результаты валидационной оценки способа расчёта интегральной интенсивности площади под кривой УФ-спектра.

3. Результаты установления подлинности многокомпонентных модельных смесей и ГЛС по содержанию действующих веществ с помощью суммарных ИК-спектров пропускания и НПВО.

4. Методические рекомендации по идентификации состава некоторых многокомпонентных твердых ГЛС с помощью суммарных УФ-спектров и результатов их математической обработки и ИК-спектров пропускания и НПВО.

5. Алгоритм подготовки многокомпонентных стандартных образцов для измерения суммарных УФ- и ИК-спектров ГЛС сложного состава для включения в банк данных и НД на лекарственное средство в раздел «Подлинность».

6. Банк суммарных УФ-спектров и результатов их математической обработки (производной второго порядка и интегральной интенсивности), суммарных ИК-спектров (пропускания и НПВО) некоторых многокомпонентных ГЛС, содержащих акридонуксусную, аскорбиновую, ацетилсалициловую кислоты, кофеин, N-метилглюкамин, парацетамол.

Степень достоверности и апробация результатов. Основные материалы работы доложены на Всероссийских и международных конференциях разного уровня: III, VII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Инновации в здоровье нации» (Санкт-Петербург, 2015; 2019); IV, VI, VII Всероссийской научно-практической конференции «Беликовские чтения» (Пятигорск, 2015; 2017; 2018); международной научно-практической конференции «Наука, образование, общество» (Тамбов, 2017); VIII Всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с

международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего» (Санкт-Петербург, 2018); научной конференции «XLVII Огаревские чтения» (Саранск, 2018); 72-й международной научно-практической конференции «Во имя жизни и здоровья» (Пятигорск, 2019); IX Всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего» (Санкт-Петербург, 2019); международной конференции, посвященной 60-летию фармацевтического факультета учреждения образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет» «Современные достижения фармацевтической науки и практики» (Витебск, 2019); XI, XII ежегодной межвузовской межрегиональной научной конференции «Актуальные вопросы развития российской фармации – Ильинские чтения» (Санкт-Петербург, 2021; 2022).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 13 печатных работ, в том числе 2 статьи в журнале перечня рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций, рекомендованных ВАК Минобрнауки России.

Связь задач исследования с планом фармацевтических наук. Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом исследовательских работ ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России в рамках инициативной темы: "Инновационные подходы в стандартизации лекарственных средств синтетического и природного происхождения" (Номер гос. регистрации: АААА-А19-119030590044-6, зарегистрирована 05.03.2019 года).

Соответствие научно-квалификационной работы паспорту научной специальности. Научные положения диссертационной работы соответствуют паспорту специальности 3.4.2 – фармацевтическая химия, фармакогнозия, а именно: пункту 3 – разработка новых, совершенствование, унификация и валидация существующих методов контроля качества лекарственных средств на этапах их разработки, производства и потребления.

Личный вклад автора в проведенное исследование и получение научных результатов. Автором лично собрана и систематизирована отечественная и зарубежная литература, разработаны и выполнены все стадии эксперимента, проанализированы результаты исследований. Основные публикации по работе подготовлены лично автором и перечислены в списке публикаций по теме диссертации. Степень личного участия автора в выполнении совместных работ составляет не менее 80%.

Объем и структура работы. Работа изложена на 192 страницах компьютерного набора, иллюстрирована 100 рисунками и 39 таблицами, состоит из введения, обзора

литературы, экспериментальной части (2 глав), заключения, списка литературы, включающего 122 источника (75 источников зарубежной литературы), приложения.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава 1. Обзор литературы

В обзоре литературы рассмотрены и систематизированы применяемые в настоящее время методики качественного и количественного анализа многокомпонентных ГЛС методами УФ- и ИК-спектроскопии. Установлено, что методы ИК- и УФ-спектрометрии перспективны для дальнейшего изучения способов идентификации многокомпонентных ГЛС. В качестве показателей подлинности могут быть использованы суммарные ИК- и УФ-спектры, а также их некоторые дополнительные характеристики, полученные методом математической обработки (производные второго порядка и интегральная интенсивность).

Глава 2. Материалы и методы исследования

Объектами исследования служили АФС (аскорбиновая, акридонуксусная, ацетилсалициловая кислоты, кофеин, парацетамол, N-метилглюкамин), вспомогательные вещества, модельные смеси и ГЛС, соответствующие требованиям НД (таблица 1).

Таблица 1 – Готовые лекарственные средства, используемые в исследовании

№ п/п	Лекарственное средство	Производитель	Действующее вещество
1	Ацетилсалициловая кислота 0,5 г, таблетки	ОАО «Дальхимфарм»	Ацетилсалициловая кислота
2		ОАО «Уралбиофарм»	
3		ОАО «Фармстандарт – Лексредства»	
4	Парацетамол 0,5 г, таблетки	ОАО «Уралбиофарм»	Парацетамол
5		ОАО «Фармстандарт – Лексредства»	
6	Солпадеин фаст, таблетки растворимые	АО «ГлаксоСмитКляйн Хелскер»	Кофеин, парацетамол
7	Солпадеин фаст, таблетки, покрытые пленочной оболочкой	АО «ГлаксоСмитКляйн Хелскер»	
8	Мигренол, таблетки	«Four Ventures Enterprises»	
9	Мигрениум, таблетки	ОАО «Биохимик»	
10	Парацетамол экстратаб, таблетки	АО "ФП «Оболенское»	Аскорбиновая кислота, парацетамол
11	Мексавит, таблетки	«Ratiopharm»	
12	Цитрамон-ЛекТ, таблетки	ОАО «Тюменский химико-фармацевтический завод» (ТХФЗ)	Ацетилсалициловая кислота, кофеин, парацетамол
13	Кофицил®-плюс, таблетки	ОАО "Уралбиофарм"	
14	Аскофен-П®, таблетки	АО «Отисифарм»	
15	Цитрамон-Боримед, таблетки	ОАО «Борисовский завод медицинских препаратов» (БЗМП)	
16	Цитрамон П, таблетки	ОАО «Татхимфармпрепараты»	
17		ПАО «Биосинтез»	
18		ОАО «Фармстандарт – Лексредства»	
19	Цитрамон П Медисорб, таблетки	АО «Медисорб»	
20	Цитрамон П, таблетки	ООО «Атолл»	
21	Мигренол® Экстра, таблетки	«Four Ventures Enterprises»	
22	Циклоферон, таблетки	НТФФ «Полисан»	Акридонуксусная кислота, N-метилглюкамин

Все исследования проводили на аттестованном и/или поверенном оборудовании в соответствии с НД, действующими на территории Российской Федерации. УФ- и ИК-спектры измеряли на спектрофотометрах UV-1800 и UV-1900 («Shimadzu», Япония); СФ-2000 (ООО «ОКБ СПЕКТР», Россия); UV5БИО («Mettler Toledo», США); Фурье-спектрофотометр инфракрасный Alpha («Bruker», США) и IRAffinity-1S («Shimadzu», Япония). Реактивы и растворители соответствовали требованиям ГФ РФ XIV издания. Результаты исследований обработаны с помощью стандартных компьютерных программ Excel и MINITAB в соответствии с требованиями ГФ XIV и методик анализа.

Глава 3. Изучение возможности установления подлинности многокомпонентных лекарственных средств методом ультрафиолетовой спектрофотометрии

Глава посвящена изучению возможности использования суммарных УФ-спектров и результатов их математической обработки (вторая производная, интегральная интенсивность) для установления подлинности ингредиентов многокомпонентных ГЛС.

Для нивелирования взаимного влияния ингредиентов на поглощение друг друга и получения стабильных суммарных УФ-спектров в качестве оптимального растворителя выбран 0,1М раствор хлористоводородной кислоты на основании значений констант ионизации АФС, входящих в состав исследуемых ГЛС.

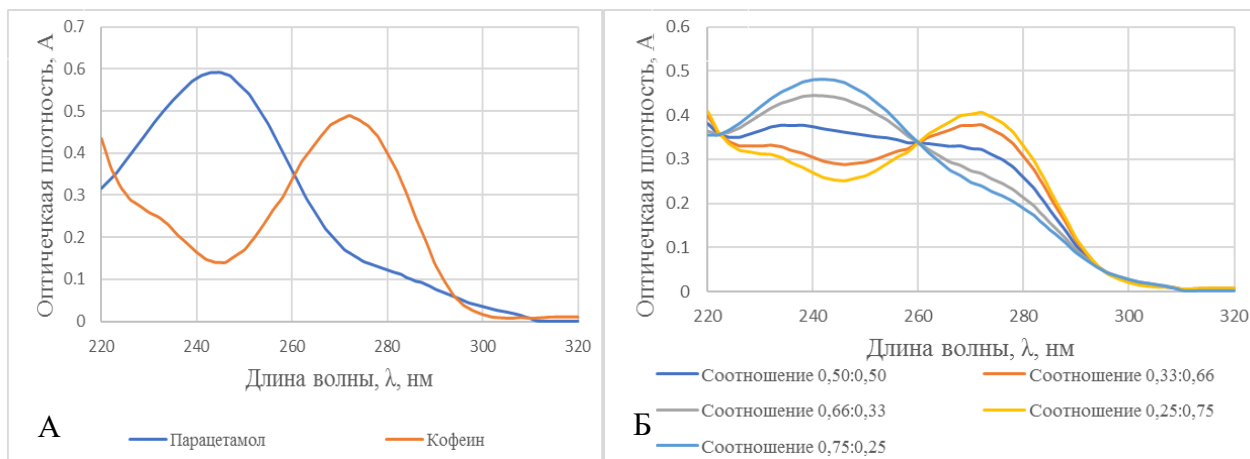


Рисунок 1. УФ-спектры поглощения в 0,1М растворе хлористоводородной кислоты: А. 0,001% растворов парацетамола и кофеина; Б. смесей 0,001% растворов парацетамола и кофеина в объёмных соотношениях 0,5:0,5, 0,33:0,66, 0,66:0,33, 0,25:0,75, 0,75:0,25.

Изучение УФ-спектров индивидуальных АФС и вспомогательных веществ, входящих в состав исследуемых ГЛС, а также суммарных УФ-спектров некоторых двух- и трехкомпонентных модельных смесей и ГЛС показало, что они носят индивидуальный характер и отражают изменение формы, положения максимумов и интенсивности поглощения в зависимости от сочетания и соотношения АДВ (рисунок 1, таблица 2).

Таблица 2 – Характеристики суммарных УФ-спектров двухкомпонентной модельной смеси

Модельная смесь	Соотношение	λ_{\max} , нм	λ_{\min} , нм	Плато, нм	Отношение оптических плотностей ($\lambda_{\max} / \lambda_{\min}; \lambda_{\max} / \lambda_{\text{плато}}$)	Величина оптической плотности при λ_{\max}
Кофеин - парацетамол	0,50:0,50	238±2	–	240-275	1,0-1,3	0,370-0,386
	0,33:0,66	240±2	–	260-290	1,3-4,5	0,436-0,454
	0,66:0,33	272±2	246±2	–	1,3	0,371-0,387
	0,25:0,75	242±2	–	260-290	1,4-5,4	0,471-0,491
	0,75:0,25	272±2	246±2	–	1,6	0,398-0,415

Наибольшие различия в суммарных УФ-спектрах наблюдаются, если максимумы полос поглощения АФС удалены друг от друга на расстояние, превышающее сумму полуширины их полос поглощения. При содержании в ГЛС ингредиентов с близкорасположенными максимумами (парацетамол и кофеин; парацетамол и аскорбиновая кислота; парацетамол и ацетилсалициловая кислота и др.) суммарные УФ-спектры имеют сходный характер, отличаясь лишь интенсивностью в максимуме из-за различия в массовых долях действующих веществ (рисунок 2, таблица 3).

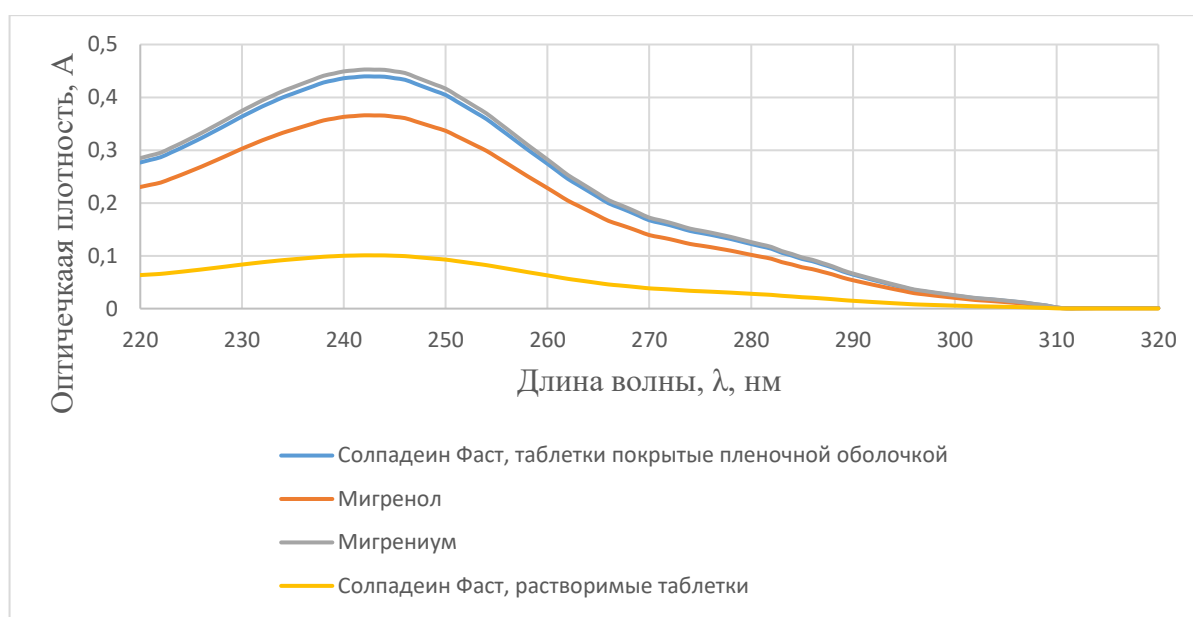


Рисунок 2. УФ-спектры поглощения растворов в 0,1М растворе хлористоводородной кислоты некоторых ГЛС на основе парацетамола и кофеина

Таблица 3 – Исследуемые серийно выпускаемые таблетки, содержащие парацетамол и кофеин

№ п/п	Лекарственный препарат	Парацетамол, мг	Кофеин, мг	Средняя масса таблетки, мг
1	Солпадеин фаст, таблетки растворимые	500	65	3030
2	Солпадеин фаст, таблетки, покрытые пленочной оболочкой	500	65	695
3	Мигренол	500	65	835
4	Мигрениум	500	65	675

В таких случаях для разрешения и идентификации полос поглощения отдельных ингредиентов были рассчитаны производные второго порядка от исходных суммарных УФ-спектров с помощью компьютерной обработки и расчётной техники «подвижной полосы». Изучение производных от суммарных УФ-спектров показало, что по форме они подобны исходным спектрам и имеют полосы поглощения с теми же максимумами. В ряде случаев на производных выявлены скрытые полосы поглощения с соответствующими максимумами (рис. 3, табл. 4).

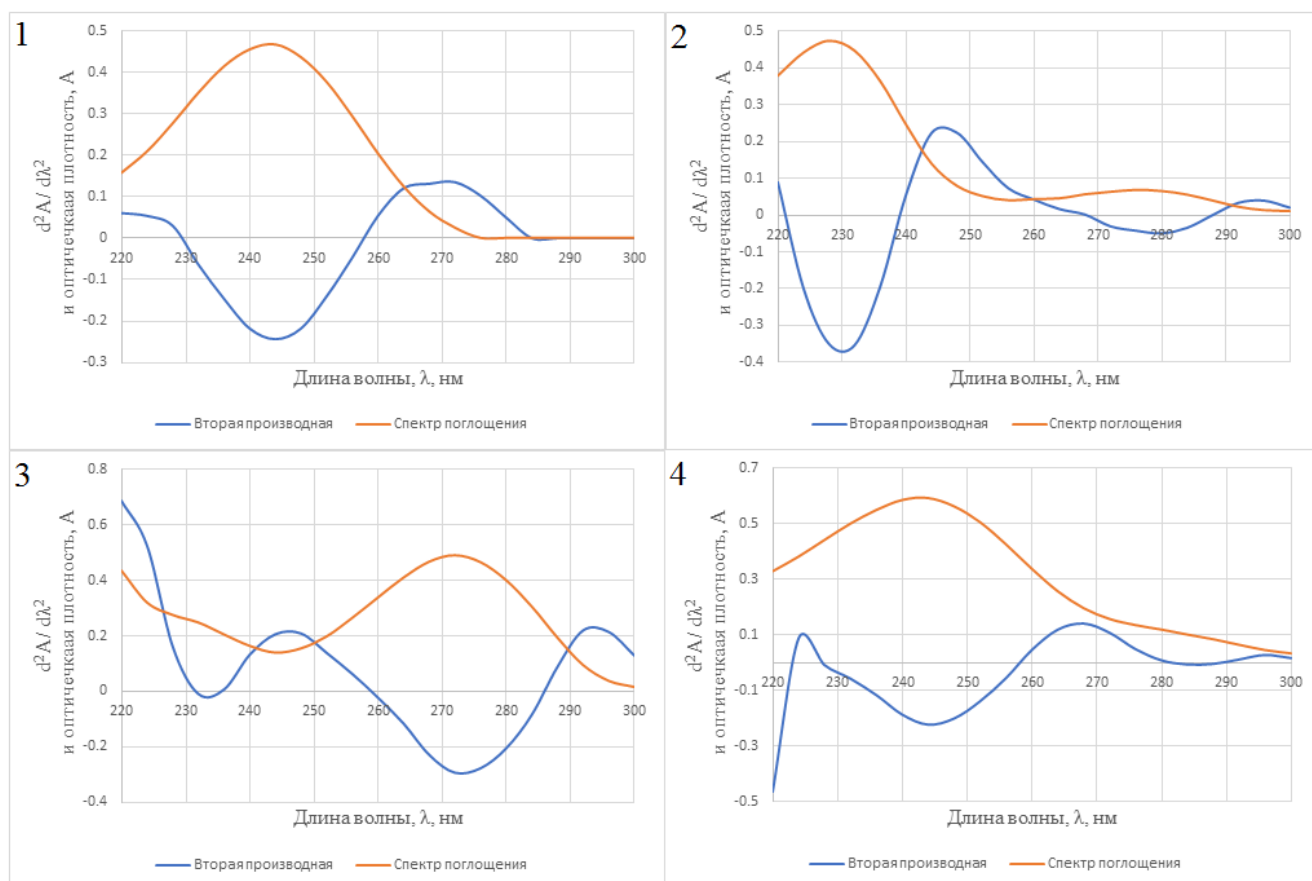


Рисунок 3. УФ-спектры поглощения и их вторые производные 0,001% растворов аскорбиновой кислоты (1), ацетилсалициловой кислоты (2), кофеина (3), парацетамола (4) в 0,1М растворе хлористоводородной кислоты

Таблица 4 – Характеристики УФ-спектров и производных УФ-спектров растворов исследуемых фармацевтических субстанций в 0,1М растворе хлористоводородной кислоты

Фармацевтическая субстанция	λ Max субстанции, нм		
	на спектре поглощения	на второй производной	
		Способ 1*	Способ 2*
Кофеин	272±2	232, 272	232, 272
Ацетилсалициловая кислота	228±2, 276±2	232, 280	232, 280
Парацетамол	244±2	244; 284	244, 284
Аскорбиновая кислота	245±2	244	244

Примечание: способ 1* – метод компьютерной обработки; способ 2* – расчётный техникой «подвижной полосы».

Одновременно установлено, что вторые производные суммарных УФ-спектров некоторых модельных смесей и ГЛС, как и исходные спектры с разрешёнными и неразрешёнными полосами поглощения входящих в их состав АФС, отражают зависимость от массовых долей ингредиентов. При этом изменяется как интенсивность поглощения в максимумах, так и на 2-4 нм смещается положение максимумов. Для некоторых сочетаний ингредиентов в смесях на производных выявлены скрытые максимумы, присущие как индивидуальным АФС, так и обусловленные их соотношением в смеси (рис.4, табл. 5).

Таблица 5 – Характеристики вторых производных от суммарных УФ-спектров некоторых модельных двухкомпонентных смесей лекарственных веществ

Модельная смесь	Соотношение	λ_{max} (нм) на спектре	
		второй производной	исходный УФ-спектр
Кофеин – парацетамол	0,50:0,50	236, 276	238±2
	0,33:0,66	240, 280	240±2
	0,66:0,33	236, 276	272±2
	0,25:0,75	244, 280	242±2
	0,75:0,25	236, 276	272±2

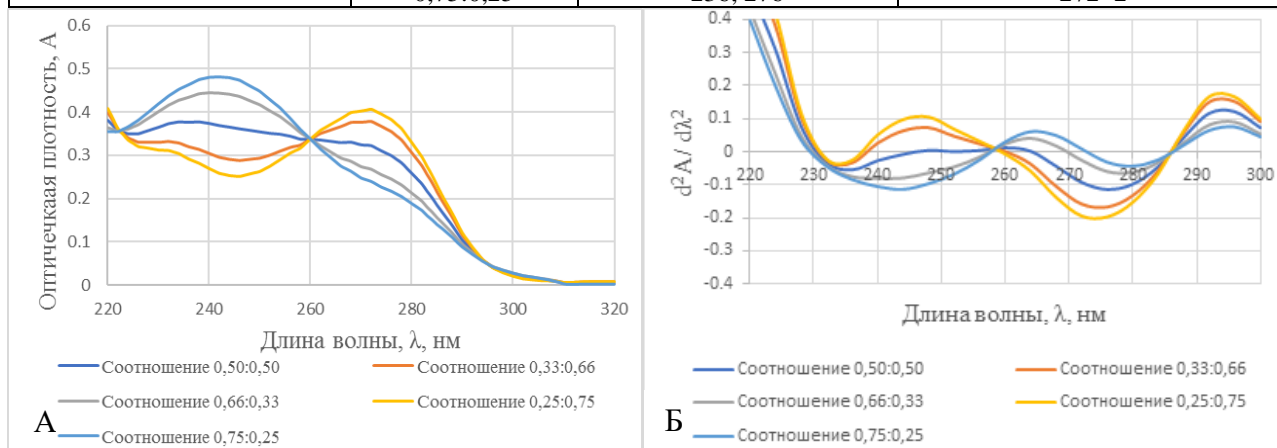


Рисунок 4. А. УФ-спектры поглощения (А) и вторые производные суммарных УФ-спектров (Б) в 0,1М растворе хлористоводородной кислоты смесей 0,001% растворов парацетамола и кофеина в объёмных соотношениях 0,5:0,5, 0,33:0,66, 0,66:0,33, 0,25:0,75, 0,75:0,25.

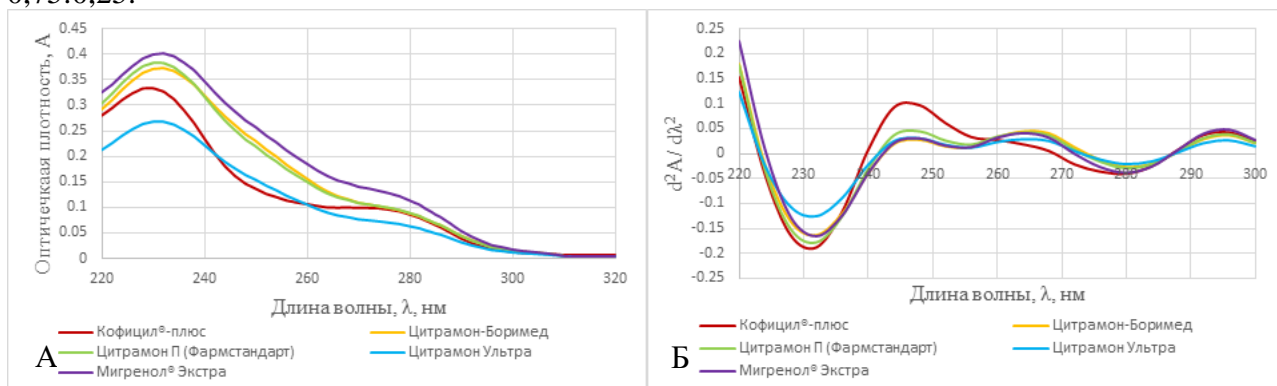


Рисунок 5. Суммарные УФ-спектры (А) и вторые производные суммарных спектров (Б) ГЛС на основе ацетилсалициловой кислоты, кофеина и парацетамола.

Некоторые ГЛС с одинаковым качественным составом АФС, но разным количественным содержанием (таблетки «Цитрамон», «Кофицил» и др.) имеют сходный характер суммарных и производных УФ-спектров (рис. 5). В таких случаях для повышения надёжности идентификации ГЛС с помощью суммарных УФ-спектров изучено использование интегральной интенсивности площади под кривой как дополнительного показателя. Интегральную интенсивность можно рассчитать для любого участка спектра, даже при отсутствии ярко выраженных максимумов поглощения или их незначительном смещении. Эта характеристика повышает надёжность идентификации ГЛС по суммарному УФ-спектру за счёт отражения не только качественного, но и количественного состава. Валидационная оценка интегральной интенсивности на примере парацетамола показала, что она является устойчивой и воспроизводимой характеристикой (рис. 6, табл. 6).

Таблица 6 – Валидационная оценка интегральной интенсивности УФ-спектра парацетамола

Линейность, правильность величины интегральной интенсивности														
№	%	Навеска, г	Интегральная интенсивность		Xi	Yi	Zi	Xi ср	Yi ср	Zi ср				
			S	S ср										
1	80	0,0402	2012,41	1999,0	80,40	80,42	100,02	80,1	79,9	99,7				
		0,0397	1984,98		79,40	79,32	99,90							
		0,0403	1999,20		80,60	79,89	99,12							
2	90	0,0452	2254,95	2268,0	90,40	90,11	99,68	90,3	90,6	100,3				
		0,0453	2269,37		90,60	90,68	100,09							
		0,0450	2279,50		90,00	91,09	101,21							
3	100	0,0502	2506,25	2496,0	100,40	100,15	99,75	100,1	99,7	99,6				
		0,0498	2495,49		99,60	99,72	100,12							
		0,0502	2486,23		100,40	99,35	98,95							
4	110	0,0549	2769,54	2778,0	109,80	110,67	100,79	110,3	111,0	100,7				
		0,0552	2776,70		110,40	110,96	100,50							
		0,0553	2786,33		110,60	111,34	100,67							
5	120	0,0597	2971,77	2991,0	119,40	118,75	99,46	120,1	119,5	99,5				
		0,0603	2992,19		120,60	119,57	99,14							
		0,0601	3008,11		120,20	120,20	100,00							
Метрологические характеристики: $\sigma = 0,6147$; $\max u = 0,0400$ %; $u_z = 1,0676$ %.														
Прецизионность величины интегральной интенсивности														
№	%	Навески, г	Интегральная интенсивность		Xi	Yi	Zi	Zср	ZDep	σ_z	σ_{Dz}	u_z	Fпрак	tпрак
			S	S ср										
1	100	0,0502	2506,25	2450	100,40	100,15	99,75	99,7	99,8	0,579	0,620	1,36	1,28	1,021
		0,0498	2495,49		99,60	99,72	100,12							
		0,0502	2486,23		100,40	99,35	98,95							
		0,0502	2506,25		100,40	100,15	99,75							
		0,0504	2531,28		100,80	101,15	100,35							
		0,0499	2471,72		99,80	98,77	98,97							
2	100	0,0503	2521,02	2509	100,60	100,74	100,14	100,0	99,8	0,656	0,620	1,36	1,28	1,021
		0,0500	2507,76		100,00	100,21	100,21							
		0,0498	2493,74		99,60	99,65	100,05							
		0,0503	2499,25		100,60	99,87	99,27							
		0,0505	2511,01		101,00	100,34	99,35							
		0,0498	2519,02		99,60	100,66	101,06							
Метрологические характеристики: $u_z = 1,36$; Fпрак = 1,28; tпрак = 1,021.														

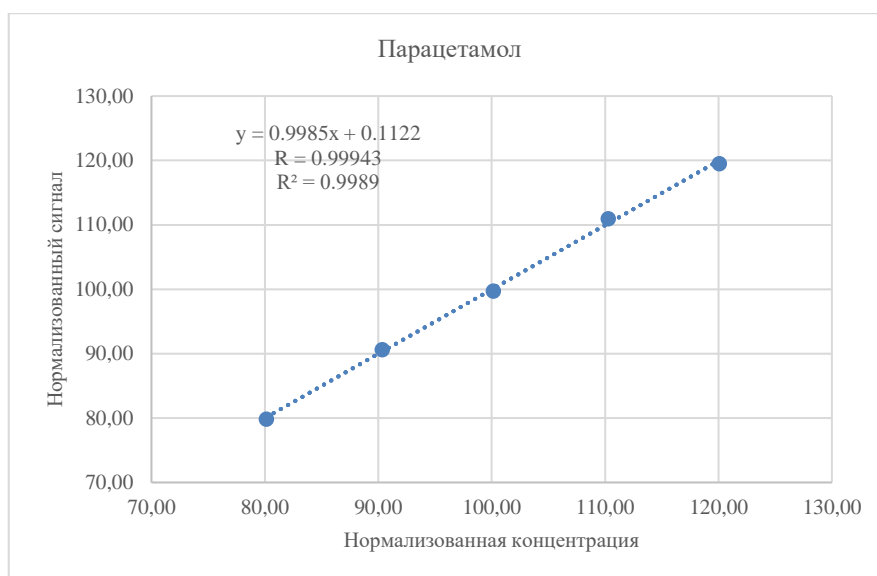


Рисунок 6 – Зависимость интегральной интенсивности от содержания парацетамола.

Применение интегральной интенсивности для анализа однокомпонентных серийно выпускаемых таблеток «Парацетамол» и «Ацетилсалициловая кислота» подтвердило возможность использования этого показателя для повышения надёжности установления подлинности ГЛС данного состава по суммарному УФ-спектру (табл. 7).

Таблица 7 – Результаты анализа однокомпонентных готовых лекарственных средств

Препарат	Серия	S_0	S_i (n=3)	Содержание, %	Допустимые значения интегральной интенсивности
Аспирин ОАО "ДАЛЬХИМФАРМ"	40719	1213.3	1005.4	99.74	910,0 - 1112,2
	840918		1049.7	104.34	
	90318		984.6	97.67	
Аспирин ОАО «Уралбиофарм»	520518		1032.9	101.85	
	500518		992.5	97.67	
	570618		997.5	98.56	
Аспирин ОАО «Фармстандарт – Лексредства»	2761019		988.3	96.68	
	3161218		1013.5	99.34	
	2130919		1008.2	98.82	
Парацетамол ОАО «Уралбиофарм»	491118	2502.5	2351.5	103.47	2047,5 - 2502,4
	481118		2289.6	100.95	
	330319		2311.1	101.69	
Парацетамол ОАО «Фармстандарт – Лексредства»	2571119		2250.3	98.42	
	2250919		2237.9	97.68	
	1640819		2285.7	100.17	

Примечание: S_i ; S_0 – соответственно интегральная интенсивность испытуемого и стандартного образцов.

На модельных смесях показано, что интегральная интенсивность является величиной аддитивной и отличается от интегральных интенсивностей индивидуальных АФС менее, чем на 1%. Одновременно установлено, что интегральная интенсивность исследуемых серий ГЛС, выраженная в процентах по отношению к такому же показателю стандартного образца аналогичного состава, составляет в среднем $(100,0 \pm 10,0)\%$ и может использоваться как предварительный показатель количественного содержания АФС в анализируемом ГЛС.

Валидационная оценка методики расчёта интегральной интенсивности, выполненная на модельных смесях кофеина и парацетамола 5 разных уровней содержания, показала, что этот показатель является устойчивым и воспроизводимым и для двухкомпонентных ЛС (табл. 8).

Таблица 8 – Значения интегральных интенсивностей на нижнем и верхнем пределах количественного содержания фармацевтических субстанций в модельных смесях.

Модельная смесь				Интегральная интенсивность	
№	Кофеин, мг	Парацетамол, мг	Вспомогательные вещества, мг	значение	% от нормы
Диапазон (220-320) нм					
1	282,5	282,5	100,0	1984,4±19,8	100,00
2	282,5	268,4 (-5,0 %)	114,1	1931,3±19,3	97,32
3	268,4 (-5,0 %)	282,5	114,1	1938,4±19,4	97,68
4	268,4 (-5,0 %)	268,4 (-5,0 %)	128,2	1885,3±18,9	95,01
5	296,6 (+5,0 %)	296,6 (+5,0 %)	71,8	2083,4±20,8	104,99
6	282,5	296,6 (+5,0 %)	85,9	2037,4±20,4	102,67
7	296,6 (+5,0 %)	282,5	85,9	2030,3±20,3	102,31
Диапазон (264-280) нм					
1	282,5	282,5	100,0	435,6±4,4	100,00
2	282,5	268,4 (-5,0 %)	114,1	429,8±4,3	98,67
3	268,4 (-5,0 %)	282,5	114,1	419,6±4,2	96,33
4	268,4 (-5,0 %)	268,4 (-5,0 %)	128,2	413,8±4,1	95,00
5	296,6 (+5,0 %)	296,6 (+5,0 %)	71,8	457,3±4,6	104,98
6	282,5	296,6 (+5,0 %)	85,9	441,3±4,4	101,31
7	296,6 (+5,0 %)	282,5	85,9	451,5±4,5	103,65
Диапазон (237-251) нм					
1	282,5	282,5	100,0	450,5±4,5	100,00
2	282,5	268,4 (-5,0 %)	114,1	432,9±4,3	96,09
3	268,4 (-5,0 %)	282,5	114,1	445,6±4,5	98,91
4	268,4 (-5,0 %)	268,4 (-5,0 %)	128,2	428,0±4,3	95,00
5	296,6 (+5,0 %)	296,6 (+5,0 %)	71,8	473,0±4,7	105,00
6	282,5	296,6 (+5,0 %)	85,9	468,4±4,7	103,97
7	296,6 (+5,0 %)	282,5	85,9	455,4±4,6	101,09
Диапазон (220-320) нм					
1	65,0	500,0	100,0	2093,5±20,9	100,00
2	65,0	475,0 (-5,0 %)	125,0	1999,4±20,0	95,51
3	60,1 (- 7,5 %)	500,0	104,9	2077,6±20,8	99,24
4	60,1 (- 7,5 %)	475,0 (-5,0 %)	129,9	1983,5±19,8	94,75
5	69,9 (+ 7,5 %)	525,0 (+5,0 %)	70,1	2203,5±22,0	105,25
6	65,0	525,0 (+5,0 %)	75,0	2187,6±21,9	104,50
7	69,9 (+ 7,5 %)	500,0	95,1	2109,5±21,1	100,76
Диапазон (264-280) нм					
1	65,0	500,0	100,0	278,1±2,8	100,00
2	65,0	475,0 (-5,0 %)	125,0	267,9±2,7	96,33
3	60,1 (- 7,5 %)	500,0	104,9	272,6±2,7	98,00
4	60,1 (- 7,5 %)	475,0 (-5,0 %)	129,9	262,3±2,6	94,32
5	69,9 (+ 7,5 %)	525,0 (+5,0 %)	70,1	293,8±2,9	105,65
6	65,0	525,0 (+5,0 %)	75,0	288,3±2,9	103,67
7	69,9 (+ 7,5 %)	500,0	95,1	283,6±2,8	101,98
Диапазон (237-251) нм					
1	65,0	500,0	100,0	646,5±6,5	100,00
2	65,0	475,0 (-5,0 %)	125,0	615,3±6,2	95,17
3	60,1 (- 7,5 %)	500,0	104,9	644,8±6,4	99,74
4	60,1 (- 7,5 %)	475,0 (-5,0 %)	129,9	613,6±6,1	94,91
5	69,9 (+ 7,5 %)	525,0 (+5,0 %)	70,1	679,4±6,8	105,09
6	65,0	525,0 (+5,0 %)	75,0	677,7±6,8	104,83
7	69,9 (+ 7,5 %)	500,0	95,1	648,2±6,5	100,26

Приведенные результаты (таблица 8) показывают, что при равном содержании обеих АФС в смеси интегральная интенсивность, рассчитанная для всего диапазона длин волн и для диапазонов, соответствующих максимумам поглощения каждого компонента, адекватно отражает изменение в их дозировках (%). Поэтому интегральная интенсивность может быть пригодна для предварительной оценки количественного содержания АФС двухкомпонентных ГЛС. При существенной разнице в содержании АФС для предварительной оценки их количественного содержания в смеси оптимальным является расчет интегральной интенсивности в области максимального поглощения для каждой АФС.

Таблица 9 – Допустимые значения интегральной интенсивности при нормативном количественном содержании АФС в исследуемых ГЛС

Лекарственное средство и производитель	Серия	S_0	S_i (n=3)	Содержание, %	Допустимые значения интегральной интенсивности
Мигрениум ОАО "БИОХИМИК"	021015	2464,1	2017,37	97,81	1856,3 – 2411,7
	1470917		2049,76	99,38	
	1171118		2109,98	102,3	
Мигренол® «Four Ventures Enterprises»	17C065		1635,1	98,07	1500,6 – 1834,0

Таким образом, на основании выполненных исследований установлена возможность определения подлинности многокомпонентных лекарственных препаратов с помощью суммарных УФ-спектров и результатов их математической обработки (производных спектров, интегральной интенсивности). На модельных смесях, содержащих АФС в разных соотношениях, определено, что, при использовании для анализа растворов исследуемых образцов с концентрацией 0,001%, чувствительность определения минорных ингредиентов составляет 20%.

Возможными ограничениями использования суммарных УФ-спектров для установления подлинности многокомпонентных готовых лекарственных средств могут быть нарушения аддитивности светопоглощения и интегральной интенсивности вследствие химического взаимодействия ингредиентов, существенной разницы в значениях показателей поглощения АФС при малом содержании отдельных ингредиентов, близости максимумов поглощения отдельных АФС.

Глава 4. Изучение возможности идентификации действующих веществ многокомпонентных готовых лекарственных средств методом ИК-спектроскопии

Возможность использования суммарных ИК-спектров для идентификации ГЛС сложного состава без разделения или выделения ингредиентов была изучена на ИК-спектрах АФС, вспомогательных веществ и модельных смесях. На суммарных ИК-спектрах каждого сочетания АФС в модельных смесях выявляли стабильно проявляющиеся полосы

поглощения индивидуальных АФС, свободные от наложения поглощения сопутствующих ингредиентов. Дальнейшие исследования показали, что на суммарных ИК-спектров двух- и трехкомпонентных модельных смесей наличие полос поглощения действующих веществ, свободных от наложения поглощения других действующих и вспомогательных веществ, позволяет идентифицировать действующие вещества (рис. 7, табл. 9).

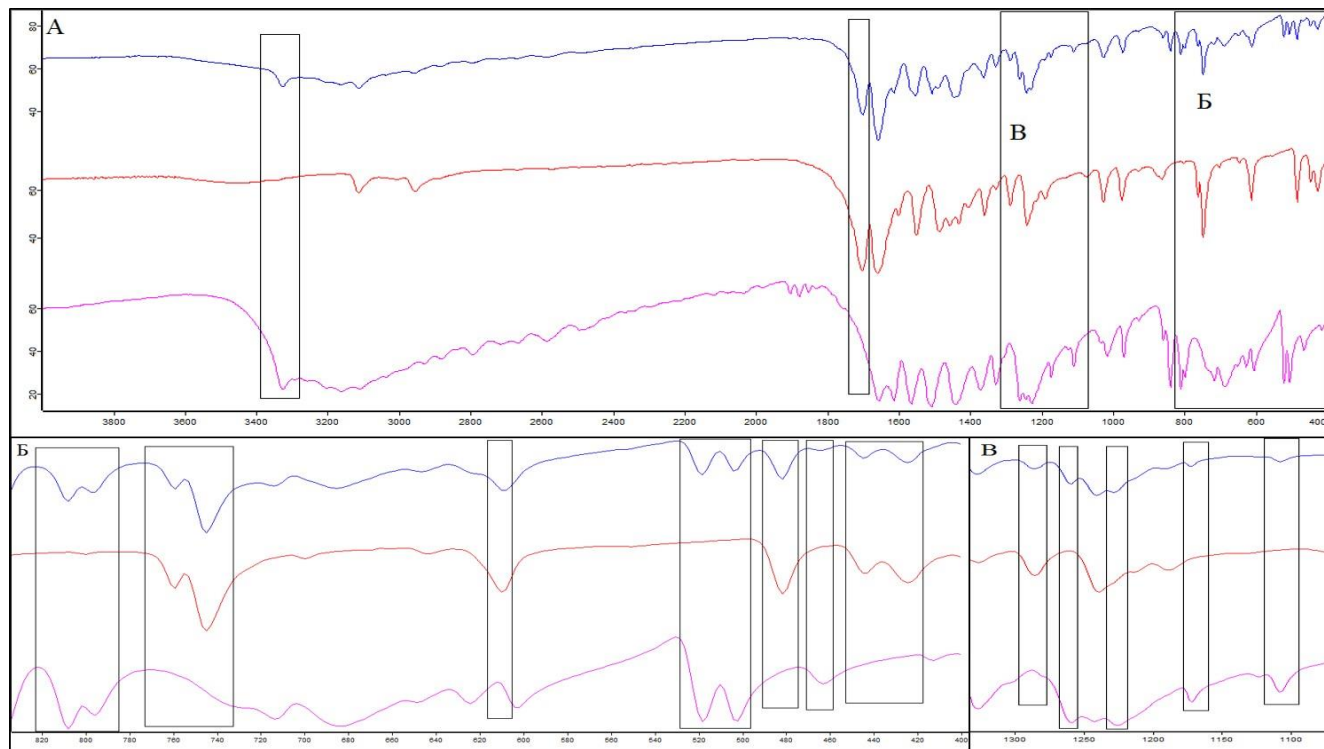


Рисунок 7. ИК-спектры модельной смеси кофеин-парацетамол 0,5:0,5 (синий), кофеина (красный), парацетамола (розовый): А – интервал (4000-400) см^{-1} , Б – увеличенный участок (820-400) см^{-1} , В – увеличенный участок (1350-1050) см^{-1} .

Таблица 9 – Характеристики ИК-спектра модельной смеси кофеин-парацетамол (0,5:0,5) и соотношение его полос поглощения

Максимумы поглощения λ , см^{-1}	Соотнесение полос поглощения	
<u>3326, 3290, 3257, 3202, 3162, 3112, 3034, 2957, 2880, 2794, 2716, 2667, 2586, 2495, 1904, 1877, 1853, 1699, 1655, 1612, 1552, 1506, 1487, 1442, 1360, 1327, 1285, 1260, 1240, 1228, 1191, 1172, 1107, 1025, 971, 926, 858, 837, 808, 797, 759, 745, 714, 686, 647, 609, 518, 503, 482, 464, 444, 424</u>	2957, 1699, 1552, 1487, 1360, 1285, 1191, 1025, 759, 745, 609, 482, 444, 424	Кофеин
	<u>3326, 3290, 3257, 3202, 3162, 3034, 2880, 2794, 2716, 2667, 2586, 2495, 1904, 1877, 1853, 1612, 1506, 1442, 1327, 1260, 1228, 1172, 1107, 837, 808, 714, 686, 518, 503, 464</u>	Парацетамол
	1655, 1240, 971, 926, 858, 797, 647	Общие полосы поглощения

Изучение суммарных ИК-спектров некоторых серийно выпускаемых ГЛС показало, что их индивидуальные особенности позволяют устанавливать подлинность ГЛС. Кроме того, установлено, что, в отличие от УФ-спектров, полосы поглощения вспомогательных веществ на ИК-спектре могут быть маркером подлинности ГЛС соответствующего производителя (табл. 10, рис. 8).

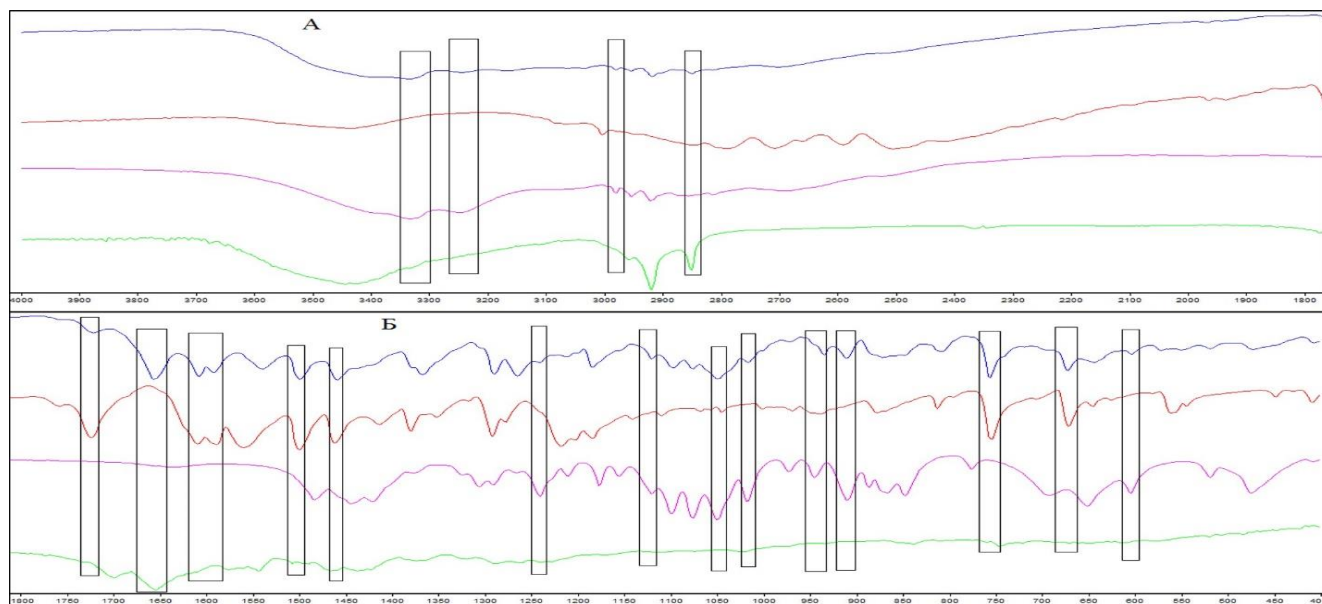


Рисунок 8. ИК-спектры препарата «Циклоферон» (синий), акридонуксусной кислоты (красный), N-метилглюкамина (розовый), модельной смеси без АФС (зеленый): А – диапазон (4000-1800) см^{-1} , Б – диапазон (1800-400) см^{-1} .

Таблица 10 – Характеристики ИК-спектров АФС, модельной смеси наполнителей и лекарственного препарата «Циклоферон»

Максимумы поглощения λ , см^{-1}	Соотнесение полос поглощения	
<u>3334, 3244, 2979, 2953, 2918, 2849, 2813, 2700, 1967, 1722, 1656, 1608, 1592, 1539, 1499, 1459, 1366, 1289, 1265, 1241, 1211, 1184, 1120, 1097, 1075, 1049, 1016, 972, 935, 910, 873, 848, 808, 755, 672, 643, 603, 571, 548, 518, 473, 406</u>	1967, 1722, 1608, 1592, 1499, 935, 873, 755, 643, 548	Акридонуксусная кислота
	<u>3334, 3244, 2979, 2953, 2813, 2700, 1211, 1120, 1097, 1075, 1016, 910, 848, 603, 473</u>	N- метилглюкамин
	2918, 1459, 1289, 1265, 1241, 1184, 1049, 972, 808, 672, 518, 406	Общие полосы поглощения
	2849 (<i>кальция стеарат</i>), 1656 (<i>пропиленгликоль, повидон</i>), 1539(<i>кальция стеарат</i>), 1366 (<i>повидон</i>), 570 (<i>повидон</i>)	Вспомогательные вещества

Соотнесение полос поглощения ИК-спектров препарата «Циклоферон», входящих в его состав фармацевтических субстанций (акридонуксусная кислота и N-метилглюкамин), модельной смеси вспомогательных веществ (рис. 8 и табл. 10) показало, что ИК-спектр препарата отражает аддитивность полос поглощения индивидуальных субстанций (в соотношении 0,5:0,5) и может быть использован в качестве показателя подлинности ГЛС. Одновременно на суммарном ИК-спектре препарата выявлены полосы поглощения вспомогательных веществ, несмотря на низкую массовую долю в препарате, что может быть использовано для выявления фальсификации продукции.

Изучение суммарных ИК-спектров некоторых ГЛС, имеющих аналогичный состав, показало, что они практически идентичны, несмотря на некоторую разницу в количественном содержании активных фармацевтических субстанций. Из этого следует, что суммарные ИК-спектры позволяют установить состав анализируемого ЛС. Однако определить производителя ГЛС по суммарным ИК-спектрам в случае фальсификации не

всегда представляется возможным, так как отечественные фармацевтические предприятия зачастую используют однотипный набор вспомогательных веществ (рис. 9).

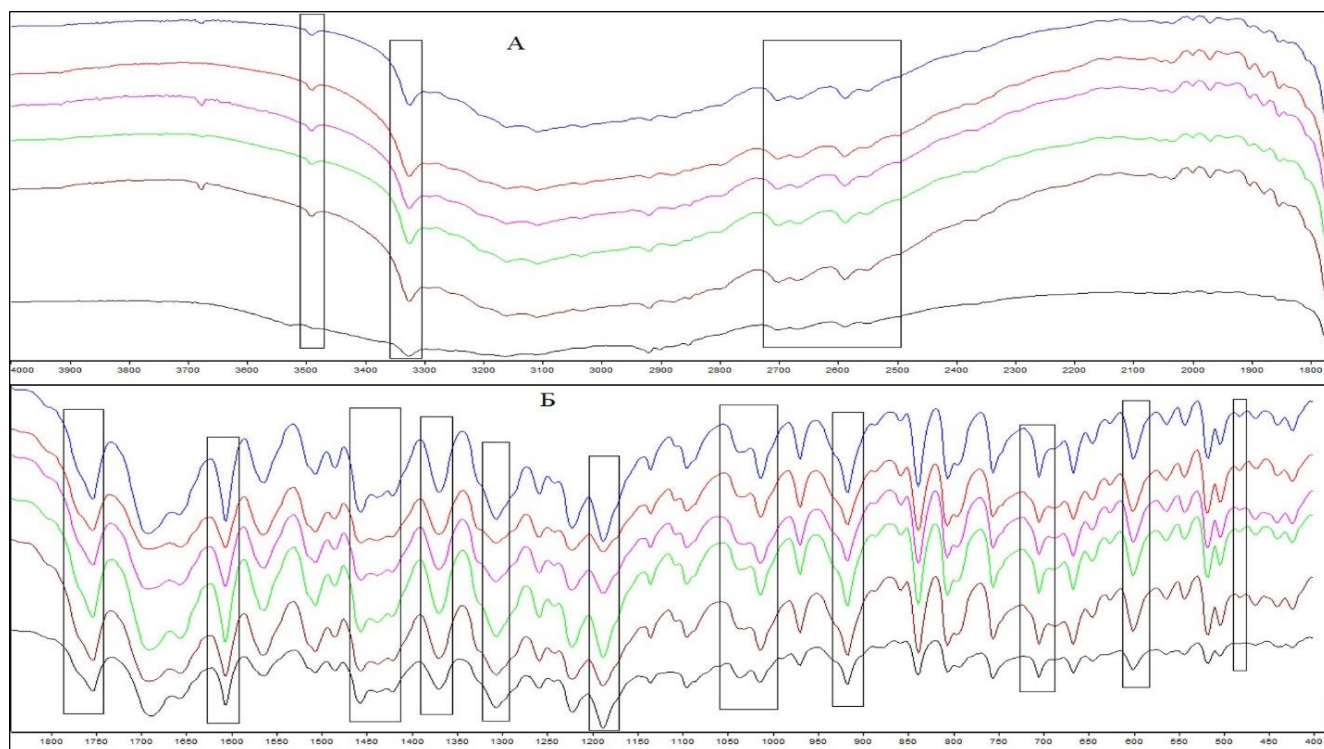


Рисунок 9. ИК-спектры таблеток «Аскофен П» (синий), «Мигренол Экстра» (красный), «Цитрамон Медисорб» (розовый), «Цитрамон Татхимфарм» (зеленый), «Цитрамон Фармстандарт» (коричневый), «Цитрамон Ультра» (черный). А – диапазон (4000-1800) см^{-1} , В – диапазон (1800-400) см^{-1} .

Дальнейшее совершенствование метода ИК-спектроскопии привело к созданию на принципах ИК-спектроскопии метода нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО) с использованием для измерения ИК- спектров того же диапазона длин волн (4000-650) см^{-1} . Достоинством этого метода является упрощение пробоподготовки и экспрессность установления состава и структуры анализируемых образцов.

Для изучения возможности использования ИК-спектров НПВО для контроля ГЛС нами были получены и сравнены ИК-спектры, измеренные методами пропускания и НПВО, на примере таблеток «Парацетамол экстра таб» (рис. 10). Установлено, что ИК-спектры, полученные пропусканием и НПВО, в целом имеют сходный характер, особенно в области от 2000 до 650 см^{-1} . Поэтому ИК-спектры НПВО могут служить хорошим дополнением для идентификации ГЛС с помощью суммарных ИК-спектров пропускания. Относительная интенсивность отдельных полос поглощения в ИК-спектрах НПВО отличается от таковой в ИК-спектрах пропускания, что совпадает с данными литературы. Следует отметить, что, несмотря на отсутствие поглощения калия бромидом на ИК-спектрах НПВО в диапазоне длин волн от 4000 до 2000 см^{-1} , эта область не может быть использована для фармацевтического анализа, так как поглощение в ней имеет низкие значения (пропускание около 100%).

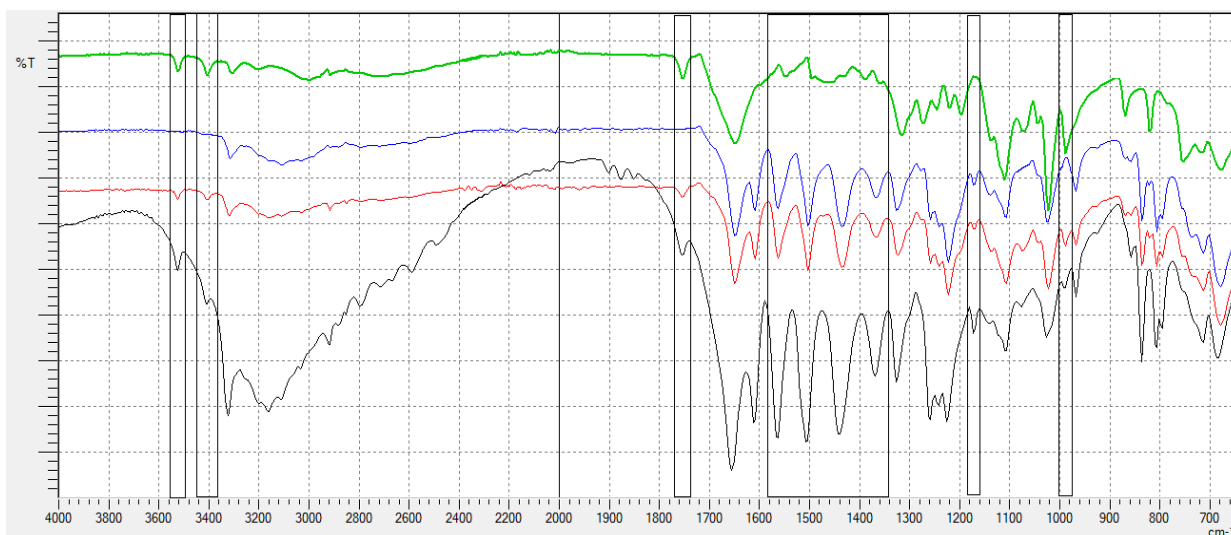


Рисунок 10. ИК-спектры таблеток «Парацетамол экстра таб»: метод пропускания (черный), НПВО «красный»; фармацевтических субстанций парацетамола НПВО (синий); аскорбиновой кислоты НПВО (зеленый).

Таким образом, на основании выполненных исследований показана возможность использования суммарных ИК-спектров (пропускания и НПВО) многокомпонентных лекарственных препаратов для установления подлинности.

Ограничением для использования суммарных ИК-спектров для установления подлинности ГЛС сложного состава может быть чувствительность метода, которая составляет 20% от суммарного содержания действующих веществ в многокомпонентных твердых лекарственных средствах. При меньшем содержании АФС полосы поглощения на суммарном ИК-спектре отсутствуют, маскируются более интенсивными или проявляются с низкой высотой пиков.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Показана возможность использования суммарных УФ-спектров поглощения для определения подлинности АФС в многокомпонентных ГЛС, так как они носят индивидуальный характер в зависимости от состава ЛС. Показана возможность повысить надёжность идентификации многокомпонентных ГЛС по суммарным УФ-спектрам с помощью их дополнительных характеристик (производной второго порядка и интегральной интенсивности УФ-спектров).

2. Валидационная оценка показала стабильность величины интегральной интенсивности для двух- и трёхкомпонентных модельных смесей АФС и исследуемых ГЛС и возможность проводить первичную оценку их количественного содержания по данному показателю при нормативном содержании.

3. Установлена подлинность исследованных многокомпонентных твёрдых ГЛС, содержащих акридонуксусную кислоту, аскорбиновую кислоту, ацетилсалициловую

кислоту, кофеин, N-метилглюкамин и парацетамол, по содержанию АФС и вспомогательных веществ с помощью суммарных ИК-спектров пропускания и НПВО.

4. Сформирован банк суммарных УФ-, ИК-спектров (пропускания и НПВО), производных суммарных УФ-спектров некоторых многокомпонентных ГЛС, содержащих акридонуксусную, аскорбиновую, ацетилсалициловую кислоты, кофеин, N-метилглюкамин, парацетамол, который может быть использован в контроле их качества как в условиях промышленного предприятия, так и контрольно-аналитических служб России.

5. Разработаны методики и рекомендации по идентификации состава многокомпонентных твердых ГЛС с помощью суммарных УФ-спектров и результатов их математической обработки и ИК-спектров пропускания и НПВО.

6. Разработан алгоритм подготовки многокомпонентных стандартных образцов для измерения стандартных суммарных УФ- и ИК-спектров ГЛС сложного состава для включения в банк данных и нормативную документацию на лекарственное средство в раздел «Подлинность».

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Саушкина, А.С. Идентификация некоторых лекарственных препаратов сложного состава, содержащих парацетамол, методом ИК-спектromетрии. / А.С. Саушкина, Л.Н. Зинчук, **М.А. Денисов**, В.А. Шокуров и др. // Фармация и Фармакология. – 2017. – №1. – С. 12-22.

2. Тихонова, В.В. Определение валидационных характеристик рамановских спектров и интегральной интенсивности УФ-спектров модельных смесей, содержащих парацетамол / В.В. Тихонова, **М.А. Денисов**, Саушкина А.С. // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2021. – Т. 24. – № 9. – С. 46-56.

3. Саушкина, А.С. Изучение возможности идентификации некоторых готовых лекарственных форм методом ИК-спектromетрии. / А.С. Саушкина, Л.Н. Зинчук, **М.А. Денисов** // Материалы IV Всероссийской научно-практической конференции «Беликовские чтения», 1-2 декабря, 2015 г. – Пятигорск: РИА на Кавминводах, 2015. – С. 43-45.

4. Саушкина, А.С. Использование инфракрасной и ультрафиолетовой спектromетрии для идентификации лекарственных средств сложного состава. / А.С. Саушкина, **М.А. Денисов** // Сборник материалов III Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Инновации в здоровье нации» Санкт-Петербург, 2015 г. – СПб: Изд-во СПХФА, 2015. – С. 383-385.

5. Саушкина, А.С. Использование УФ-спектров лекарственных препаратов сложного состава для выявления фальсификации / А.С. Саушкина, **М.А. Денисов**, Э.В. Романова, И.Е. Горюнова // Научный альманах. – 2017. – №30. – С. 254-258.

6. Денисов, М.А. Применение ИК-спектроскопии для качественного экспресс-анализа на примере лекарственных средств, в состав которых входит парацетамол. / **М.А. Денисов**, А.С. Саушкина, Л.Н. Зинчук, Л.А. Гаврилов и др. // Материалы итоговой научной конференции – XLII Огаревских чтений, 6-13 декабря 2018 г. – Саранск: Изд-во Мордов. ун-та, 2019. – с.244-247.

7. Денисов, М.А. Изучение возможности использования суммарных УФ-спектров для идентификации лекарственных препаратов. / **М.А. Денисов**, А.С. Саушкина // Сборник материалов VIII Всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего», Санкт-Петербург, 23-24 апреля 2018 г. – СПб: Изд-во СПХФУ, 2018. – С. 590-593.

8. Денисов, М.А. Применение УФ-спектроскопии для качественного экспресс-анализа двухкомпонентных лекарственных средств. / **М.А. Денисов**, А.С. Саушкина // Материалы VI Всероссийской научно-практической конференции «Беликовские чтения», 2018 г. – Пятигорск: РИА на Кавминводах, 2018. – с.19-24.

9. Денисов, М.А. Применение ИК-спектроскопии для качественного экспресс-анализа на примере таблетированных лекарственных средств ООО НТФФ «Полисан». / **М.А. Денисов**, А.С. Саушкина, Л.Н. Зинчук // Материалы VII Всероссийской научно-практической конференции «Беликовские чтения», 2019 г. – Пятигорск: РИА на Кавминводах, 2019. – с.197-202.

10. Денисов, М.А. Идентификация таблеток «Паноксен» методом инфракрасной спектроскопии и производной ИК-спектроскопии. / **М.А. Денисов**, А.С. Саушкина, Л.А. Гаврилов. // Материалы международной конференции, посвященной 60-летию фармацевтического факультета учреждения образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет» «Современные достижения фармацевтической науки и практики», 2019 г. – Витебск: ВГМУ, 2019. – с.190-193.

11. Денисов, М.А. Экспресс-анализ лекарственных средств методом инфракрасной спектроскопии. / **М.А. Денисов**, Л.А. Гаврилов, А.С. Саушкина, Л.Н. Зинчук // Материалы 72-й международной научно-практической конференции «Во имя жизни и здоровья» 2019 г. – Пятигорск: РИА на Кавминводах, 2019. – с.185-191.

12. Денисов, М.А. Применение ИК-спектроскопии для качественного экспресс-анализа на примере лекарственных средств, в состав которых входит парацетамол и ибупрофен. / **М.А. Денисов**, Л.А. Гаврилов, А.С. Саушкина // Сборник материалов IX

Всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего», Санкт-Петербург, 22-23 апреля 2019 г. – СПб: Изд-во СПХФУ, 2019. – С. 90-93.

13. Денисов, М.А. Идентификация таблеток «Винпотропил» методом инфракрасной спектроскопии и производной ИК-спектроскопии. / **М.А. Денисов**, А.С. Саушкина, Л.А. Гаврилов // Сборник материалов VII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Инновации в здоровье нации» Санкт-Петербург, 2019 г.– СПб: Изд-во СПХФУ, 2019. – С. 159-162.