

На правах рукописи



ШИЛОВА АННА ВЛАДИМИРОВНА

**ВЫБОР УСЛОВИЙ
СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОГО АНАЛИЗА СМЕСЕЙ
(ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ) С ПРИМЕНЕНИЕМ
МАТЕМАТИЧЕСКОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ**

02 00 02 – аналитическая химия

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

18 СЕН 2008

Томск – 2008



Работа выполнена на кафедре аналитической химии Омского государственного университета им. Ф М Достоевского

Научный руководитель кандидат химических наук, доцент
Власова Ирина Васильевна

Официальные оппоненты доктор химических наук,
Романенко Сергей Владимирович
кандидат химических наук,
Гавриленко Наталья Айратовна

Ведущая организация Пятигорская государственная
фармацевтическая академия

Защита состоится 8 октября 2008 г в 14.30 часов на заседании совета по защите докторских и кандидатских диссертаций Д 212.269 04 при Томском политехническом университете по адресу. 634050, г Томск, пр Ленина, 30, ТПУ, 2 корпус, химико-технологический факультет

С диссертацией можно ознакомиться в научно-технической библиотеке Томского политехнического университета по адресу: 634050, г Томск, ул. Белинского, 53

Автореферат разослан « 1 » сентября 2008 г.

Ученый секретарь совета Д 212 269.04
кандидат химических наук, доцент

 Т.М Гиндуллина

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность. Среди различных направлений современной аналитической химии все большее значение приобретает анализ многокомпонентных смесей органических веществ. Спектрофотометрическое определение компонентов без их предварительного разделения значительно сокращает продолжительность анализа смеси и нередко повышает его точность. Особое значение в последние годы приобрели методы анализа лекарственных препаратов, это связано с появлением большого количества новых лекарств, а также с наплывом на фармацевтический рынок фальсифицированной или некачественной продукции. Требуется всесторонний контроль состава лекарств, а, следовательно, разработка новых точных, высокочувствительных, экспрессных и недорогих методик анализа соответствующих смесей.

Для спектрофотометрического анализа смесей при наложении полос поглощения компонентов используют метод Фирордта (МФ). Он применяется и в фармацевтическом анализе, но не получил широкого распространения, так как относительная погрешность результата довольно велика (порядка 10 %) и быстро растет при усложнении состава смеси. Традиционным ограничением МФ является требование идеальной аддитивности светопоглощения компонентов, т.е. оптическая плотность смеси при любой длине волны должна равняться сумме оптических плотностей компонентов, измеренных порознь. В реальных условиях могут наблюдаться отклонения от аддитивности (ΔA), в том числе статистически значимые, вызванные систематически действующими факторами «Факторами неаддитивности» могут быть химическое или сольватационное взаимодействие компонентов, влияние примесей, неверная градуировка измерительной аппаратуры и др. В случае анализа многокомпонентных лекарственных препаратов неаддитивность может быть связана с присутствием наполнителей и/или с образованием ионных ассоциатов. Каков бы ни был механизм возникновения значимых отклонений от аддитивности, применение МФ к анализу соответствующих смесей должно вести к результатам, отягощенным систематическими погрешностями. Хотя проблеме повышения точности МФ посвящен ряд работ (И. Г. Перьков, А. И. Гризодуб, М. Г. Левин, А. В. Дрозд и др.), при выборе аналитических длин волн (АДВ) отклонения от аддитивности учитывают редко, детальные исследования в этой области не проводились.

Цель работы. Цель данного исследования – изучить применимость метода Фирордта к анализу смесей, спектры которых могут содержать отклонения от аддитивности. Результаты такого исследования могли бы привести к расширению границ применимости МФ, повышению его точности (за счет оптимизации условий анализа и др.), а также к разработке новых методик анализа реальных объектов (лекарственных препаратов сложного состава)

В рамках данного исследования следовало решить следующие *частные задачи*.

- проверить, встречаются ли в УФ спектрах поглощения смесей, традиционно анализируемых по МФ, статистически значимые отклонения от аддитивности,
- разработать алгоритм прогнозирования погрешностей анализа, связанных с такими отклонениями,
- предложить алгоритм выбора АДВ, минимизирующий погрешности анализа. Такой алгоритм должен учитывать не только коэффициенты поглощения компонентов и случайные погрешности оптических измерений, но и отклонения от аддитивности,
- проверить возможность повышения точности спектрофотометрического анализа смесей по МФ за счет использования нескольких разных наборов АДВ, с последующим усреднением результатов,
- исследовать влияние соотношения концентраций компонентов на точность результатов анализа смеси,
- с учетом полученных результатов выработать практические рекомендации, разработать новые методики анализа и апробировать их в анализе лекарственных препаратов

Объекты исследования – органические соединения, обладающие биологической активностью, а именно, анальгин (Ан), кофеин (Кф), хинина гидрохлорид (ХГ), парацетамол (Пр), папаверина гидрохлорид (ПГ), дибазол (Дб) и др., а также модельные двухкомпонентные смеси этих веществ. Выбор модельных веществ обусловлен их широким применением в фармации и характеристиками поглощения в УФ области спектра. Основным *способом исследований* в данной работе стало математическое моделирование погрешностей определения компонентов двухкомпонентных смесей при разной величине отклонений от аддитивности. Учитывались также уровень и характер распределения случайных погрешностей.

Тематика работы зарегистрирована во ВНИЦентре (№ ГР 01 200.2 04679), исследования выполнялись при финансовой поддержке Министерства науки и образования (единый заказ-наряд) и Федеральной целевой программы “Интеграция”

Научная повизна

1 Установлено, что в спектрах некоторых смесей органических веществ, моделирующих состав известных лекарственных препаратов, имеются участки со статистически значимыми отклонениями от аддитивности

2 Разработан алгоритм прогнозирования возможности анализа смесей по методу Фирордта на одном наборе АДВ с погрешностями, не превышающими заданный предел

3 Предложен, теоретически обоснован и проверен новый способ выбора АДВ, позволяющий минимизировать погрешности анализа, связанные с отклонениями от аддитивности. Способ применим при разном соотношении концентраций компонентов, а также в тех случаях, когда отклонения имеют случайный характер

4 Установлено, что результаты анализа одной и той же смеси, полученные на разных наборах АДВ, составляют нормально распределенную генеральную совокупность, причем наличие в спектре смеси участков с отклонением от аддитивности не меняет характера распределения результатов.

5 Предложен новый способ повышения точности анализа смесей по методу Фирордта – усреднение результатов, полученных с применением ряда ранее отобранных наборов АДВ

Практическая значимость. Разработана программа для быстрого поиска оптимальных условий анализа двухкомпонентных смесей по МФ. Разработаны методики одновременного определения двух активных компонентов в серийно выпускаемых лекарственных препаратах «Солпадеин», «Тетралгин», «Папазол-УБФ», «Панадол-ЭКСТРА» и «Анальгин-хинин» При использовании трех наборов АДВ относительная погрешность результатов анализа (порядка 1 %) достоверно меньше, чем у методик, ныне используемых для анализа тех же препаратов. Разработанные методики могут быть использованы в контроле производства лекарственных препаратов и при их сертификации

Положения, выносимые на защиту:

1 Возможность применения метода Фирордта к анализу смесей, в спектре которых имеются статистически значимые отклонения от аддитивности

2 Алгоритм оптимизации условий анализа смеси по методу Фирордта с учетом отклонений от аддитивности

3 Алгоритм прогнозирования возможности одновременного определения компонентов с погрешностями, не большими заданного предела

4 Способ повышения точности анализа смесей по методу Фирордта, основанный на совместном использовании нескольких наборов АДВ

5 Методики спектрофотометрического анализа лекарственных препаратов, содержащих два одновременно определяемых активных компонента

Апробация работы. Основные результаты работы доложены на Всероссийской конференции «Аналитика России – 2004» (Москва, 2004), на VII конференции «Аналитика Сибири и Дальнего Востока» (Новосибирск, 2004), на Всероссийской конференции «Менделеевские чтения» (Тюмень, 2005), на III Всероссийской научной молодежной конференции «Под знаком сигма» (Омск, 2005), на 1-м Международном форуме «Актуальные проблемы современной науки» (Самара, 2005), на Международном конгрессе по аналитической химии ICAS-2006 (Москва, 2006), на Всероссийской конференции «Аналитика России-2007» (Краснодар, 2007), на сессии Научного Совета Национальной академии наук Украины по проблеме «Аналитическая химия» (Харьков, 2007)

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 12 работ в виде статей и тезисов докладов

Объем и структура работы. Диссертация состоит из введения, 4 глав, заключения, выводов, списка литературы (149 наименований) и 5 приложений. Работа изложена на 133 страницах текста (с учетом приложений), содержит 20 рисунков, 26 таблиц. Во введении кратко обоснована актуальность выполняемой работы, сформированы цель и задачи исследования. Первая глава представляет собой обзор литературы по спектрофотометрическим методам определения индивидуальных веществ в неразделенных смесях, в частности, в многокомпонентных лекарственных препаратах. Во второй главе теоретически

обоснованы новые алгоритмы анализа смесей по методу Фирордта, приведены результаты их проверки в компьютерном эксперименте В третьей главе описаны методики и результаты проверки предложенных алгоритмов при различном составе модельных смесей В четвертой главе описаны методики анализа лекарственных препаратов, разработанные с учетом результатов, полученных на модельных смесях аналогичного состава Сопоставлены метрологические характеристики разработанных и известных методик

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Выбор модельных объектов. Методики измерений. Объектами исследования являлись двухкомпонентные смеси ряда органических соединений, взятых попарно в различных массовых соотношениях При выборе этих соединений руководствовались их оптическими свойствами, применением в производстве лекарственных препаратов, растворимостью в воде и химической инертностью по отношению ко второму компоненту Соотношения компонентов задавали с учетом состава серийно выпускаемых лекарственных препаратов (табл 1)

Таблица 1

Состав модельных смесей

Компоненты	Массовое соотношение	Моделируемый препарат
Анальгин (Ан) – хинина гидрохлорид (ХГ)	от 10 1 до 1 1	«Анальгин-хинин» (4 1)
Кофеин (Кф) – анальгин (Ан)	от 10 1 до 1 10	«Тетралгин» (1 6)
Кофеин (Кф) – парацетамол (Пр)	от 1 1 до 1 20	«Панадол-ЭКСТРА» (1 8) «Солпадеин» (1 17)
Папаверина гидрохлорид (ПГ) – дибазол (Дб)	от 2 1 до 1 12	«Папазол-УБФ» (1 1)

Для приготовления смесей использовали реактивы х ч Исходные растворы готовили растворением точной навески (~ 0,05 г) реактива в 250,0 мл дистиллированной воды Рабочие растворы и модельные смеси готовили ежедневно путем разбавления Концентрации компонентов в модельных растворах составляли 10^{-5} – 10^{-6} моль/л Соотношения концентраций подбирали так, чтобы вклады компонентов в оптическую плотность смеси на аналитических длинах волн превышали утроенное стандартное отклонение оптической плотности смеси

Спектры растворов снимали на спектрофотометре СФ-2000-01, в кварцевой кювете ($l = 10,0$ мм), в диапазоне 220–350 нм, раствор сравнения – дистиллированная вода

Все отобранные соединения поглощают свет в УФ области спектра, причем областей индивидуального поглощения компоненты соответствующих смесей не имеют. Нарушения закона Бугера–Ламберта–Бера для растворов модельных соединений выявлены не были

Молярные (ϵ) и удельные (k) коэффициенты поглощения модельных соединений вычисляли для разных длин волн, с шагом 5 нм Молярные коэффициенты поглощения разных соединений при λ_{max} близки между собой (значения $lg \epsilon$ порядка 3,8 – 4,4) Для обеспечения большей точности использовали данные, полученные в ходе многократных измерений, при трех разных концентрациях Измерения оптической плотности ($0,1 < A < 0,7$) на фиксированной длине волны характеризуются нормальным распределением случайных погрешностей, при $n = 5$, $S_r \leq 0,003$ Статистическую обработку результатов проводили традиционными методами, предполагающими нормальное распределение случайных погрешностей Доверительные интервалы рассчитывали для $P = 0,95$ по 3 или 5 параллельным измерениям В расчетах преимущественно применяли удельные коэффициенты поглощения (k , мл · мг⁻¹ · см⁻¹), а концентрации растворов выражали в мг/л (мкг/мл) Отметим, что в Государственной Фармакопее РФ под удельными коэффициентами понимается оптическая плотность раствора, содержащего 1 г вещества в 100 мл раствора

Значимость отклонений от аддитивности. Следовало проверить, имеются ли в спектрах модельных смесей участки со статистически значимыми отклонениями от аддитивности Для проверки в области 220–300 нм многократно регистрировали спектры поглощения модельных смесей и их компонентов по отдельности Для каждой смеси веществ $X + Y$ вычисляли отклонения от аддитивности на разных длинах волн A именно, $\Delta A = A_{X+Y} - (A_X + A_Y)$ Величину ΔA сопоставляли с утроенным стандартным отклонением выборки, содержащей значения оптической плотности ($n = 5$) той же смеси на той же длине волны, при повторном приготовлении и фотометрировании растворов. Выполнение неравенства $\Delta A > 3 S$ свидетельствовало о статистической значимости отклонения ($\alpha < 0,01$) Таким образом, было исследовано 47 модельных смесей разного качественного и количественного состава В спектрах большинства смесей участки со значимыми отклоне-

ниями обнаружены не были. Примерами могут быть смеси ХГ–Ан (1 4) или Пр–Кф (1 8). Участки со значимыми (как правило, положительными) отклонениями от аддитивности были обнаружены в спектрах следующих смесей ПГ–Дб (1 1 и 1 4), Кф–Ан (2 1, 4 1 и 6 1). Конкретные причины возникновения отклонений в каждой системе требуют отдельного исследования, в рамках данной работы они не изучались. Химические взаимодействия между компонентами модельных смесей в условиях анализа в литературе не описаны.

Компьютерный эксперимент показал, что даже небольшие (порядка 5% по модулю), но хорошо воспроизводимые отклонения от аддитивности на аналитических длинах волн могут приводить к значительным (до 20% по модулю) систематическим погрешностям при расчете концентраций компонентов.

Возможность определения компонентов с применением одного набора АДВ. При разработке методик анализа бинарных смесей важно заранее выяснить, удастся ли определить с требуемой точностью оба компонента на одном (общем) наборе АДВ или придется подбирать оптимальные наборы АДВ для каждого компонента отдельно. Нужен алгоритм, позволяющий предсказать, будут ли концентрации C_X и C_Y определяться с необходимой точностью *одновременно*. Искомые критерии можно вывести методами аналитической геометрии. Примем следующие ограничения:

- компоненты смеси (X и Y) растворимы, их растворы устойчивы во времени и подчиняются закону Бугера–Ламберта–Бера, значения ионной силы, рН и температуры постоянны,
- погрешности определения коэффициентов поглощения X и Y пренебрежимо малы по сравнению с отклонениями от аддитивности,
- вклады обоих компонентов в поглощение смеси при любых АДВ статистически достоверны, то есть области индивидуального поглощения компонентов отсутствуют.

В МФ содержания компонентов C_X и C_Y определяют, решая систему уравнений

$$\begin{cases} a_1 l C_X + b_1 l C_Y = A_1 \\ a_2 l C_X + b_2 l C_Y = A_2 \end{cases} \quad (1)$$

Здесь a_1, a_2, b_1, b_2 – молярные коэффициенты поглощения веществ X и Y на 1-ой и 2-ой длинах волн, l – толщина кюветы. Если измеренные в ходе анализа значения оптической плотности смеси

(A_i^*) содержат статистически значимые отклонения от аддитивности $\Delta A_i = A_i^* - A_i$ (они могут быть как положительными, так и отрицательными), поглощение смеси описывается системой уравнений (2)

$$\begin{cases} a_1 \text{ l } C_X^* + b_1 \text{ l } C_Y^* = A_1 + \Delta A_1 \\ a_2 \text{ l } C_X^* + b_2 \text{ l } C_Y^* = A_2 + \Delta A_2 \end{cases} \quad (2)$$

Найденные при решении системы (2) концентрации C_X^* и C_Y^* будут отличаться от истинных на ΔC_X и ΔC_Y Графическое решение систем (1) и (2) представлено на рис 1

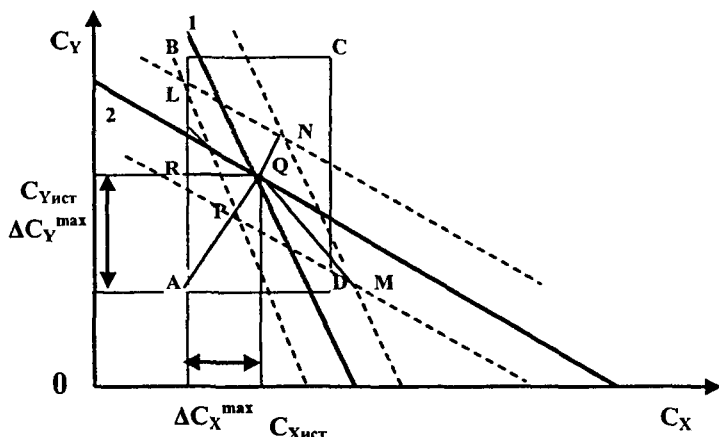


Рис. 1. Графическое представление решений систем уравнений (1) и (2)

Каждая из систем уравнений задает пару прямых на плоскости $C_X O C_Y$, причем пунктирные прямые, заданные системой (2), параллельны сплошным прямым, заданным системой (1) Точка Q (пересечение прямых 1 и 2) соответствует истинным значениям концентраций $C_{Xист}$ и $C_{Yист}$ Если максимальные абсолютные погрешности определения X и Y соответственно равны ΔC_X^{max} и ΔC_Y^{max} , область допустимых значений C_X^* и C_Y^* представляет собой прямоугольник ABCD с центром в точке Q Решение системы (2) приемлемо только тогда, когда соответствующая ему точка N будет лежать в прямоугольнике ABCD (положение точки N на рис.1 иллюстрирует случай, когда отклонения от аддитивности на обоих АДВ положительны) Таким образом, можно существенно сузить поиск АДВ, сравнивая длины отрезка NQ с отрезками AQ и RQ

Длину отрезка AQ (половину диагонали фигуры ABCD) найдем по теореме Пифагора

$$AQ = \sqrt{(\Delta C_Y^{\max})^2 + (\Delta C_X^{\max})^2} \quad (3)$$

Если относительные погрешности определения обоих компонентов не должны превышать (по модулю) один и тот же заданный предел δC^{\max} , а компонент Y в бинарной смеси находится в m -кратном избытке ($C_Y = mC_X$), то получаем

$$\Delta C_X^{\max} = \delta C^{\max} C_X, \quad (4a)$$

$$\Delta C_Y^{\max} = m \delta C^{\max} C_X \quad (46)$$

Подстановка (4a) и (46) в (3) приводит к выражению

$$AQ = \delta C^{\max} C_X \sqrt{1+m^2} \quad (5)$$

Длину отрезка NQ можно вычислить, зная коэффициенты a_1, a_2, b_1, b_2 , а также отклонения от аддитивности ΔA_1 и ΔA_2

$$NQ = |t^{-1}| \sqrt{(\Delta A_1 a_2 + \Delta A_2 a_1)^2 + (\Delta A_1 b_1 + \Delta A_2 b_2)^2}, \quad (6)$$

где $t = (a_2 b_1 - a_1 b_2)^2$

Формулу (6) мы получили, выражая сдвиги прямых 1 и 2 через отклонения от аддитивности, рассматривая ряд треугольников, применяя теорему косинусов и, наконец, проводя необходимые алгебраические преобразования. Детальный вывод формулы (6) приведен в диссертации, глава 2.

Сравнивая длину отрезка NQ с AQ и RQ, сформулируем следующие условия

А) Если $NQ < RQ$, оба компонента определяются с погрешностями, меньшими δC^{\max}

Это приводит к первому, строгому критерию

$$NQ < \delta C^{\max} \cdot C_X \quad (7)$$

Отклонения от аддитивности, соответствующие условию (7), являются «приемлемыми» и не мешают одновременному определению компонентов с заданной степенью точности

Б) если $NQ > AQ$, то оба компонента будут определяться с относительной погрешностью, превышающей заданный уровень δC^{\max}

Сопоставление NQ и AQ с учетом формулы (5) дает второй искомым критерий

$$NQ > \delta C^{\max} C_X \sqrt{1+m^2} \quad (8)$$

Формула (8) показывает, что возможность одновременного определения обоих компонентов смеси по МФ с требуемой точностью зависит от соотношения компонентов, т. е. от m . Это приводит к необходимости подбирать (при больших m) оптимальные наборы АДВ отдельно для каждой смеси

Аналогичные выводы справедливы для диагонали MQ

Если на длинах волн λ_1 и λ_2 , выбранных по общепринятым критериям МФ (например, максимальная разность отношений коэффициентов поглощения на двух длинах волн $\frac{a_1}{b_1} - \frac{a_2}{b_2}$), выполняется од-

но из условий, (7) или (8), то, поскольку спектр поглощения непрерывен, на длинах волн, близких к λ_1 и λ_2 , а точнее, имеющих близкие коэффициенты поглощения, это условие также будет выполняться

Проверку предложенного алгоритма проводили на смесях разного качественного и количественного состава. Соответствующие расчеты выполняли с помощью пакета программ «Excel» Наборы АДВ выбирали из областей максимального поглощения определяемых веществ Задавали различные по величине значения ΔA , в т.ч. полученные в эксперименте, и вычисляли диагональ NQ по формуле (6) Затем проверяли выполнение неравенств (7) и (8) Сделанные прогнозы сравнивали с данными о погрешностях, полученными в ходе анализа реальных смесей (метод «введено-найдено») Прогнозы хорошо согласовывались с экспериментом (табл. 2).

Таблица 2

Проверка возможности определения компонентов модельных смесей

Смесь и соотношение X:Y	Прогноз ($\delta C^{max} = 3\%$)		Эксперимент		
	АДВ, нм	Да / нет	АДВ, нм	Реальные погрешности δC , %	
				X	Y
ПГ : Дб (1:1)	230 / 275	да	230 / 275	0,40	2,24
			230 / 280	0,29	2,79
			235 / 275	2,65	0,71
ПГ : Дб (1:10)	230 / 275	нет	230 / 275	-5,65	-4,36
			230 / 280	-6,88	-3,73
			235 / 275	-2,03	-4,61
Кф : Пр (1:8)	250 / 275	да	250 / 275	1,64	-0,20
			245 / 280	1,68	-0,49
			260 / 270	2,71	-0,14

Таким образом, можно считать доказанным, что данный способ прогнозирования позволяет адекватно оценивать возможность анализа двухкомпонентных смесей на общем наборе АДВ с заданной погрешностью. Кроме того, оказалось, что выбор АДВ может зависеть не только от качественного, но и от количественного состава смесей, т.е. от соотношения компонентов, что приводит к необходимости выбора АДВ для каждой конкретной смеси.

Критерии выбора АДВ. Известен целый ряд критериев выбора АДВ, однако все они не учитывают влияния систематически действующих факторов, вызывающих отклонения от аддитивности. Нашей задачей был поиск алгоритма выбора общих наборов АДВ для одновременного определения компонентов бинарных смесей, как в отсутствие, так и при наличии значимых отклонений от аддитивности.

Влияние случайных погрешностей мы предлагаем учитывать, используя для выбора АДВ коэффициенты вариации (W) при многократном измерении оптической плотности смеси на соответствующих длинах волн. Чем меньше будут значения W_1 и W_2 , тем меньше (при прочих равных условиях) случайные погрешности следует ожидать при определении X и Y . Необходимо также учитывать *соотношение коэффициентов поглощения компонентов* на выбранных АДВ. С этой целью можно использовать критерий K_0

$$K_0 = \cos \alpha = \frac{a_1 a_2 + b_1 \cdot b_2}{\sqrt{a_1^2 + b_1^2} \sqrt{a_2^2 + b_2^2}}. \quad (9)$$

В пространстве концентраций величина K_0 соответствует косинусу угла между прямыми (1) и (2), которые описываются уравнениями Фирордта (см. рис. 1). Очевидно, чем ближе к 0 величина K_0 , тем меньше будут при прочих постоянных условиях погрешности определения концентраций. Если отклонения от аддитивности статистически незначимы, мы предлагаем выбирать АДВ с помощью критерия (10), который одновременно учитывает и величину случайных погрешностей, и их соотношение, и значения коэффициентов поглощения

$$K^* = K_0 \sqrt{W_1^2 + W_2^2} \frac{W_1}{W_2}, \quad (10)$$

где W_1, W_2 – коэффициенты вариации при параллельных измерениях оптических плотностей смеси на соответствующих длинах волн (нумерация длин волн такова, что $W_1 > W_2$). Оптимальными будут те наборы АДВ, которым соответствуют наименьшие значения критерия K^* .

Проверку применимости предложенного критерия вели на модельных смесях, для которых отклонения от аддитивности были статистически незначимыми. Расчеты по выбору АДВ выполняли с помощью оригинальной компьютерной программы «Optic-Tablet», использующей пакет Microsoft Excel. В ее основе – последовательный перебор решений системы двух линейных уравнений для разных наборов АДВ. Результатами работы программы являются найденные для всех наборов длин волн значения критерия K^* , концентрации (C_X^* и C_Y^*), а также относительные погрешности определения каждого компонента, δC , %. Как пример, в табл. 3 показана часть результатов для одной смеси, ранжированных в порядке роста критерия K^* . Видно, что наименьшие погрешности определения обоих компонентов отмечаются на наборах длин волн, с малыми значениями K^* (в таблице выделены курсивом), причем потенциально подходящими являются несколько наборов. Аналогичные результаты получены и для других исследованных смесей. В качестве АДВ были выбраны те наборы длин волн, которым соответствовали минимальные значения нового критерия, и именно на них обеспечивались минимальные погрешности определения обоих компонентов.

Таблица 3

**Погрешности определения компонентов в модельной смеси
анальгин – хинина гидрохлорид на разных наборах длин волн,
вычисленные по программе «Optic-Tablet»**

λ_1 , нм	λ_2 , нм	K^*	Найдено, мкг/мл		δC , %	
			ХГ	Ан	ХГ	Ан
235	255	5,8	3,2	12,0	0,1	-0,8
240	260	6,0	3,2	12,7	-0,9	-0,9
235	260	6,1	3,2	12,7	0,4	-1,0
235	250	7,0	3,2	13,0	-0,6	1,2
240	280	7,2	3,0	13,1	-5,0	2,0
265	290	10,9	3,5	12,6	10,4	-1,3
230	300	11,0	2,7	13,9	-14,7	8,3

Действительные значения $C_{ХГ} = 3,2$ мкг/мл, $C_{Ан} = 12,8$ мкг/мл

Приведем в качестве примера результаты определения кофеина в двух смесях, где его содержание в 6–8 раз меньше, чем содержание другого компонента (табл. 4)

**Правильность и прецизионность определения
компонентов модельных смесей на аналитических длинах волн,
выбранных по критерию K^* ($n=3, P=0,95$)**

Смесь	АДВ, нм	Вещество	Введено, мкг/мл	Найдено, мкг/мл	$\delta C, \%$	Sr
1	260, 285	Кофеин	3,2	3,2	0,7	0,09
		Анальгин	19,2	19,3	0,5	0,05
2	250, 265	Кофеин	1,5	1,5	-0,9	0,05
		Парацетамол	12,0	12,1	0,4	0,006

Как видно, даже при 8-кратном избытке одного из компонентов второй может определяться с не меньшей точностью. Аналогичные результаты получены и для других исследованных смесей. Во всех случаях погрешности определения компонентов не превышала 2 % отн., при $S_r \approx 0,05$.

Таким образом, предлагаемый алгоритм выбора АДВ позволяет быстро и эффективно подбирать оптимальные условия анализа смесей, независимо от соотношения компонентов.

Выбор АДВ при наличии значимых отклонений от аддитивности. По литературным данным, для одной и той же системы эффект «неаддитивности» может проявляться в разной степени, в зависимости от выбора длины волны, т.е. $\Delta A = f(\lambda)$. Очевидно, при выборе оптимального набора АДВ надо избегать тех участков спектра, на которых проявляются отклонения от аддитивности, а выбирать такие длины волн, при которых отклонения не наблюдаются или имеют случайный характер. Мы предлагаем выбирать АДВ с помощью эмпирического критерия K , аналогичного критерию K^* . При вычислении K вместо коэффициентов вариации мы использовали относительные отклонения от аддитивности $\delta A = \Delta A / A$.

$$K = K_0 \cdot \sqrt{\delta A_1^2 + \delta A_2^2} \cdot \frac{\delta A_1}{\delta A_2} \quad (11)$$

Индексы расставляют так, чтобы выполнялось условие $|\delta A_1| > |\delta A_2|$. Критерий K может иметь как положительные, так и отрицательные значения. Очевидно, чем меньше будут значения δA и чем ближе их отношение к 1, тем меньшими (по модулю) окажутся значения критерия. Именно эти наборы АДВ и следует брать для проведения анализа. Расчеты критерия (11) и выбор с его помощью опти-

мальных наборов АДВ также выполняли с помощью программы «Optic-tablet».

Таблица 5

**Правильность и прецизионность определения
компонентов модельных смесей на аналитических длинах волн,
выбранных по критерию K ($n = 3, P = 0,95$)**

Смесь	АДВ, нм	Вещество	Введено, мкг/мл	Найдено, мкг/мл	$\delta C, \%$	Sr
1	250, 265	Кофеин	6,4	6,5	1,3	0,05
		Анальгин	3,2	3,2	0,8	0,05
2	230, 280	Папаверин	3,0	3,0	0,9	0,05
		Дибазол	3,0	3,0	-0,3	0,07

Результаты анализа «неаддитивных» модельных смесей на АДВ, выбранных с применением критерия (11), приведены в табл 5. Во всех случаях выбранные АДВ находились вне участков спектра смеси, где отклонения от аддитивности были статистически значимы. Систематические погрешности результатов анализа во всех случаях не превышают 3 % отн. и статистически не значимы.

В ходе исследования модельных смесей было установлено, что критерий K можно использовать и в тех случаях, когда отклонения от аддитивности носят чисто случайный характер, либо включают как случайную, так и систематическую составляющую. Поэтому в работе были представлены результаты, полученные с использованием критерия K .

Использование нескольких наборов аналитических длин волн. В случаях, когда погрешность анализа смеси по МФ оказывается выше допустимой, обычно увеличивают число АДВ в наборе, что ведет к переопределенным системам уравнений, или определяют каждый компонент на своем наборе. Однако возможен и более простой способ. Можно заранее отбирать несколько наборов АДВ, не содержащих избыточных длин волн, а затем усреднять результаты единичных анализов, полученные с помощью разных наборов. При той же точности анализа объем вычислений будет не больше, чем при решении переопределенных систем, а подбор АДВ – проще. Но при этом надо убедиться, что результаты, полученные на выбранных наборах АДВ, не коррелированы между собой и не содержат значимых систематических погрешностей.

Нами было изучено статистическое распределение результатов анализа, полученных с помощью программы «Optic-tablet», на разных наборах длин волн. Близость распределения к нормальному характеризовали с помощью χ^2 -критерия. Во всех случаях, распределение результатов определения компонентов исследуемых смесей имело характер, близкий к нормальному, значения χ^2 -критерия не превышало табличного. К примеру, для смеси Кф–Пр (1 8) $\chi^2_{\text{ЭКСП}}(\text{Кф}) = 4,40$, $\chi^2_{\text{ЭКСП}}(\text{Пр}) = 5,73$, $\chi^2_{\text{ТАБЛ}} = 9,24$ ($P = 0,95$), при объеме выборки 113. Аналогичные результаты были получены для всех исследуемых смесей. Отметим, что значения концентраций, полученные на выбранных по новому критерию K наборах АДВ во всех случаях попадали в центральные классы гистограмм.

Однако близость характера распределения к нормальному еще не является доказательством того, что результаты, полученные на разных наборах длин волн, можно рассматривать как независимые. На самом деле они, безусловно, коррелированы, но следовало выяснить степень их корреляции, в первую очередь, на тех наборах длин волн, которым соответствуют минимальные значения критерия K .

Корреляционному анализу подвергали результаты определения компонентов, вычисленные на 15 наборах длин волн (с малыми значениями K). Во всех случаях экспериментальные значения коэффициентов корреляции намного меньше $r_{\text{табл}}$ (например, для смеси ХГ–Ан состава 1 4, $r_{\text{ЭКСП}}(\text{ХГ}) = 0,09$; $r_{\text{ЭКСП}}(\text{Ан}) = -0,04$; $r_{\text{табл}} = 0,51$ ($P=0,95$)). Иными словами, эти результаты, полученные на разных наборах АДВ, можно считать условно независимыми и относящимися к одной и той же нормально распределенной генеральной совокупности.

Независимость результатов, полученных на разных «оптимальных» наборах АДВ, была подтверждена и для других изученных смесей – как «аддитивных», так и «неаддитивных». Таким образом, с помощью предложенного критерия K можно выбирать несколько наборов АДВ, проводить на них определение и считать полученные результаты независимыми. Такой подход позволяет получать большее количество данных, не проводя дополнительных экспериментов, что сокращает время анализа и делает его дешевле.

Анализ модельных смесей с усреднением результатов по трем наборам АДВ. Для каждой из исследованных смесей были отобраны по три набора АДВ с малыми значениями критерия K .

Анализ модельных смесей проводили на каждом наборе АДВ трижды. Дисперсии результатов анализа, полученных на трех наборах АДВ для каждой смеси, были однородны по критерию Кохрена. Средние значения трех выборок статистически не различались (по критерию Стьюдента). Все это дает возможность усреднять результаты анализа. В качестве примера, приведем результаты анализа смеси ХГ–Ан состава 1:4. Сравнивая данные, полученные на каждом из наборов, с усредненными данными (табл. 6), можно видеть, что при этом уменьшается погрешность определения компонентов (вплоть до 0,1 %) и улучшается сходимость, т. е. повышается точность анализа в целом. Аналогичные результаты получены для других исследуемых смесей, в т.ч. «неаддитивных». Наличие отклонений от аддитивности не влияло на правильность результатов, что доказывает, во-первых, принципиальную возможность применения МФ к анализу подобных смесей, во-вторых, подтверждает полезность нового критерия при выборе АДВ, в-третьих, доказывает целесообразность совместного использования нескольких наборов АДВ.

Таблица 6

Правильность и прецизионность определения хинина гидрохлорида и анальгина смеси состава 1:4 на разных наборах АДВ ($n = 3, P = 0,95$)

Набор АДВ, нм	Компонент			
	Хинина гидрохлорид, 3,2 мкг/мл		Анальгин, 12,8 мкг/мл	
	$\delta C, \%$	Sr	$\delta C, \%$	Sr
235 250	-0,61	0,09	1,20	0,06
235 255	0,09	0,09	-0,80	0,05
235 260	0,38	0,06	-1,02	0,05
Среднее по всем наборам	-0,08	0,02	-0,29	0,01

Наборы АДВ, выбранные для модельных смесей, в дальнейшем использовали в анализе лекарственных препаратов с примерно тем же соотношением активных компонентов. Известно, что лекарственные препараты являются объектами, состав которых колеблется в сравнительно узких пределах, регламентируемых нормативной документацией (как правило, допускаются колебания порядка 5–10 %, в зависимости от содержания активного вещества). В связи с этим мы проверили, можно ли использовать выбранные наборы АДВ к анализу смесей, если содержания компонентов будут отличаться от номинальных в пределах $\pm 20 \%$. Как правило, погрешности определения

компонентов в таких случаях также не превышали 3–5 %, что позволяет рекомендовать соответствующие наборы АДВ для анализа серийно выпускаемых лекарственных препаратов

Анализ лекарственных препаратов. В данной работе реальными объектами анализа являлись таблетированные лекарственные препараты, включающие два активных компонента из числа изученных (табл 1) Помимо лекарственных веществ, в состав таблетированных лекарственных препаратов входят наполнители и вспомогательные вещества Оценка мешающего влияния шести наиболее распространенных наполнителей (вспомогательных веществ) магния оксида, крахмала, талька, глюкозы, сахара и натрия гидрокарбоната, показала, что они не будут мешать определению активных компонентов

Разработанные методики анализа всех лекарственных препаратов различались лишь способом подготовки фотометрируемых растворов и используемыми в ходе анализа наборами АДВ Все методики включали 1) измельчение содержимого одной упаковки анализируемого препарата (не менее 10 предварительно взвешенных таблеток), перемешивание и квартование полученного порошка, 2) взятие трех навесок порошка таблеток (около 0,1 г), растворение навесок в дистиллированной воде, фильтрование и доведение раствора до метки, 3) приготовление растворов для фотометрирования (при этом вводили подходящие буферные растворы), 4) измерение оптической плотности каждого раствора на трех предварительно отобранных наборах длин волн, 5) расчет результатов анализа для каждого набора АДВ с учетом заранее определенных удельных коэффициентов поглощения, 6) усреднение результатов анализа, полученных с применением разных наборов АДВ и разных навесок препарата Анализ одного препарата по такой схеме (с применением компьютерной программы) занимает не более 30 минут.

Во всех проанализированных препаратах содержание активных компонентов соответствовало номинальному, коэффициенты вариации не превышали 1–3 % В качестве примера в табл 7 приведены результаты анализа лекарственного препарата «Солпадеин» Проверка правильности определения активных компонентов исследуемых препаратов методом «введено-найдено» показала, что они определяются с относительной погрешностью, не превышающей 4 % Таким образом, присутствие наполнителей и других активных компонентов не повлияло на результаты анализа лекарственных препаратов по МФ

**Результаты количественного определения кофеина
и парацетамола в таблетках «Солпадеин» ($n = 5, P = 0,95$)**

Набор АДВ, нм	Найдено, г	
	Парацетамол	Кофеин
230 280	0,502 ± 0,012	0,030 ± 0,005
260 270	0,499 ± 0,010	0,029 ± 0,006
260 275	0,499 ± 0,008	0,029 ± 0,004
Среднее по всем наборам	0,500 ± 0,004	0,029 ± 0,001
Допустимые пределы содержания, г	0,475 – 0,525	0,027 – 0,033

Нами было проведено сравнение разработанных методик анализа лекарственных препаратов по МФ с использованием трех наборов АДВ, выбранных по новому критерию K с методиками, в которых расчет концентрации активных компонентов ведут на одном наборе АДВ, выбранных по общепринятому в МФ критерию (разность коэффициентов поглощения), а также с методиками, описанными в Государственной Фармакопее (ФС) В качестве примера приведем результаты анализа препарата «Папазол-УБФ» по двум методикам разработанной (МФ 3) и ФС 42-1869-82 (табл 8) Результаты, полученные по разработанной методике, совпадают с результатами методики ФС (различия средних значений статистически не значимо $t_{пг} = 0,14, t_{дб} = 0,03; t_{табл} = 4,30 (n = 3, P = 0,95)$)

Таблица 8

**Результаты количественного определения папаверина гидрохлорида
и дибазола в препарате «Папазол-УБФ» по двум методикам**

Методика	Масса, г	
	ПГ	Дб
ФС	0,029 ± 0,03	0,030 ± 0,01
МФ 3	0,030 ± 0,01	0,030 ± 0,01
Допустимые пределы содержания, г	0,027 – 0,033	0,027 – 0,033

Отметим, что согласно ФС 42-1869-82, в ходе анализа препарата «Папазол-УБФ» ПГ титруют в среде ледяной уксусной кислоты (токсикант!), а Дб определяют аргентометрическим методом Следовательно, переход к одновременному спектрофотометрическому определению обоих компонентов в данном случае ведет не только к сокращению продолжительности анализа при сохранении той же точности, но и к улучшению условий труда лаборантов, а также к экономии дорогостоящих реактивов

ВЫВОДЫ

1. Метод Фирордта применим к анализу двухкомпонентных смесей (в т ч лекарственных препаратов) даже при наличии в их спектрах небольших, но статистически значимых отклонений от аддитивности Предложен и проверен расчетный алгоритм, с помощью которого можно прогнозировать возможность определения компонентов смеси на одном наборе длин волн с погрешностями, не превышающими заданный предел

2. Для выбора оптимальных наборов длин волн предложен критерий, учитывающий не только коэффициенты поглощения веществ и случайные погрешности анализа, но и статистически значимые отклонения от аддитивности Выбор АДВ зависит от соотношения компонентов в смеси Применение нового критерия приводит к снижению систематических погрешностей анализа

3. Статистическое распределение результатов определения компонентов смесей по методу Фирордта на разных наборах АДВ имеет характер, близкий к нормальному Результаты определения компонентов на разных наборах длин волн (с малыми значениями критерия) слабо коррелированы, что позволяет рассматривать их как независимые

4. Для повышения точности спектрофотометрического анализа смесей по методу Фирордта целесообразно усреднять результаты, полученные на нескольких наборах АДВ, отобранных по предложенному критерию, что уменьшает влияние случайных погрешностей

5. С использованием предложенных алгоритмов разработаны методики спектрофотометрического анализа пяти лекарственных препаратов, содержащих по два одновременно определяемых активных компонента Эти методики характеризуются незначимыми систематическими погрешностями (порядка 1 % отн и менее), по точности не уступают фармакопейным, основанным на титровании активных компонентов, и превосходят последние по экспрессности

Основное содержание диссертации изложено в следующих работах

1 *Власова И В, Шилова А В, Кулакова С А* Спектрофотометрическое определение кофеина, парацетамола и ацетилсалициловой кислоты при совместном присутствии // Заводская лаборатория Диагностика материалов, 2005 Т 71 № 9 С 18–20

- 2 Власова И В, Шилова А В, Одинец Е Н, Рыжова С В Спектрофотометрическое определение папаверина гидрохлорида и дибазола в лекарственном препарате «Папазол» // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции сборник научных трудов (Пятигорская государственная фармацевтическая академия) Вып 60 Пятигорск, 2005 С 193–194
- 3 Власова И В, Шилова А В Критерий выбора аналитических длин волн при анализе двухкомпонентных смесей с малым содержанием одного из компонентов // Всероссийская конференция «Менделеевские чтения» Труды конференции Тюмень, 2005, С 427–430
- 4 Власова И В, Шилова А В Повышение точности определения компонентов в двухкомпонентных смесях по методу Фирордта // Вестник Омского университета, 2006 № 3 С 53–55
- 5 Власова И В, Шилова А В Новые подходы к спектрофотометрическому анализу многокомпонентных смесей // Вісник Харківського Національного Університету 2007 – № 770 Хімія Вип 15(38) С 141–146
- 6 Власова И В, Поморцева А В (Шилова), Калеева Е Н Определение анальгина в лекарственных препаратах без предварительного разделения // Всероссийская конференция по аналитической химии «Аналитика России – 2004» Тезисы докладов М, 2004 С 181
- 7 Власова И В, Поморцева А В (Шилова), Калеева Е Н Спектрофотометрическое определение анальгина в лекарственных препаратах без предварительного разделения // Материалы VII конференции «Аналитика Сибири и Дальнего Востока – 2004» Тезисы докладов Новосибирск, 2004 С 181
- 8 Шилова А В, Емельянова Л А Критерий выбора аналитических длин волн при анализе многокомпонентных систем // III Всероссийская научная молодежная конференция «Под знаком сигма» Тезисы докладов Омск, 2005 С 173–174
- 9 Власова И В, Шилова А В, Рыжова С В Применение многомерного регрессионного анализа к определению веществ в двухкомпонентных смесях // 1-й Международный форум «Актуальные проблемы современной науки» Тезисы докладов Самара, 2005 С 161–163
- 10 Vlasova I V, Shilova A V Binary mixtures spectrophotometric analysis modeling according Firordt's method / International Congress on Analytical Sciences ICAS-2006 / Moscow 25–30 June 2006 P 534
- 11 Власова И В, Шилова А В, Масякова Е Н Хемометрический подход к анализу многокомпонентных смесей по УФ-спектрам поглощения // Всероссийская конференция по аналитической химии «Аналитика России – 2007» Тезисы докладов Краснодар, 2007 С. 287
- 12 Власова И В, Шилова А В, Масякова Е Н Новые подходы к спектрофотометрическому анализу многокомпонентных смесей // Сесія Наукової ради НАН України з проблеми «Аналітична хімія» Тези доповідей Харків, 2007 С 76.

Диссертант и его научный руководитель благодарят за ценные советы при постановке данного исследования и при подведении его результатов – канд физ-мат наук Н А Исаченко и канд хим наук А В Дрозда, а также докторов хим наук В И Вершинина, А И Гризодуба и В И Дворкина

Подписано к печати 06 08 2008 Формат бумаги 60x84 1/16

Печ л 1,5 Уч-изд л 1,45 Тираж 110 экз Заказ 267

Издательство ОмГУ

644077, г Омск-77, пр Мира, 55а, госуниверситет