

УДК 543.4



# МУЛЬТИСЕНСОРНЫЙ ЦВЕТОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПРЕПАРАТОВ ДИДРОГЕСТЕРОНА, ТРОКСЕРУТИНА И АДЕМЕТИОНИНА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ШТРИХ-КОДОВ

О.В. Моногарова<sup>1</sup>, А.А. Чапленко<sup>2</sup>, К.В. Осолок<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»

119991, Россия, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 3, гсп-1

<sup>2</sup> Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования

Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова

Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

119435, Россия, г. Москва, ул. Большая Пироговская, д. 2, стр. 4

E-mail: o\_monogarova@mail.ru

Получено 20.11.2019

Принята к печати 15.11.2020

**Цель.** Разработка универсального экспрессного и доступного способа определения дидрогестерона, троксерутина и адеметионина в лекарственных препаратах методом мультисенсорной цифровой цветометрии с использованием уникального двумерного кода. Разработанный подход может быть применен для быстрого выявления фальсификатов лекарственных средств на предварительном этапе анализа (до использования более дорогого специализированного оборудования).

**Материалы и методы.** Для реализации предложенного подхода использованы субстанции дидрогестерона («Эбботт Биолоджикалз Б.В.», Нидерланды), троксерутина (АО «Интерфарма», Прага, Чехия), адеметионина (ООО «Фармамед», Москва, Россия), капсулы троксерутина 300 мг (ООО «Пранафарм», Самара, Россия), лиофилизат для приготовления раствора для внутривенного и внутримышечного введения «Гептрал»® (адеметионин) 400 мг («Эбботт Лэбораториз», ГмБХ, Германия), таблетки «Дюфастон»® (дидрогестерон) 10 мг («Эбботт Хелскеа Продактс Б.В.», Нидерланды). Метод мультисенсорной цветометрии реализован с использованием следующего набора из 8 сенсоров (C<sub>1</sub>–C<sub>8</sub>): интактный раствор – 96% (v/v) водный раствор этанола – C<sub>1</sub>; 1 мМ спиртовой раствор антрахинонового зеленого (CAS#4403-90-1) – C<sub>2</sub>; 0,2% водный раствор 3-метилбензотиазолинон-гидразона (CAS#1128-67-2) – C<sub>3</sub>; 0,2% водный раствор метилоранжа (CAS#547-58-0) – C<sub>4</sub>; 1 мМ спиртовой раствор сульфородамина В (CAS#3520-42-1) – C<sub>5</sub>; 1 мМ спиртовой раствор 1-гидроксипирена (CAS#5315-79-7) – C<sub>6</sub>; 1 мМ спиртовой раствор красного очаровательного АС (CAS# 25956-17-6) – C<sub>7</sub>; 1 мМ водный раствор железа (III) хлорида – C<sub>8</sub>. В качестве основы для чипа использовали прозрачные планшеты из полипропилена с плоским дном на 96 ячеек, объем ячейки – 350 мкл (Thermo Fischer Scientific, США, кат. № 430341). Для получения растровых изображений применяли офисный планшетный сканер Epson Perfection 1670 (CCD-матрица) со съемной крышкой. Полученные цифровые изображения ячеек обрабатывали в программе ImageJ (Wayne Rasband, National Institutes of Health, USA; <http://imagej.nih.gov/ij/>) с использованием цветовой модели RGB 24 бит (8 бит на канал).

**Результаты.** Адекватность разработанного подхода подтверждена при анализе вышеперечисленных лекарственных препаратов. Показано, что полученные результаты не имеют статистически значимых отличий от величин, определённых спектрофотометрическим методом.

**Заключение.** Показана возможность использования мультисенсорной цифровой цветометрии для фармацевтического анализа. Разработанные способы определения действующих веществ могут служить хорошим дополнением к более дорогостоящим традиционным методам.

**Ключевые слова:** дидрогестерон; троксерутин; адеметионин; цифровая мультисенсорная цветометрия; штрих-код.

**Список сокращений:** RGB (КЗС) – красный, зеленый, синий; МБТГ – метилбензотиазолинон-гидразон; PC1 – главная компонента 1 / Principal Component 1; PCA – метод главных компонент / principal component analysis.

**Для цитирования:** О.В. Моногарова, А.А. Чапленко, К.В. Осолок. Мультисенсорный цветометрический анализ препаратов дидрогестерона, троксерутина и адеметионина с использованием штрих-кодов. *Фармация и фармакология*. 2021;9(1):64-72. DOI: 10.19163/2307-9266-2021-9-1-64-72

© О.В. Моногарова, А.А. Чапленко, К.В. Осолок, 2021

**For citation:** O.V. Monogarova, A.A. Chaplenko, K.V. Osolok. Multisensory colorimetric analysis of drugs dydrogesterone, troxerutin and ademetonine using barcodes. *Pharmacy & Pharmacology*. 2021;9(1):64-72. DOI: 10.19163/2307-9266-2021-9-1-64-72

# MULTISENSORY COLORIMETRIC ANALYSIS OF DRUGS DYDROGESTERONE, TROXERUTIN AND ADEMETIONINE USING BARCODES

O.V. Monogarova<sup>1</sup>, A.A. Chaplenko<sup>2</sup>, K.V. Oskolok<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Moscow State University named after M.V. Lomonosov

1-3, Leninskie gory, Moscow, Russia, 119991

<sup>2</sup> I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University)

2-4 Bolshaya Pirogovskaya str., Moscow, Russia, 119435

E-mail: o\_monogarova@mail.ru

Received 20 Nov 2019

Accepted 15 Nov 2020

**The aim** of this study is to develop a universal, rapid and affordable method for the identification of dydrogesterone, troxerutin, and ademetonine in drugs by multisensor digital colorimetry using a unique two-dimensional code. The developed approach can be applied to rapid detection of counterfeit drugs at the preliminary stage of the analysis (before using more expensive specialized equipment).

**Materials and methods.** To implement the proposed approach, the substances of dydrogesterone ("Abbott Biologicals B.V.", Netherlands), troxerutin (JSC "Interfarma", Prague, Czech Republic) and ademetonine (LLC "Farmamed", Moscow, Russia), troxerutin capsules 300 mg (LLC "Pranafarm", Samara, Russia), lyophilisate for an intravenous solution and the intramuscular administration "Heptral" (ademetonine) 400 mg ("Abbott Laboratories", GMBH, Germany), tablets "Duphaston" (dydrogesterone) 10 mg ("Abbott Healthcare Products B.V.", Netherlands), were used. A multisensor colorimetry method has been implemented using the following set of 8 sensors (C<sub>1</sub>–C<sub>8</sub>): an intact solution – a 96% (v/v) aqueous ethanol solution – C<sub>1</sub>; 1 mM alcoholic solution of anthraquinone green (CAS#4403-90-1) – C<sub>2</sub>; a 0.2% aqueous solution of 3-methylbenzothiazolone hydrazone (CAS#1128-67-2) – C<sub>3</sub>; a 0.2% methyl orange aqueous solution (CAS#547-58-0) – C<sub>4</sub>; a 1 mM alcoholic solution of sulforhodamine B (CAS#3520-42-1) – C<sub>5</sub>; a 1 mM alcoholic solution of 1-hydroxypyrene (CAS#5315-79-7) – C<sub>6</sub>; 1 mM alcoholic solution of allura red AC (CAS#25956-17-6) – C<sub>7</sub>; a 1 mM aqueous solution of iron (III) chloride – C<sub>8</sub>. Transparent flat-bottomed polypropylene plates with 96 cells, with a cell volume of 350 µl (Thermo Fischer Scientific, USA, cat. No. 430341) were used as a base for the chip. For obtaining raster images, an Epson Perfection 1670 office flatbed scanner (CCD-matrix) with a removable cover was used. The obtained digital images of the cells were processed using the ImageJ software (Wayne Rasband, National Institutes of Health, USA; <http://imagej.nih.gov/ij>) with a 24-bit RGB color model (8 bits per channel).

**Results.** The adequacy of the developed approach was confirmed by the analysis of the above-listed drugs. It has been shown that the results obtained have no statistically significant differences from the values determined by the spectrophotometric method.

**Conclusion.** The possibility of using multisensor digital colorimetry for pharmaceutical analysis has been shown. The developed methods for the identification of the active substances can serve as a good supplement to more expensive traditional methods.

**Keywords:** dydrogesterone; troxerutin; ademetonine; digital multisensor colorimetry; barcode

**Abbreviations:** RGB – red, green, blue; MBTH – 3-methylbenzothiazolone hydrazone; PCA – Principal Component Analysis; PC1 – Principal Component 1

## ВВЕДЕНИЕ

Для предварительного экспрессного выявления фальсификатов (ещё до использования более дорогого аналитического оборудования) целесообразно применять простые, доступные и экспрессные методы. К одним из таких методов относится цифровая цветометрия, основанная на регистрации электромагнитного излучения в видимом диапазоне длин волн для получения цветных растровых изображений с помощью цифровых устройств [1–6]. Цифровая цветометрия получила широкое распространение в фармацевтическом анализе. В данной области этот метод используют для: анализа лекарственных растений [7, 8]; оценки качества сборов, в состав которых входят порошки лекарственных трав [9–11];

определения белизны порошкообразных и таблетированных лекарственных средств [12]; определения биологически активных веществ и лекарственных средств как по их собственной окраске, так и по окраске продуктов цветных реакций, используемых в фармакопейных тестах [12]; определения наркотических средств и запрещённых препаратов [13, 14].

Цифровая цветометрия сочетает доступность химических тест-методов с визуальным детектированием и характеристики инструментальных методов, прежде всего, оптической молекулярной спектроскопии. Предельно низкая стоимость анализа обусловлена возможностью измерения аналитического сигнала с помощью бытовых цифровых оптических устройств, не сертифицированных в качестве средств измерения [1, 5, 15, 16].

Несмотря на очевидные преимущества, цветометрический метод не лишен ряда ограничений, к главным из которых следует отнести низкую селективность [4, 17]. Для повышения селективности метода предложено использование молекулярных сенсоров [18]. В качестве сенсоров целесообразно применять ячейку из нескольких хромогенных агентов, в которой одновременно можно провести серию аналитических реакций. Метод мультисенсорной цветометрии [19–29] основан на получении окрашенных продуктов взаимодействия аналита с молекулярными сенсорами, извлечении информации об их цветовых характеристиках и последующем преобразовании в дискретный «штрих-код» вещества, который можно использовать для химического анализа [17, 30]. Уникальный цветометрический двумерный код позволяет судить как о природе, так и о содержании активного вещества в препарате при минимальном уровне информационного шума [17, 30]. Для формирования «штрих-кодов» целесообразно выбирать такие сенсоры и цветовые каналы, значения светлот которых коррелируют с содержанием аналита. Под светлотой понимают координату цвета по одному из цветовых каналов в системе RGB (изменяется в диапазоне от 0 до 255).

В качестве объектов анализа были выбраны препараты трёх различных фармакологических групп. Дидрогестерон представляет собой синтетический прогестаген, полностью обеспечивающий наступление фазы секреции в эндометрии при эндометриозе и дисменорее. Троксерутин – флавоноид, препарат-флеботоник, оказывающий венотонизирующее, ангиопротективное, противовоспалительное, противовоспалительное и антиоксидантное действие. Адеметионин – антиоксидантное, гепатопротективное, детоксирующее средство. Структурные формулы действующих веществ представлены на рисунке 1. Разработка альтернативных способов их определения, пригодных для предварительного скринингового анализа лекарственных препаратов, является важной и актуальной задачей фармацевтической и аналитической химии.

**ЦЕЛЬ.** Разработка универсального способа мультисенсорного цифрового цветометрического анализа лекарственных препаратов различных фармакологических групп на примере дидрогестерона, троксерутина и адеметионина. Разработанный комплекс молекулярных сенсоров в сочетании с новыми подходами к обработке аналитического сигнала позволит проводить определение вышеуказанных действующих веществ в лекарственных препаратах.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Объекты исследования

Для реализации предложенного подхода использованы субстанции дидрогестерона («Эбботт Биолоджиалз Б.В.», Нидерланды), троксерутина (АО «Интерфарма», Прага, Чехия) и адеметионина (ОО «Фармамед», Москва, Россия), капсулы троксерутина 300 мг (ОО «Пранафарм», Самара, Россия), лиофилизат для приготовления раствора для внутривенного и внутримышечного введения «Гептрал»® (адеметионин) 400 мг («Эбботт Лэбораториз», ГмБХ,

Германия), таблетки «Дюфастон»® (дидрогестерон) 10 мг («Эбботт Хелскеа Продактс Б.В.», Нидерланды).

### Материалы

Для проведения количественного анализа была приготовлена серия градуировочных растворов субстанций троксерутина и адеметионина (4,0–20,0 мг/мл) с шагом 4 мг/мл, дидрогестерона (1,0–3,0 мг/мл) с шагом 0,5 мг/мл. Диапазон концентраций подобран таким образом, чтобы содержание действующего вещества в реальном лекарственном препарате находилось в середине градуировочной зависимости.

Градуировочные растворы проанализированы методом мультисенсорной цветометрии с использованием следующего набора сенсоров (C1–C8): интактный раствор – 96% (v/v) водный раствор этанола – C<sub>1</sub>; 1 мМ спиртовой раствор антрахинонового зеленого (CAS#4403-90-1) – C<sub>2</sub>; 0,2% водный раствор 3-метилбензотиазолинон-гидразона (МБТГ) (CAS#1128-67-2) – C<sub>3</sub>; 0,2% водный раствор метилоранжа (CAS#547-58-0) – C<sub>4</sub>; 1 мМ спиртовой раствор сульфородамина В (CAS#3520-42-1) – C<sub>5</sub>; 1 мМ спиртовой раствор 1-гидроксипирена (CAS#5315-79-7) – C<sub>6</sub>; 1 мМ спиртовой раствор красного очаровательного АС (CAS# 25956-17-6) – C<sub>7</sub>; 1 мМ водный раствор железа (III) хлорида – C<sub>8</sub>.

### Оборудование

В качестве основы для чипа использовали прозрачные планшеты из полипропилена с плоским дном на 96 ячеек [31–33], объем ячейки – 350 мкл (Thermo Fischer Scientific, США, кат. №430341). В ячейки планшета с помощью дозаторов Biohit mLine (Sartorius, США) помещали по 100 мкл спиртовых растворов субстанций, растворов-сенсоров (C<sub>1</sub>–C<sub>8</sub>) и воды очищенной. Число сенсоров определяли так, чтобы на одном планшете можно было провести анализ наибольшего числа проб (8 сенсоров по числу строк планшета).

Для получения растровых изображений применяли офисный планшетный сканер Epson Perfection 1670 (CCD-матрица) со съемной крышкой. Сканирование планшета с образцами проводили с помощью программы Epson Scan в режиме Professional Mode (разрешение 600 dpi, глубина цвета 24 bit). Параметры «Color Restoration», «Unsharp Mask Filter» и «Descreening Filter» были отключены.

Для выполнения цифрового цветометрического анализа с использованием 96-луночного планшета («Thermo Fischer Scientific», США, кат. № 1256604) была изготовлена тефлоновая рамка-вкладыш размером 210×297×17 мм с центральным прямоугольным вырезом (128×86 мм), которую помещали под крышкой офисного планшетного сканера формата А4. Это позволило: ускорить и формализовать процедуру установки планшета на рабочем стеклянном столе сканера; зафиксировать координаты и условия освещения планшета электролюминесцентной лампой, встроенной в каретку; минимизировать боковые паразитные засветки планшета с субстратами внешними источниками излучения; повысить точность результатов измерения светлоты цветовых каналов растровых изображений планшета.

В качестве аналитического сигнала использовали разность светлот цветовых каналов между лункой с аналитом и интактной лункой. Полученные цифровые изображения ячеек обрабатывали в программе Image J (Wayne Rasband, National Institutes of Health, USA; <http://imagej.nih.gov/ij>) с использованием цветовой модели RGB 24 bit (8 бит на канал), в каждой лунке выделяли центральную область и для нее получали 3 усредненных значения светлоты – по одному для каждого цветового RGB-канала. Выбор цветочных каналов осуществляли эмпирически.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

#### Цветометрический полуколичественный анализ препаратов троксерутина, дидрогестерона и адемeтионина

Полученные значения светлот RGB-каналов обработаны в табличном редакторе MS Excel, подобраны оптимальные пороговые значения разности светлот каналов для анализируемого раствора и интактной ячейки (значения, выше которых условно обозначены «1», ниже – «0») (табл. 1), сформированы цветометрические «штрих-коды» (табл. 2). При выборе оптимального порогового значения разности светлот были соблюдены следующие требования: код должен быть уникальным; разница в кодировании между соседними концентрациями должна быть минимальной (1–2 значения). Для удовлетворения этих требований целесообразно установить индивидуальные пороговые значения для каждого канала. Эта проблема была решена с помощью программы MS Excel (надстройка «Поиск решения»).

Представленные одномерные «штрих-коды» могут быть объединены в двумерный код (табл. 3), который позволяет как судить о природе, так и оценивать содержание активного вещества в препарате с минимальным уровнем информационного шума. Интерпретация двумерного кода для идентификации и определения веществ возможна как в визуальном, так и в «инструментальном» режиме, например, с помощью программного сканера «штрих-кода» на смартфоне после его предварительной настройки. Последний режим особенно полезен при обработке больших массивов данных для повышения достоверности полученных результатов анализа.

Таким образом, техника полуколичественного анализа лекарственных средств может быть сведена до сравнения кода испытуемого раствора с соответствующим кодом стандартного раствора с известной концентрацией. Поскольку погрешность результатов полуколичественного анализа изначально довольно высока, нет необходимости в использовании мало-доступного стандартного образца. Достаточно лишь воспроизвести описанные условия измерения аналитического сигнала и использовать готовый набор двумерных штрих-кодов.

#### Цветометрический количественный анализ препаратов дидрогестерона, троксерутина и адемeтионина

Для количественного анализа целесообразно

использовать не все цветовые каналы и сенсоры, а лишь те значения светлот, которые коррелируют с содержанием аналита. Рассчитаны коэффициенты детерминации ( $r^2$ ) для всех определяемых веществ, сенсоров и цветовых каналов; выделены сенсоры и каналы, для которых значение  $r^2 > 0,99$  – критерий линейности для методик фармацевтического анализа. Таким образом, для анализа троксерутина были выбраны 4 цветовых канала ( $G_4$ ,  $G_5$ ,  $R_7$  и  $R_8$ ); для дидрогестерона – 5 ( $R_2$ ,  $G_4$ ,  $G_6$ ,  $B_6$  и  $R_7$ ); для адемeтионина – 6 ( $R_2$ ,  $G_2$ ,  $R_3$ ,  $B_3$ ,  $G_5$  и  $G_7$ ).

Для апробации разработанного подхода был проведен цветометрический анализ следующих лекарственных препаратов: таблеток дидрогестерона «Дюфастон»<sup>®</sup> 10 мг, капсул троксерутина 300 мг и лиофилизата адемeтионина «Гептрал»<sup>®</sup> 400 мг. С целью выбора оптимального способа определения действующего вещества проведено сравнение метрологических характеристик методик с использованием всех предложенных цветовых каналов и сенсоров. Содержание активного вещества в препаратах определяли способом градуировочного графика. Результаты определения действующих веществ в указанных лекарственных препаратах с применением разработанного подхода представлены в таблице 4.

Для всех вариантов цветометрических методик доказано равенство средних с использованием модифицированного  $t$ -критерия Стьюдента для независимых выборок ( $P = 0,95$ ). Из приведенной таблицы видно, что лучшими метрологическими характеристиками обладают способы определения троксерутина с использованием R-канала сенсора 7, адемeтионина – G-канала сенсора 2, дидрогестерона – R-канала сенсора 2. Из представленных данных видно, что результаты анализа лекарственных препаратов методом мультисенсорной цифровой цветометрии хорошо согласуются с данными, заявленными производителем (полученные методом высокоэффективной жидкостной хроматографии и спектрофотометрическим методом).

#### Использование способа главных компонент для количественного анализа препаратов дидрогестерона, троксерутина и адемeтионина

Перспективным представляется подход, в котором набор значений светлот цветовых каналов рассматривают как некий «цветометрический спектр», когда данные могут быть обработаны с помощью хемометрических алгоритмов, из которых наиболее часто используется метод главных компонент (PCA, Principal Component Analysis). В этом случае имеется возможность, с одной стороны, выбрать всю полезную информацию от всех сенсоров по всем каналам сразу, с другой – снизить уровень информационного шума и повысить точность результатов анализа. Для апробации хемометрических подходов использовали серию градуировочных растворов субстанций троксерутина и адемeтионина (4,0–20,0 мг/мл) с шагом 4 мг/мл, дидрогестерона (1,0–3,0 мг/мл) с шагом 0,5 мг/мл. Значения первой главной компоненты (PC1) были рассчитаны по формулам.

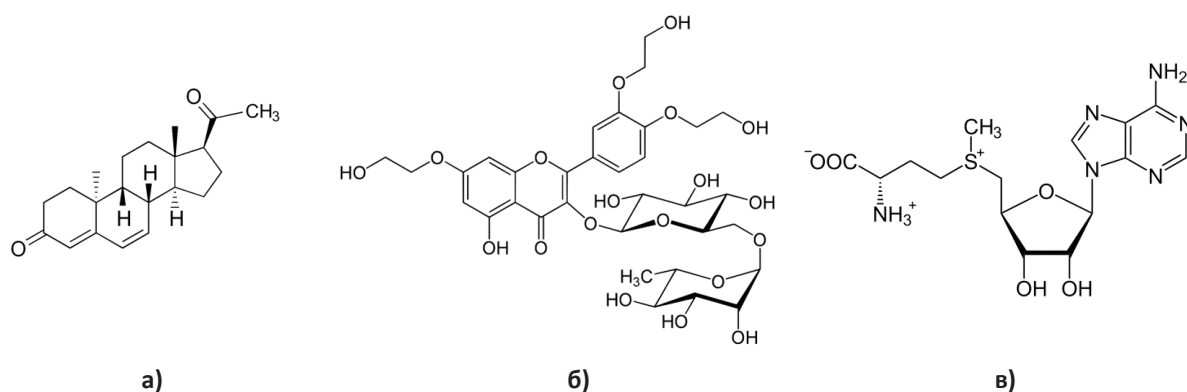


Рисунок 1 – Структурные формулы дигидрогестерона (а), троксерутина (б), адеметионина (в)

Таблица 1 – Цветометрические коды, соответствующие различным концентрациям дигидрогестерона, троксерутина и адеметионина

Дигидрогестерон						
с, мг/мл	$\Delta R_2$	$\Delta G_4$	$\Delta G_6$	$\Delta B_6$	$\Delta R_7$	
Пороговое значение разности светлот	127	92	30	50	80	
1,0	0	0	0	0	1	
1,5	1	0	0	0	1	
2,0	1	0	0	1	1	
2,5	1	1	0	1	1	
3,0	1	1	1	1	1	
Троксерутин						
с, мг/мл	$\Delta G_4$	$\Delta G_5$	$\Delta R_7$	$\Delta R_8$		
Пороговое значение разности светлот	125	91	82	92		
4 и менее	0	0	0	0		
8	1	0	0	0		
12	1	1	0	0		
16	1	1	1	0		
20	1	1	1	1		
Адеметионин						
с, мг/мл	$\Delta R_2$	$\Delta G_2$	$\Delta R_3$	$\Delta B_3$	$\Delta G_5$	$\Delta G_7$
Пороговое значение разности светлот	127	92	30	50	80	101
4	0	0	0	0	1	0
8	0	1	1	0	1	0
12	0	1	1	1	1	0
16	0	1	1	1	1	1
20	1	1	1	1	1	1

**Таблица 2 – Шкала «штрих-кодов», соответствующих различным концентрациям дидрогестерона, троксерутина и адеметионина**

Дидрогестерон		Троксерутин		Адеметионин	
с, мг/мл	«Штрих-код»	с, мг/мл	«Штрих-код»	с, мг/мл	«Штрих-код»
1,0		4		4	
1,5		8		8	
2,0		12		12	
2,5		16		16	
3,0		20		20	

**Таблица 3 – Двумерные «штрих-коды» для одновременного анализа дидрогестерона, троксерутина и адеметионина**

Действующее вещество, с, мг/мл	C <sub>1</sub>		C <sub>2</sub>		C <sub>3</sub>		C <sub>4</sub>		C <sub>5</sub>		C <sub>6</sub>		C <sub>7</sub>		C <sub>8</sub>		
	R	G	B	R	G	B	R	G	B	R	G	B	R	G	B	R	G
<b>Дидрогестерон (2,5 мг/мл)</b>	Light	Light	Light	Light	Light	Light	Light	Light	Light	Light	Light	Light	Light	Light	Light	Light	Light
1,0				Dark									Dark				
1,5			Dark										Dark				
2,0			Dark	Dark								Dark	Dark				
2,5			Dark				Dark					Dark	Dark	Dark			
3,0			Dark				Dark				Dark	Dark	Dark	Dark	Dark		
<b>Троксерутин (16 мг/мл)</b>	Light	Light	Light	Light	Light	Light	Light	Light	Light	Light	Light	Light	Light	Light	Light	Light	Light
4																	
8							Dark										
12							Dark			Dark							
16							Dark			Dark							
20							Dark			Dark						Dark	
<b>Адеметионин (8 мг/мл)</b>	Light	Light	Light	Light	Light	Light	Light	Light	Light	Light	Light	Light	Light	Light	Light	Light	Light
4																	
8				Dark													
12				Dark		Dark		Dark									
16				Dark		Dark		Dark									
20			Dark	Dark		Dark		Dark								Dark	

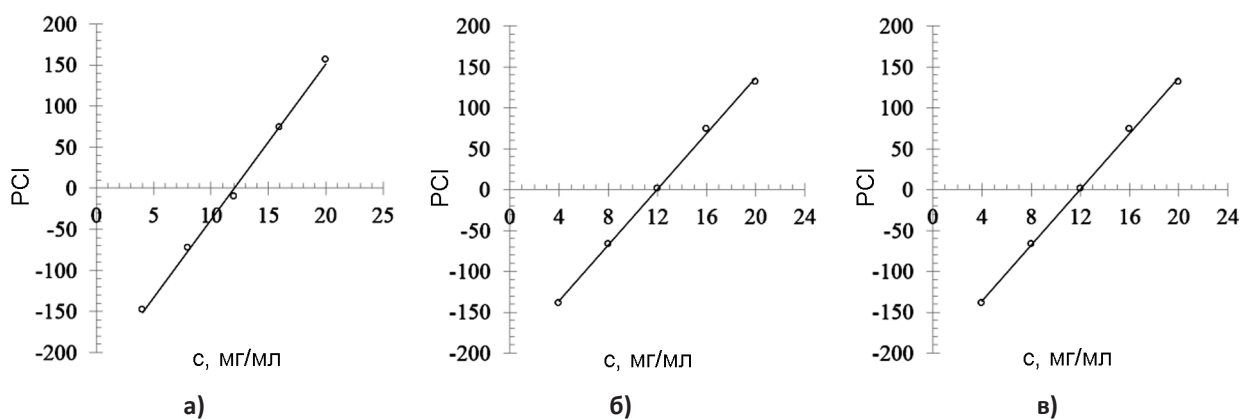
Примечание: C<sub>1</sub>–C<sub>8</sub> – сенсоры; тёмная заливка ячейки соответствует наличию сигнала, светлая – его отсутствию

**Таблица 4 – Результаты определения действующих веществ в лекарственных препаратах методом мультисенсорной цифровой цветометрии с использованием различных цветных каналов и сенсоров**

Сенсор и цветовой канал	Содержание действующего вещества, мг/ед.		$s_r$ (для цифровой цветометрии)
	Спектрофотометрия (n = 3, P = 0,95)	Цифровая цветометрия (n = 11, P = 0,95)	
<b>Дидрогестерон</b>			
R <sub>2</sub>	10,2 ± 0,1	11,1 ± 1,2	0,048
G <sub>4</sub>		8,4 ± 1,0	0,053
G <sub>6</sub>		7,0 ± 0,8	0,050
B <sub>6</sub>		6,2 ± 0,6	0,042
R <sub>7</sub>		14,4 ± 1,7	0,053
<b>Троксерутин</b>			
G <sub>4</sub>	287 ± 2	294 ± 23	0,036
G <sub>5</sub>		284 ± 25	0,040
R <sub>7</sub>		290 ± 20	0,036
R <sub>8</sub>		291 ± 18	0,028
<b>Адеметионин</b>			
R <sub>2</sub>	391 ± 4	393 ± 42	0,048
G <sub>2</sub>		395 ± 19	0,022
R <sub>3</sub>		389 ± 27	0,031
B <sub>3</sub>		388 ± 28	0,033
G <sub>5</sub>		400 ± 35	0,040
G <sub>7</sub>		376 ± 24	0,029

**Таблица 5 – Результаты мультисенсорного цветометрического определения действующих веществ в лекарственных препаратах с применением метода главных компонент**

Содержание действующего вещества, мг/ед.		$s_r$ (для цифровой цветометрии)
Спектрофотометрия (n = 3, P = 0,95)	Цифровая цветометрия (n = 11, P = 0,95)	
<b>Дидрогестерон</b>		
10,2 ± 0,1	11,0 ± 0,8	0,031
<b>Троксерутин</b>		
287 ± 2	290 ± 7	0,016
<b>Адеметионин</b>		
391 ± 4	388 ± 9	0,020



**Рисунок 2 – Зависимость первой главной компоненты от концентрации дидрогестерона (а), троксерутина (б), адеметионина (в) в градуировочных растворах**

Для дидрогестерона:

$$PC1 = -0,01 \cdot \Delta G_1 - 0,31 \cdot \Delta R_2 - 0,02 \cdot \Delta G_2 - 0,23 \cdot \Delta B_2 - \\ - 0,01 \cdot \Delta R_3 - 0,01 \cdot \Delta G_3 - 0,35 \cdot \Delta B_3 - 0,01 \cdot \Delta R_4 - 0,21 \cdot \Delta G_4 - 0,01 \cdot \Delta B_4 + \\ + 0,01 \cdot \Delta R_5 - 0,44 \cdot \Delta G_5 - 0,40 \cdot \Delta B_5 - 0,01 \cdot \Delta R_6 - 0,09 \cdot \Delta G_6 - 0,22 \cdot \Delta B_6 - \\ - 0,24 \cdot \Delta R_7 - 0,09 \cdot \Delta G_7 - 0,02 \cdot \Delta B_7 - 0,04 \cdot \Delta R_8 - 0,46 \cdot \Delta G_8 - 0,03 \cdot \Delta B_8$$

Для троксерутина:

$$PC1 = 0,02 \cdot \Delta R_1 + 0,10 \cdot \Delta G_1 + 0,05 \cdot \Delta B_1 + 0,38 \cdot \Delta R_2 + 0,01 \cdot \Delta G_2 + 0,31 \cdot \Delta B_2 + \\ + 0,17 \cdot \Delta R_3 + 0,48 \cdot \Delta G_3 + 0,21 \cdot \Delta B_3 + 0,13 \cdot \Delta G_4 + 0,14 \cdot \Delta B_4 + \\ + 0,23 \cdot \Delta R_5 + 0,16 \cdot \Delta G_5 + 0,38 \cdot \Delta B_5 + 0,17 \cdot \Delta R_6 + 0,18 \cdot \Delta G_6 + \\ + 0,23 \cdot \Delta R_7 + 0,01 \cdot \Delta G_7 + 0,02 \cdot \Delta B_7 + 0,27 \cdot \Delta R_8 - 0,02 \cdot \Delta G_8 + 0,02 \cdot \Delta B_8$$

Для адеметионина:

$$PC1 = 0,02 \cdot \Delta R_1 + 0,01 \cdot \Delta G_1 + 0,27 \cdot \Delta R_2 + 0,54 \cdot \Delta G_2 + 0,03 \cdot \Delta B_2 + \\ + 0,28 \cdot \Delta R_3 + 0,09 \cdot \Delta G_3 + 0,29 \cdot \Delta B_3 + 0,02 \cdot \Delta R_4 + 0,08 \cdot \Delta G_4 + 0,01 \cdot \Delta B_4 + \\ + 0,01 \cdot \Delta R_5 + 0,16 \cdot \Delta G_5 + 0,01 \cdot \Delta G_6 + 0,13 \cdot \Delta B_6 + \\ + 0,43 \cdot \Delta G_7 + 0,01 \cdot \Delta B_7 + 0,02 \cdot \Delta R_8 + 0,12 \cdot \Delta G_8 + 0,46 \cdot \Delta B_8$$

Можно отметить наличие линейной корреляции между значением первой главной компоненты (PC1) и содержанием дидрогестерона, троксерутина и адеметионина в градуировочных растворах (рис. 2), что может быть использовано для определения содержания указанных действующих веществ в препаратах. Результаты определения действующих веществ в лекарственных препаратах с применением разработанного подхода представлены в таблице 5.

Полученные результаты согласуются с данными, заявленными производителем. Из таблиц 4 и 5 следует, что использование метода главных компонент позволяет улучшить воспроизводимость результатов анализа по сравнению с применением градуировочной зависимости по выбранным сенсору и цветовому каналу.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Предложен эффективный подход (потенциально имеющий широкое применение) к скрининговому анализу лекарственных средств различных фармакологических групп методом мультисенсорной цифровой цветометрии после предварительной пробоподготовки. Одновременное использование нескольких химических сенсоров в чипе обеспечивает достаточную селективность. Дискретизация мультисенсорного сигнала позволяет получить уникальный штрихкод, подходящий для идентификации и определения действующих веществ в препаратах. Разработанные способы определения действующих веществ могут служить хорошим дополнением к более дорогостоящим традиционным методам.

## ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнена в рамках государственного задания МГУ имени М.В. Ломоносова АААА-А21-121011590089-1 «Развитие высокоинформативных и высокотехнологичных методов химического анализа для защиты экосистем, создания новых материалов и передовых производственных технологий, перехода к экологически чистой и ресурсосберегающей энергетике, развития природоподобных технологий, высокотехнологичного здравоохранения и рационального природопользования».

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## ВКЛАД АВТОРОВ

Все авторы в равной степени внесли свой вклад в исследовательскую работу.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Апари В.В., Горбунова М.В., Исаченко А.И., Дмитриенко С.Г., Золотов Ю.А. Использование бытовых цветорегистрирующих устройств в количественном химическом анализе // Журнал аналитической химии. – 2017. – Т. 72, № 11. – С. 963–977. DOI: 10.7868/S0044450217110019
2. Иванов В.М., Моногарова О.В., Осолок К.В. Возможности и перспективы развития цветометрического метода в аналитической химии // Журнал аналитической химии. – 2015. – Т. 70, № 10. – С. 1011–1025. DOI: 10.7868/S0044450215100114
3. Моногарова О.В., Осолок К.В., Апари В.В. Цветометрия в химическом анализе // Журнал аналитической химии. – 2018. – Т. 73, № 11. – С. 857–867. DOI: 10.1134/S0044450218110063
4. Химченко С.В., Экспериандова Л.П. Цветометрия в инструментальном и визуальном тест-анализе. Lambert Academic Publishing. – 2014. – 220 с.
5. Шульц Э.В., Моногарова О.В., Осолок К.В. Цифровая цветометрия: аналитические возможности и перспективы использования // Вестник Московского университета. Серия 2: Химия. – 2019. – Т. 60, № 2. – С. 79–87.
6. Черноусова О.В., Рудаков О.Б. Цифровые изображения в аналитической химии для количественного и качественного анализа // Химия, физика и механика материалов. – 2019. – Т. 21, № 2. – С. 55–125.
7. Погочкая А.А., Бузук Г.Н. Применение сканера и компьютерных программ цифровой обработки изображений для количественного определения алкалоидов в листьях маклеи сердцевидной // Вестник фармации. – 2009. – Т. 46, № 4. – С. 32–38.



8. Ершик О.А., Бузук Г.Н. Применение сканера и компьютерных программ цифровой обработки изображений для количественного определения фенольных соединений корневищ с корнями сабельника болотного // Вестник фармации. – 2008. – Т. 42, № 4. – С. 6–12.
9. Иванкова М.Н., Бузук Г.Н. Цветометрический метод определения состава порошков из лекарственного растительного сырья // Вестник фармации. – 2010. – Т. 50, № 4. – С. 22–28.
10. Вернигорова М.Н., Бузук Г.Н. Цветометрическая методика определения компонентного состава порошков травы череды трехраздельной (*Bidens Tripartita* L.) // Вестник фармации. – 2013. – Т. 62, № 4. – С. 28–33.
11. Бузук Г.Н., Кузьмичева Н.А. Цветометрический и денситометрический методы анализа в стандартизации таблеток «Аскорутин» и «Рутаскорбин» // Вестник фармации. – 2011. – Т. 53, № 3. – С. 12–18.
12. Рудакова Л.В., Васильева А.П., Шведов Г.И., Поплавская Е.В. Цифровые технологии для определения цветности и белизны лекарственных средств // Фармацевтические технологии и упаковка. – 2012. – Т. 215, № 2. – С. 38–40.
13. Choodum A., Daeid N.N. Rapid and semi-quantitative presumptive tests for opiate drugs // Talanta. – 2011. – Vol. 86. – P. 284–292. DOI: 10.1016/j.talanta.2011.09.015
14. Choodum A., Parabun K., Daeid N.N., Kanatharana P., Wongniramaikul W. Real time quantitative colourimetric test for methamphetamine detection using digital and mobile phone technology // Forensic Science International. – 2014. – Vol. 235. – P. 8–13. DOI: 10.1016/j.forsciint.2013.11.018
15. Oskolok K.V., Shults E.V., Monogarova O.V., Chaplenko A.A. Optical molecular analysis using office flatbed photo scanner: new approaches and solutions // Talanta. 2018. – Vol. 178. – P. 377–383. DOI: 10.1016/j.talanta.2017.09.049
16. Осолок К.В., Шульц Э.В., Моногарова О.В., Чапленко А.А. Оптический молекулярный анализ фармацевтических препаратов с использованием офисного планшетного сканера: цветометрия и фотометрия // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2017. – Т. 20, № 8. – С. 22–27.
17. Monogarova O.V., Chaplenko A.A., Oskolok K.V. Multisensory digital colorimetry to identify and determination of active substances in drugs // Sensors and Actuators, B: Chemical. – 2019. – Vol. 299 (in press). DOI: 10.1016/j.snb.2019.126909
18. Ушаков Е.Н., Алфимов М.В., Громов С.П. Принципы дизайна оптических молекулярных сенсоров и фотоуправляемых рецепторов на основе краун-эфиров // Успехи химии. – 2008. – Т. 77, № 1. – С. 39–59.
19. Kangas M.J., Ernest A., Lukowicz R.M., Mora A.V., Quossi A., Perez M., Kyes N., Holmes A.E. The identification of seven chemical warfare mimics using a colorimetric array // Sensors. – 2018. – Vol. 18, № 4291. – P. 1–8. DOI: 10.3390/s18124291
20. Kangas M.J., Wilson K.L., Burks L.M., Atwater J., Lukowicz R.M., Garver B., Mayer M., Havenridge S., Holmes A.E. An improved comparison of chemometric analysis for the identification of acids and bases with colorimetric sensor arrays // International Journal of Chemistry. – 2018. – Vol. 10. – P. 36–55. DOI:10.5539/ijc.v10n2p36
21. Kangas M.J., Burks R.M., Atwater J., Lukowicz R.M., Garver B., Holmes A.E. Comparative chemometric analysis for classification of acids and bases via a colorimetric sensor array // Journal of Chemometrics. – 2017. – P. e2961. DOI: 10.1002/cem.2961
22. Zhang C., Bailey D.P., Suslick K.S. Colorimetric sensor arrays for the analysis of beers: A feasibility study // Journal of Agricultural and Food Chemistry. – 2006. – Vol. 54, № 14. – P. 4925–4931. DOI: 10.1021/jf060110a
23. Zhang C., Suslick K.S. A colorimetric sensor array for organics in water // Journal of the American Chemical Society. – 2005. – Vol. 127, № 33. – P. 11548–11549. DOI: 10.1021/ja052606z
24. Palacios M.A., Wang Z., Montes V.A., Zyryanov G.V., Anzenbacher P.Jr. Rational design of a minimal size sensor array for metal ion detection // Journal of the American Chemical Society. – 2008. – Vol. 130, № 31. – P. 10307–10314. DOI: 10.1021/ja802377k
25. Feng L., Musto C.J., Kemling J.W., Lim S.H., Zhong W., Suslick K.S. Colorimetric sensor array for determination and identification of toxic industrial chemicals // Analytical Chemistry. – 2010. – Vol. 82, № 22. – P. 9433–9440. DOI: 10.1021/ac1020886
26. Lin H., Suslick K.S. A colorimetric sensor array for detection of triacetone triperoxide vapor // Journal of the American Chemical Society. – 2010. – Vol. 132, № 44. – P. 15519–15521. DOI: 10.1021/ja107419t
27. Carey J.R., Suslick K.S., Hulkower K.I., Imlay J.A., Imlay K.R.C., Ingison C.K., Ponder J.B., Sen A., Wittrig A.E. Rapid identification of bacteria with a disposable colorimetric sensing array // Journal of the American Chemical Society. – 2011. – Vol. 133, № 19. – P. 7571–7576. DOI: 10.1021/ja201634d
28. Suslick B.A., Feng L., Suslick K.S. Discrimination of complex mixtures by a colorimetric sensor array: coffee aromas // Analytical Chemistry. – 2010. – Vol. 82, № 5. – P. 2067–2073. DOI: 10.1021/ac902823w
29. Goodey A. Development of multianalyte sensor arrays composed of chemically derivatized polymeric microspheres localized in micromachined cavities // Journal of the American Chemical Society. – 2001. – Vol. 123, № 11. – P. 2559–2570. DOI: 10.1021/ja003341l
30. Моногарова О.В., Чапленко А.А., Осолок К.В. Идентификация и определение левомицетина в лекарственных препаратах методом мультисенсорной цифровой цветометрии // Вестник Московского университета. Серия 2: Химия. – 2020. – Т. 61, № 1.
31. Johnke H. Detecting concentration of analytes with DETECHIP: a molecular sensing array // Journal of Sensor Technology. – 2013. – Vol. 3, № 3. – P. 94–99. DOI: 10.4236/jst.2013.3301
32. Smith A. Improved image analysis of DETECHIP® allows for increased specificity in drug discrimination // Journal of Forensic Research. – 2012. – Vol. 3, № 8. – P. 161–164. DOI: 10.4172/2157-7145.1000161
33. Okuom M.O., Holmes A.E. Developing a color-based molecular sensing device: DETECHIP® // Sensors & Transducers. – 2014. – Vol. 183, № 12. – P. 30–33.

#### АВТОРЫ

**Моногарова Оксана Викторовна** – кандидат химических наук, доцент, доцент кафедры аналитической химии химического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова». ORCID ID: 0000-0002-5790-1462. Researcher ID: S-6930-2016. E-mail: o\_monogarova@mail.ru

**Чапленко Александр Андреевич** – кандидат фармацевтических наук, доцент ФГАОУ ВО Первого МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сече-

новский Университет). ORCID ID: 0000-0003-1176-4658. E-mail: a.a.chaplenko@yandex.ru

**Осолок Кирилл Владимирович** – кандидат химических наук, доцент, доцент кафедры аналитической химии химического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова». ORCID ID: 0000-0002-7785-4835. Researcher ID: O-2504-2014. E-mail: k\_oskolok@mail.ru