



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2023. Т. 23, вып. 4. С. 392–403

Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology, 2023, vol. 23, iss. 4, pp. 392–403

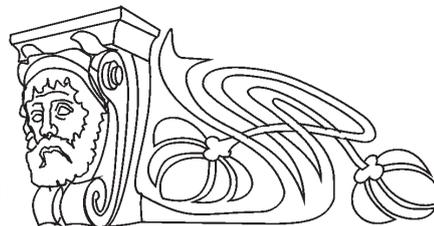
<https://ichbe.sgu.ru>

<https://doi.org/10.18500/1816-9775-2023-23-4-392-403>, EDN: EBHKZW

Научная статья

УДК 543.422.3

Спектрофотометрическое определение некоторых β -лактамных антибиотиков в их бинарных смесях с использованием метода проекций на латентные структуры



Е. Ф. Кетруш, Р. К. Мурсалов, Д. В. Силаев, Т. Ю. Русанова ✉

Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Россия, 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, д. 83

Кетруш Елизавета Фёдоровна, студент Института химии, ketruse@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0001-7456-033X>

Мурсалов Руслан Кямранович, инженер кафедры аналитической химии и химической экологии Института химии, ruslan.mursalov2011@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7754-5469>

Силаев Дмитрий Владимирович, инженер кафедры аналитической химии и химической экологии Института химии, sil_diman@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8392-138X>

Русанова Татьяна Юрьевна, доктор химических наук, доцент, заведующий кафедрой аналитической химии и химической экологии Института химии, tatyanyars@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5902-3707>

Аннотация. Предложен способ спектрофотометрического определения антибиотиков цефалоспориновой (цефуроксим, цефтриаксон, цефотаксим, цефазолин) и пенициллиновой (амоксциллин) групп с использованием хемометрической обработки данных (метод проекции на латентные структуры (ПЛС)). Зарегистрированы спектры поглощения 24 бинарных смесей «цефалоспорин – цефалоспорин» и 16 бинарных смесей «цефалоспорин – амоксициллин» с различными концентрациями в диапазоне 3–27 и 5–140 мкг/мл. Выбрано оптимальное число латентных переменных для каждого хемометрического метода (ПЛС-1 и ПЛС-2), которое составило от 2 до 7 в зависимости от типа модели и природы антибиотиков. Наименьшие среднеквадратичные ошибки калибровки (RMSEC) найдены для системы «цефтриаксон – цефазолин», которые составили 0.09 и 0.08 для ПЛС-1 и ПЛС-2 соответственно. Наименьшие среднеквадратичные ошибки прогноза (RMSEP) для смеси «цефуроксим – амоксициллин» составили 0.07 для обоих методов (ПЛС-1 и ПЛС-2). Установлено, что уравнения линейных зависимостей «измерено – предсказано» характеризуются коэффициентом регрессии и квадратом коэффициента аппроксимации близкими к 1, что говорит о высоком качестве моделей. Величины относительной погрешности определения в проверочных смесях составили методом ПЛС-1 для смесей «цефалоспорин – цефалоспорин» 0.4–6.2%, методом ПЛС-2 – 0.07–6.0%. При этом значительной разницы в погрешности определения компонентов смеси не наблюдается, в отличие от системы «цефуроксим – амоксициллин», для которой погрешность составляет 0.1–1.1% для первого компонента и 2.6–14.7% для второго компонента методом ПЛС-1 и 0.2–1.2% для первого компонента и 4.3–13.3% для второго компонента методом ПЛС-2. Таким образом, показано, что применение хемометрических методов обеспечивает высокую точность спектрофотометрического определения исследуемых антибиотиков с перекрывающимися полосами поглощения в их смесях.

Ключевые слова: антибиотики, цефуроксим, цефтриаксон, цефотаксим, цефазолин, амоксициллин, спектрофотометрия, метод проекций на латентные структуры

Благодарности. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 22-23-00420).

Для цитирования: Кетруш Е. Ф., Мурсалов Р. К., Силаев Д. В., Русанова Т. Ю. Спектрофотометрическое определение некоторых β -лактамных антибиотиков в их бинарных смесях с использованием метода проекций на латентные структуры // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2023. Т. 23, вып. 4. С. 392–403. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2023-23-4-392-403>, EDN: EBHKZW

Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)

Article

Spectrophotometric determination of some β -lactam antibiotics in their binary mixtures using the method of partial least squares

E. F. Ketrush, R. K. Mursalov, D. V. Silaev, T. Yu. Rusanova ✉

Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia

Elizaveta F. Ketrush, ketruse@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0001-7456-033X>

Ruslan K. Mursalov, ruslan.mursalov2011@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7754-5469>

Dmitry V. Silaev, sil_diman@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8392-138X>

Tatiana Yu. Rusanova, tatyanyars@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5902-3707>



Abstract. The method has been proposed for the spectrophotometric determination of antibiotics of the cephalosporin (cefuroxime, ceftriaxone, cefotaxime, cefazolin) and penicillin (amoxicillin) groups using chemometric data processing (method of partial least squares, PLS). The absorption spectra of 24 binary mixtures of “cephalosporin – cephalosporin” and 16 binary mixtures of “cephalosporin – amoxicillin” with various concentrations in the range of 3–27 and 5–140 µg/ml have been recorded. The optimal number of latent variables for each chemometric method (PLS-1 and PLS-2) has been selected, which ranged from 2 to 7 depending on the type of model and the nature of the antibiotics. The smallest root mean square calibration errors (RMSEC) have been found for the ceftriaxone–cefazolin system, which have been 0.09 and 0.08 for PLS-1 and PLS-2, respectively. The smallest root mean square errors of prediction (RMSEP) for the mixture “cefuroxime – amoxicillin” have been 0.07 for both methods (PLS-1 and PLS-2). It has been established that equations of linear relationships “measured-predicted” are characterized by a regression coefficient and the square of the approximation coefficient close to 1; which indicates the high quality of the models. The relative error of determination in test mixtures has been 0.4–6.2% by the PLS-1 method for “cephalosporin – cephalosporin” mixtures, and 0.07–6.0% by the PLS-2 method. At the same time, there is no significant difference in the error in determining the components of the mixture, in contrast to the “cefuroxime – amoxicillin” system, for which the error is 0.1–1.1% for the first component and 2.6–14.7% for the second component using the PLS-1 method and 0.2–1.2% for the first component and 4.3–13.3% for the second component using the PLS-2 method. Thus, it has been shown that the use of chemometric methods ensures high accuracy of the spectrophotometric determination of the studied antibiotics with overlapping absorption bands in their mixtures.

Keywords: antibiotics, cefuroxime, ceftriaxone, cefotaxime, cefazolin, amoxicillin, spectrophotometry, method of partial least squares

Acknowledgements: The research was supported by Russian Science Foundation (project No. 22-23-00420).

For citation: Ketrush E. F., Mursalov R. K., Silaev D. V., Rusanova T. Yu. Spectrophotometric determination of some β-lactam antibiotics in their binary mixtures using the method of partial least squares. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2023, vol. 23, iss. 4, pp. 392–403 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2023-23-4-392-403>, EDN: EBHKZW

This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0)

Введение

В лекарственных препаратах (ЛП) нередко используют сочетание двух и более активных фармацевтических ингредиентов (АФИ) для усиления фармакологического эффекта и удобства применения комбинированных препаратов. Трудоемкое и сложное предварительное разделение АФИ, входящих в состав комбинированных препаратов и обладающих сходными физико-химическими свойствами, затрудняет проведение экспресс-анализа при контроле качества в лаборатории. Хемометрические алгоритмы, на сегодняшний момент перспективные, экспрессные и не требующие больших трудозатрат, являются альтернативой трудоемким процедурам, связанным с предварительным разделением компонентов смеси и использованием дорогостоящего оборудования при анализе.

Бета-лактамные антибиотики (табл. 1) находят широкое применение в медицинской практике, так как обладают такими ценными качествами, как надежность, относительно широкий спектр антимикробного действия, высокая активность, стабильность и эффективность. Названные качества дают основания считать эти антибиотики идеальными препаратами для лечения многих бактериальных инфекций.

Основными хемометрическими алгоритмами, применяемым для определения концентрации действующих веществ в ЛП с двумя и более АФИ, являются метод проекции на латентные структуры (ПЛС) и метод регрессии на главные компоненты (РГК), которые подробно описаны в работах [1, 2]. Представленные методы позволя-

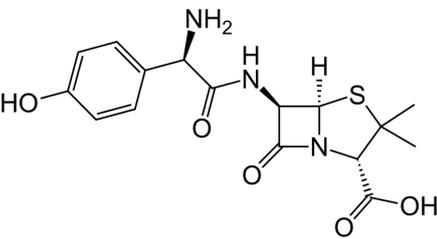
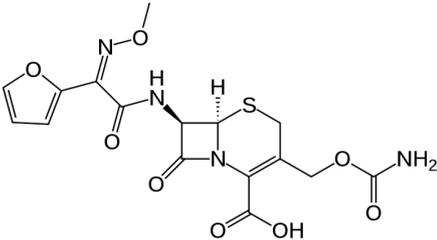
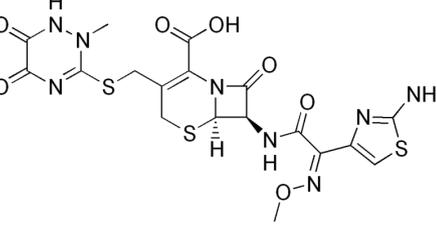
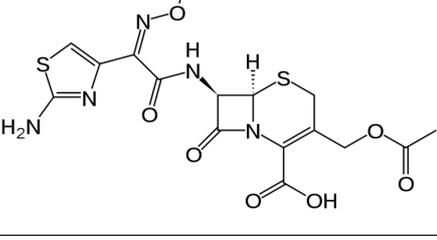
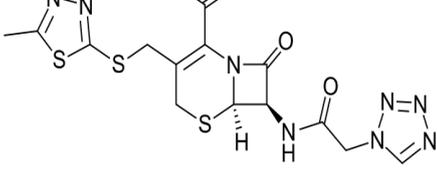
ют работать с данными, в которых не исключено наличие погрешностей как в обучающем, так и в проверочном наборах. Метод ПЛС проводит одновременно разложение матриц данных X (спектры поглощения) и отклика Y (концентрации), строя проекции с максимальной корреляцией соответствующих векторов, что уменьшает количество латентных переменных в описании сложных связей в модели по сравнению с методом РГК [1–3].

В литературе описаны примеры определения антибиотиков в их смесях с одновременным использованием спектрофотометрии и хемометрики. Так, для количественного анализа амоксициллина и флуклоксациллина в их бинарных смесях применялись различные хемометрические модели, а именно: ПЛС, МНКРСО – генетический алгоритм, совмещенный с методом наименьших квадратов и расширенными спектральными остатками (SRACLS – Spectral Residual Augmented Classical Least Squares), МНКОК – метод наименьших квадратов, дополненный остатками концентраций (CRACLS – Concentration Residuals Augmented Classical Least Squares) и ИНС – искусственные нейронные сети (ANN – Artificial Neural Networks), а также проводилось сравнение вышеперечисленных методов совместно с использованием генетического алгоритма (ГА). Методы использованы для количественного анализа лекарственных средств в смесях, приготовленных в лабораторных условиях, и в лекарственном препарате Flumox (EIPICO Pharmaceuticals Company) путем обработки данных



Таблица 1 / Table 1

Краткая характеристика исследуемых антибиотиков
Brief characteristics of the studied antibiotics

Вещество / (Сокращение) Substance / (Abbreviation)	Группа Group	М масса, г/моль M mass, g/mol	Формула Formula
Амоксицилина тригидрат (Амох)	Пенициллины	419.5	
Цефуроксима натрия (Cefur)	Цефалоспориновый антибиотик II поколения	446.4	
Цефтриаксона натрия (Ceft)	Цефалоспориновый антибиотик III поколения	576.6	
Цефотаксима натрия (Ctox)	Цефалоспориновый антибиотик III поколения	477.5	
Цефазолина натрия (Cef)	Цефалоспориновый антибиотик I поколения	476.5	

УФ-спектров. Наиболее надежные и простые модели получены с помощью ГА (табл. 2). Предложенные методы оказались достоверными, простыми и не требующими предварительной стадии разделения [4].

В работе [5] описано спектрофотометрическое определение двух антибактериальных веществ – норфлоксацина и тинидазола – в их бинарной смеси с использованием хемометрических алгоритмов. Спектры поглощения данных

Применение хемометрических алгоритмов в анализе двухкомпонентных смесей антибиотиков
Application of chemometric algorithms in the analysis of two-component mixtures of antibiotics

Компонент (Объект) Component (Object)	Метод Method	1-й компонент 1st component		2-й компонент 2nd component		Ссылка Reference
		RMSEC / RMSEP*	Открываемость Accuracy, %	RMSEC/ RMSEP*	Открываемость Accuracy, %	
1. Амоксициллин 2. Флуклосациллин (Капсулы Flumox (EIPICO Pharmaceuticals Company))	ПЛС-1	0.28/0.28	101.5 ± 1.3	0.24/0.39	100.2 ± 1.1	[4]
	ГА-ПЛС-1	0.24/0.25	101.2 ± 1.4	0.09/0.37	98.9 ± 1.4	
	МНКРСО	0.29/0.29	101.5 ± 1.3	0.16/0.31	99.3 ± 1.2	
	ГА-МНКРСО	0.24/0.25	101.2 ± 1.4	0.09/0.37	99.7 ± 0.8	
	МНКРСО	0.28/0.29	101.5 ± 1.3	0.26/0.37	99.9 ± 1.1	
	ГА-МНКРСО	0.24/0.25	101.2 ± 1.4	0.10/0.37	99.8 ± 0.8	
	ИНС	0.13/0.23	100.9 ± 1.1	0.23/0.28	99.9 ± 1.8	
ГА-ИНС	0.27/0.21	99.4 ± 1.3	0.30/0.31	99.7 ± 1.2		
1. Норфлоксацин 2. Тинидазол (Таблетки Conaz TM (Pharaonia Pharmaceuticals))	1D	–	99.2 ± 1.8	–	98.1 ± 1.6	[5]
	МНК	–	99.03 ± 1.5	–	98.3 ± 1.3	
	РГК	–	98.9 ± 1.8	–	98.2 ± 1.9	
1. Офлоксацин 2. Тинидазол (Таблетки OfloxTZ (Cipla Ltd))	РГК	-/0.04	99.02 ± 1.05	-/0.03	100.7 ± 1.2	[6]
	ПЛС	-/0.04	99.5 ± 1.2	-/0.03	100.7 ± 1.2	
1. Ципрофлоксацин 2. Доксициклин (Таблетки -)	РГК	-/0.14	97.5 ± 0.5	-/0.22	98.4 ± 0.8	[7]
	ПЛС	-/0.14	100.4 ± 1.3	-/0.21	101.9 ± 1.3	
1. Ципрофлоксацин 2. Орнидазол (таблетки ZOХAN-OZ)	РГК	0.3470/0.3469	102.0	0.26024/ 0.26023	102.0	[8]
	ПЛС	0.3395/0.3465	101.6	0.26032/ 0.26032	101.6	

Примечание. RMSEC – среднеквадратичная ошибка обучающего набора данных. RMSEP – среднеквадратичная ошибка проверочного набора [1].

Note. RMSEC – root mean square calibration errors of the training data set; RMSEP – test set mean square error [1].

антибиотиков имеют широкое перекрытие в диапазоне 200–400 нм, что затрудняет их определение без предварительного разделения. Для количественного определения использованы: метод первой производной с «нулевым пересечением» (1D); метод наименьших квадратов (МНК) (CLS – Classical Least Squares); РГК. Погрешности определения находились в пределах 0.2–3.0% для 1D, 0.2–1.6% для МНК и 0.1–2.0% для РГК соответственно для норфлоксацина и тинидазола. Полученные результаты методами МНК и РГК сравнивали с методом 1D. Открываемость составила для 1D –98.1–99.2%, методом МНК– 98.3–99.03% и для РГК 98.2–

98.9%. Вышеописанные методы показали высокие значения открываемости и могут быть применены для анализа смесей норфлоксацина и тинидазола и ЛП, содержащих комбинацию данных АФИ.

В работе [6] проводили количественное спектрофотометрическое определение офлоксацина и тинидазола с использованием методов РГК и ПЛС. Спектры поглощения регистрировали в диапазоне 280–320 нм. Построение хемометрической модели проводили с использованием 24 бинарных смесей в калибровочном наборе и 12 смесей в проверочном наборе. Показано, что хемометрическая обработка



данных позволяет проводить анализ смесей без предварительного этапа разделения. Правильность предложенных методик с использованием РГК и ПЛС подтверждали методом обращеннофазовой ВЭЖХ.

Определение ципрофлоксацина и доксициклина в ЛП спектрофотометрическим методом с применением методов РГК и ПЛС без предварительного разделения смеси представлено в работе [7]. УФ-спектры препаратов регистрировали в диапазоне концентраций 1–10 мкг/мл для ципрофлоксацина и 5–25 мкг/мл для доксициклина. Использовали два набора смесей: 25 калибровочных и 9 проверочных. Оптимизированные модели успешно применены для хемометрического анализа антибиотиков как в синтетических смесях, так и лекарственном препарате с открываемостью от 97.50% до 101.87% и относительной погрешностью < 2%.

Ципрофлоксацин и орнидазол при совместном присутствии определяли методами РГК и ПЛС в искусственных смесях и лекарственном препарате ZOХАN-OZ [8]. Спектры регистрировали в диапазоне длин волн от 267 до 330 нм. Для калибровки использовали 27 смесей и для валидации 9 смесей в диапазоне концентраций 2.0–12.0 мкг/мл. Открываемость составила 102% и 101.6% для определяемых веществ хемометрическими методами РГК и ПЛС.

Несмотря на успешные примеры реализации методик спектрофотометрического определения антибиотиков с использованием хемометрической обработки данных, требуется расширение круга исследуемых антибиотиков и систематическое изучение влияния природы антибиотиков и степени перекрытия их УФ-спектров на метрологические характеристики методик. Целью данной работы явилась оценка возможности спектрофотометрического определения пяти β-лактамных антибиотиков в их бинарных смесях с использованием метода проекций на латентные структуры.

Материалы и методы

Стандартные растворы антибиотиков цефуроксима, цефазолина, цефтриаксона и цефотаксима ($C = 0.01$ М) готовили из стандарта (Красфарма, Россия) путем растворения точной навески дистиллированной водой в мерных колбах вместимостью 25 мл. Раствор амоксициллина ($C = 500$ мкг/мл) – 1 таблетку (ЛП-амоксициллин, Биохимик, Россия) истерали в фарфоровой ступ-

ке, навеску 0.0050 г растворяли в воде в мерной колбе вместимостью 10 мл. Рабочие растворы ($C = 3, 7, 10, 20, 30$ мкг/мл) готовили путем дальнейшего разведения стандартных растворов. Для отделения вспомогательных веществ из растворов амоксициллина при спектрофотометрическом исследовании использовали ультразвуковую ванну «Digital Ultrasonic cleaner» (Китай).

Электронные спектры поглощения регистрировали на спектрофотометре Shimadzu UV-1800 (Киото, Япония), программное обеспечение UV-Probe 2.1, в кварцевых кюветках ($l = 10$ мм). Рабочий диапазон длин волн для анализа растворов антибиотиков в системах «цефалоспорин – цефалоспорин» (Cefur-Cef, Ceft-Stox, Cefur-Stox, Ceft-Cef) составил 220–350 нм, а для системы «цефалоспорин – пенициллин» – (Cefur-Amox) – 250–320 нм, шаг регистрации – 1 нм.

Расчет методами ПЛС-1 и ПЛС-2 проводили в надстройке Chemometrics2 для Microsoft Excel, предоставленной профессором А. Л. Померанцевым [1].

Результаты и их обсуждение

Электронные спектры поглощения исследуемых антибиотиков представлены на рис. 1. Спектр раствора Cef имеет широкую полосу поглощения с максимумом при 272 нм. Электронный спектр раствора Ceft имеет характерные максимумы при 240 и 271 нм. Cefur представлен широкой полосой поглощения с максимумом при 274 нм и плечом в районе 230 нм. Stox имеет широкую полосу поглощения с максимумом поглощения при 235 нм и плечом в районе 260 нм. Спектр Amox имеет характерные максимумы поглощения при 227 и 272 нм и плечо при 280 нм. Таким образом, Cef, Ceft и Cefur имеют очень близкие максимумы в диапазоне от 271 до 274 нм, а Ceft и Stox имеют близкие максимумы в диапазоне 235–240 нм. Спектры поглощения всех пяти антибиотиков пересекаются практически во всем исследуемом диапазоне и раздельное определение антибиотиков по оптической плотности в максимуме поглощения невозможно.

Для проверки выполнения закона аддитивности [9] построены градуировочные зависимости оптической плотности в максимуме поглощения от концентрации антибиотиков (пример показан на рис. 2) и рассчитаны их молярные коэффициенты поглощения (табл. 3).

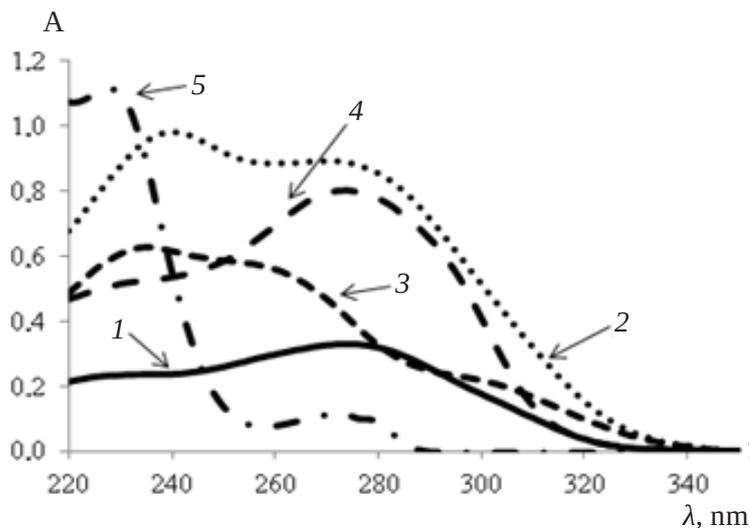


Рис. 1. Электронные спектры поглощения растворов индивидуальных антибиотиков: Cef (1); Ceft (2); Ctox (3); Cefur (4) ($C = 20 \text{ мкг/мл}$) и Amox (5) ($C = 73 \text{ мкг/мл}$)

Fig. 1. Electronic absorption spectra of solutions of individual antibiotics: Cef (1); Ceft (2); Ctox (3); Cefur (4) ($C = 20 \text{ }\mu\text{g/ml}$) and Amox (5) ($C = 73 \text{ }\mu\text{g/ml}$)

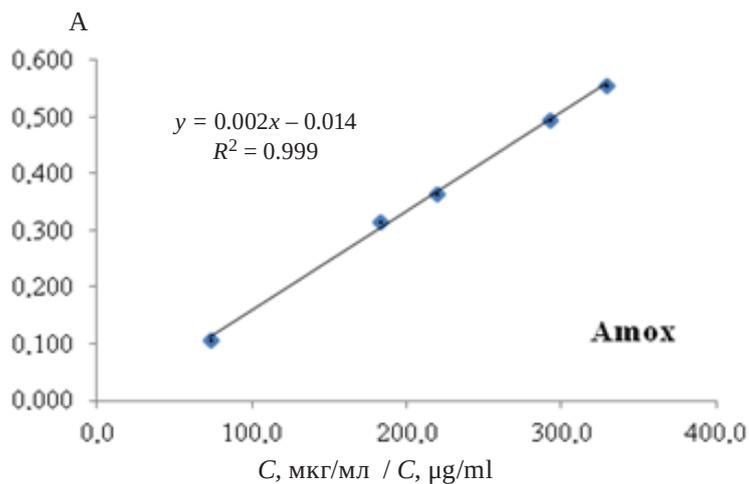


Рис. 2. Градуировочная зависимость для определения Amox

Fig. 2. Calibration curve for Amox detection

Таблица 3 / Table 3

Параметры спектров поглощения и градуировочных зависимостей исследуемых антибиотиков

Parameters of absorption spectra and calibration curves of the studied antibiotics

Антибиотик Antibiotic	$\lambda_{\text{макс}}, \text{ нм}$ $\lambda_{\text{max}}, \text{ nm}$	$\epsilon, \text{ л} \times \text{ моль}^{-1} \times \text{ см}^{-1}$	C, мкг/мл C, $\mu\text{g/ml}$	R^2
Amox	227; 272	$(6.0 \pm 0.2) \cdot 10^2$	73–330	0.999
Cefur	274	$(1.7 \pm 0.2) \cdot 10^4$	3–0	0.995
Ctox	235	$(1.7 \pm 0.2) \cdot 10^4$	3–30	0.979
Ceft	240; 271	$(3.1 \pm 1.2) \cdot 10^4$	3–30	0.966
Cef	272	$(9.1 \pm 0.2) \cdot 10^4$	3–30	0.981



В качестве обучающего набора для построения модели методом ПЛС использовали 24 бинарных смеси «цефалоспорин – цефалоспорин»: Cefur-Cef, Ceft-Ctox, Cefur-Ctox, Ceft-Cef в различных соотношениях (табл. 4). В системе «цефалоспорин – амоксициллин» Cefur-Амох спектры поглощения регистрировали для 16 бинарных смесей, содержащих различные концентрации определяемых антибиотиков (см. табл. 4). Смеси в проверочных наборах также характеризовались различными концентрациями обоих компонентов [3].

Первым этапом моделирования данных с использованием хемометрического алгоритма ПЛС является выбор оптимального числа латентных переменных (LV), которое позволяет устранить недооценку или переоценку модели. Точность многомерной градуировки принято характеризовать величиной RMSEC (среднеквадратичной ошибкой градуировки), а точность предсказания – величиной RMSEP (среднеква-

дратичной ошибкой прогноза). Эти параметры оценки точности модели связаны между собой и должны рассматриваться совместно, так как улучшение одного приводит к ухудшению другого параметра [1, 2].

Выбор оптимального числа латентных переменных проводили на основании минимального значения RMSEP, при котором, однако, не наблюдается резкого возрастания RMSEC, что определяет оптимальную сложность модели.

На рис. 3 представлены величины RMSEC и RMSEP при различном числе LV, а также зависимости «измерено – предсказано» на примере реализации метода ПЛС-2 для системы Cefur – Cef.

При построении проекционного пространства метод ПЛС-1 учитывает значения матрицы X и один отклик Y (т.е. концентрацию одного антибиотика), в результате получается несколько проекционных подпространств в отдельности для каждого компонента, а в методе ПЛС-2

Таблица 4 / Table 4

Концентрации антибиотиков в бинарных смесях для обучающего и проверочного* набора
Concentrations of antibiotics in binary mixtures for the training and validation* sets

Смеси: Cefur-Cef; Ceft-Ctox; Cefur-Ctox; Ceft-Cef Mixtures: Cefur-Cef; Ceft-Ctox; Cefur-Ctox; Ceft-Cef												
№ смеси Mix No	1	2*	3	4	5	6*	7	8	9	10*	11	12 ^c
C, мкг/мл µg/ml	3	5	7	9	11	13	15	17	19	21	23	25
	27	25	23	21	19	17	15	13	11	9	7	5
№ смеси Mix No	13	14	15	16	17	18*	19	20	21	22	23	24
C, мкг/мл µg/ml	27	3	5	7	9	10	11	13	15	17	10	15
	3	17	15	13	11	10	19	7	5	3	15	10
Смесь Cefur-Амох Cefur-Amox Mixture												
№ смеси Mix No	1	2 ^{a,b,c}	3	4	5	6 ^{a,b}	7	8				
C, мкг/мл µg/ml	5	10	20	30	5	10	20	30				
	95	90	80	70	85	85	85	85				
№ смеси Mix No	9	10^b	11^c	12^a	13^b	14^a	15^c	16^c				
C, мкг/мл µg/ml	5	5	5	5	20	20	20	20				
	140	130	120	110	140	130	120	110				

Примечание. а – проверочный набор для Cefur (ПЛС-1); b – проверочный набор для Амох (ПЛС-1); с – проверочный набор для метода Cefur–Амох (ПЛС-2).

Note. a – validation set for Cefur (PLS-1); b – validation set for Amox (PLS-1); c – validation set for mixtures the Cefur–Amox method (PLS-2).

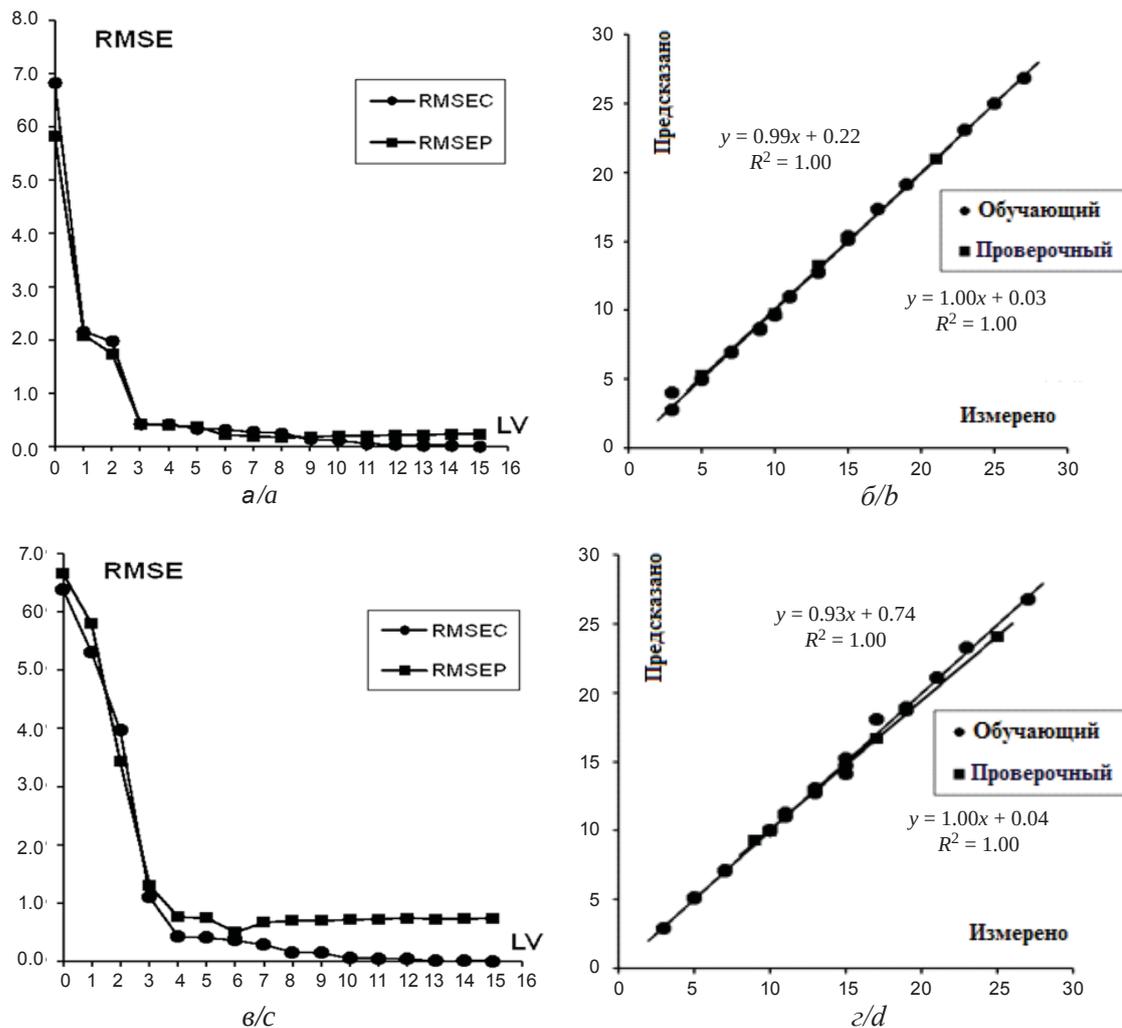


Рис. 3. Зависимости RMSE от числа LV (а, в) и зависимости «измерено – предсказано» (б, г) при определении Cefur (а, б) и Cef (в, г) в их смеси методом ПЛС-2

Fig. 3. RMSE vs LV numbers (a, c) and “predicted – measured” dependences for the Cefur (a, b) and Cef (c, d) determination in their mixture using the PLS-2 method

отклики Y (концентрации обоих антибиотиков) рассматриваются как общее подпространство [1, 2]. Основные параметры моделей для определения антибиотиков в смесях «цефалоспорин – цефалоспорин» и «цефалоспорин – амоксициллин» суммированы в табл. 5.

Как видно из данных табл. 5, зависимости «измерено – предсказано» имеют линейный вид с тангенсом наклона близким к 1 и свободным членом близким к нулю (кроме Атох); квадрат коэффициента аппроксимации близок к 1; что говорит о высоком качестве моделей. Можно отметить, что при использовании метода ПЛС-2 для второго компонента в смеси наблюдаются большие значения RMSEC и RMSEP, особенно в случае системы «цефалоспорин – амоксициллин».

Определение содержания антибиотиков в проверочных смесях проводили при оптимальном числе LV. Для систем «цефалоспорин – цефалоспорин» и «цефалоспорин – амоксициллин» полученные данные приведены в табл. 6 и на рис. 4. Видно, что наибольшая ошибка наблюдается при определении Атох, что, вероятно, связано с его низким коэффициентом молярного поглощения света.

Сравнивая результаты определения антибиотиков методами ПЛС-1 и ПЛС-2, можно вести речь о зависимости погрешности определения не только от метода, но и концентрации веществ в смеси. Наибольшая погрешность при определении методом ПЛС-1 в системах «цефалоспорин – цефалоспорин» наблюдается в смеси Cefur–Cef ($C = 5 : 25$ мкг/мл), которая



Таблица 5 / Table 5

Параметры ПЛС моделей для систем «цефалоспорин – цефалоспорин» и «цефалоспорин – амоксициллин»

Parameters of PLS models for the “cephalosporin – cephalosporin” and “cephalosporin – amoxicillin” systems

Смесь Mix	Метод Method	Аналит Analyte	Число LV	Обучающий набор / Training set			Проверочный набор / Test set		
				Уравнение Equation	R ²	RMSEC	Уравнение Equation	R ²	RMSEP
Cefur-Ctox	ПЛС1	Cefur	3	$y = 1.00x + 0.03$	1.00	0.33	$y = 0.99x - 0.01$	1.00	0.38
		Ctox	5	$y = 1.00x + 0.01$	1.00	0.11	$y = 0.93x + 0.72$	1.00	0.71
	ПЛС2	Cefur	5	$y = 1.00x + 0.03$	1.00	0.33	$y = 0.97x + 0.24$	1.00	0.44
		Ctox	5	$y = 1.00x + 0.02$	1.00	0.23	$y = 0.94x + 0.47$	1.00	0.61
Cefur-Cef	ПЛС1	Cefur	5	$y = 1.00x + 0.04$	1.00	0.36	$y = 1.03x - 0.48$	1.00	0.31
		Cef	7	$y = 1.00x + 0.01$	1.00	0.11	$y = 1.01x - 0.31$	1.00	0.37
	ПЛС2	Cefur	6	$y = 1.00x + 0.03$	1.00	0.27	$y = 0.99x + 0.22$	1.00	0.19
		Cef	6	$y = 1.00x + 0.04$	1.00	0.37	$y = 0.93x + 0.74$	1.00	0.51
Ceft-Ctox	ПЛС1	Ceft	2	$y = 1.00x + 0.06$	1.00	0.43	$y = 1.01x + 0.07$	1.00	0.16
		Ctox	4	$y = 1.00x + 0.01$	1.00	0.10	$y = 1.00x + 0.02$	1.00	0.11
	ПЛС2	Ceft	3	$y = 1.00x + 0.05$	1.00	0.43	$y = 1.00x + 0.14$	1.00	0.15
		Ctox	5	$y = 1.00x + 0.01$	1.00	0.12	$y = 1.00x + 0.01$	1.00	0.97
Ceft-Cef	ПЛС1	Ceft	3	$y = 1.00x + 0.01$	1.00	0.09	$y = 1.02x - 0.11$	1.00	0.22
		Cef	4	$y = 1.00x + 0.01$	1.00	0.11	$y = 0.97x + 0.21$	1.00	0.28
	ПЛС2	Ceft	5	$y = 1.00x + 0.01$	1.00	0.08	$y = 1.01x - 0.01$	1.00	0.21
		Cef	3	$y = 1.00x + 0.01$	1.00	0.18	$y = 0.98x + 0.01$	1.00	0.31
Cefur-Amox	ПЛС1	Cefur	3	$y = 1.00x + 0.01$	1.00	0.15	$y = 1.00x + 0.07$	1.00	0.07
		Amox	2	$y = 0.95x + 4.66$	0.95	4.73	$y = 0.81x + 22.11$	0.87	7.83
	ПЛС2	Cefur	3	$y = 1.00x + 0.01$	1.00	0.09	$y = 0.99x + 0.05$	1.00	0.07
		Amox	3	$y = 0.97x + 3.74$	0.97	4.19	$y = 0.96x + 13.32$	0.92	9.57

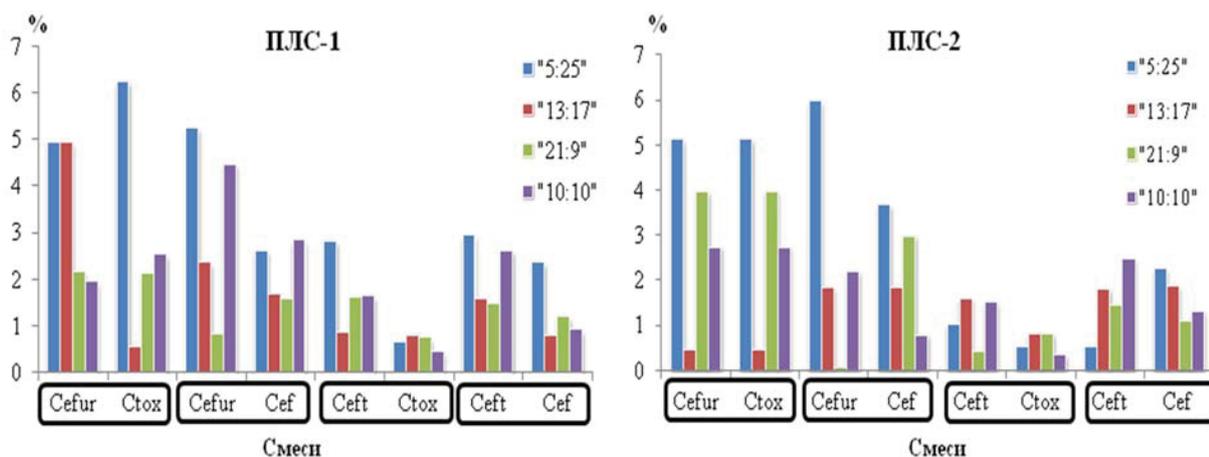


Рис. 4. Погрешности определения антибиотиков в проверочном наборе для систем «цефалоспорин – цефалоспорин» методами ПЛС-1 и ПЛС-2 (цвет онлайн)

Fig. 4. Relative errors of the antibiotics determination in the validation set for the “cephalosporin – cephalosporin” systems using the PLS-1 and PLS-2 methods (color online)

Погрешности определения антибиотиков в проверочном наборе
Errors in determining antibiotics in the validation set

Системы «цефалоспорин – цефалоспорин» «Cephalosporin – cephalosporin» systems							
Смесь Mix	Компонент Analyte	№ смеси Mix No	Соотношение антибиотиков Antibiotics ratio	Относительная погрешность, % Relative error, %			
				1-й компонент 1st component		2-й компонент 2nd component	
				ПЛС-1 PLS-1	ПЛС-2 PLS-2	ПЛС-1 PLS-1	ПЛС-2 PLS-2
Cefur- Ctox	1. Cefur 2. Ctox	2	5:25	4.94	5.13	6.22	5.13
		6	13:17	4.93	0.45	0.53	0.45
		10	21:9	2.14	3.98	2.13	3.98
		18	10:10	1.93	2.74	2.51	2.74
Cefur- Cef	1. Cefur 2. Cef	2	5:25	5.23	5.98	2.61	3.67
		6	13:17	2.35	1.83	1.68	1.84
		10	21:9	0.81	0.07	1.57	2.99
		18	10:10	4.46	2.20	2.82	0.79
Ceft- Ctox	1. Ceft 2. Ctox	2	5:25	2.81	1.01	0.63	0.53
		6	13:17	0.85	1.61	0.79	0.83
		10	21:9	1.60	0.44	0.75	0.82
		18	10:10	1.62	1.51	0.45	0.34
Ceft- Cef	1. Ceft 2. Cef	2	5:25	2.93	0.53	2.35	2.25
		6	13:17	1.55	1.81	0.78	1.87
		10	21:9	1.46	1.45	1.19	1.11
		18	10:10	2.61	2.47	0.90	1.31
Система «цефалоспорин – амоксициллин» «Cephalosporin – amoxicillin» system							
Метод Method	ПЛС-1 PLS-1			ПЛС-2 PLS-2			
Компонент Analyte	№	Соотношение антибиотиков Antibiotics ratio	Относительная погрешность, % Relative error, %	№	Соотношение Ratio	Относительная погрешность, % Relative error, %	
1. Cefur	2	10:90	1.04	2	10:90	0.70	
	6	10:85	0.96	11	5:120	1.17	
	12	5:110	0.24	15	20:120	0.47	
	14	20:130	0.13	16	20:110	0.22	
2. Амох	2	10:90	14.69	2	10:90	8.67	
	6	10:85	5.61	11	5:120	4.34	
	10	5:130	2.59	15	20:120	6.65	
	13	20:140	5.50	16	20:110	13.32	



составила для цефуроксима – 5.23% и цефотоксима – 6.22%. Погрешность определения в остальных случаях не превышает 5%. Метод ПЛС-2 показывает результаты незначительно хуже в сравнении с ПЛС-1. Так, цефуроксим определяется с погрешностями 5.13; и 5.98% в смесях Cefur:Stox и Cefur:Cef ($C = 5 : 25$ мкг/мл).

В системе «цефалоспорины – амоксициллин» погрешность определения Cefur методом ПЛС-1 не превышает 1.5%, Атох – 14.69%. Метод ПЛС-2 показывает погрешность определения не более 1.17 для Cefur, тогда как для Атох – 13.3%.

Заключение

Показана возможность раздельного спектрофотометрического определения антибиотиков цефалоспоринового и пенициллинового рядов в их смесях проекционными методами ПЛС-1 и ПЛС-2. Оценены среднеквадратичные ошибки калибровки и прогноза, на основании которых подобрано оптимальное число латентных переменных для каждой системы и метода. Установлено, что все исследованные модели дают высокие значения квадрата коэффициента аппроксимации и тангенсы угла наклона зависимостей «измерено – предсказано» близкие к единице, что позволяет рекомендовать эти методы для практического использования.

Список литературы

1. Померанцев А. Л. Хемометрика в Excel: учебное пособие. Томск : Издательство Томского политехнического университета, 2014. 435 с.
2. Кучерявский С., Панчук В., Монахова Ю., Кирсанов Д. Введение в хемометрику. URL: <https://www.chemometrics.ru/media/documents/site/Введение-в-хемометрику.pdf> (дата обращения: 15.09.2023).
3. Силаев Д. В., Шестопалова Н. Б., Фомина Ю. А., Русанова Т. Ю. Применение хемометрических алгоритмов для спектрофотометрического определения синтетических пищевых красителей E110 и E124 // Известия высших учебных заведений. Химия и химическая технология. 2022. Т. 65, № 2. С. 50–59. <https://doi.org/10.6060/ivkkt.20226502.6497>
4. Attia K. A., Nassar M. W., El-Zeiny M. B., Serag A. Effect of genetic algorithm as a variable selection method on different chemometric models applied for the analysis of binary mixture of amoxicillin and flucloxacillin: A comparative study // Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. 2016. Vol. 156. P. 54–62. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2015.11.024>
5. Mohamed A. E. M. I., Abdelmageed O. H., Refaat I. H. Determination of two antibacterial binary mixtures by

chemometrics-assisted spectrophotometry // Journal of AOAC International. 2007. Vol. 90, № 1. P. 128–141. <https://doi.org/10.1093/jaoac/90.1.128>

6. Gandhi S. V., Patil D., Baravkar A. A. Comparison of Chemometric assisted UV Spectrophotometric and RP-HPLC Method for the simultaneous determination of Ofloxacin and Tinidazole in their Combined dosage form // Research Journal of Pharmacy and Technology. 2021. Vol. 14, № 11. P. 5713–5718. <https://doi.org/10.52711/0974-360X.2021.00993>
7. Eticha T. Kahsay G., Asefa F., Hailu T., Gebretsadik H., Gebretsadikan T., Thangabalan B. Chemometric-Assisted spectrophotometric method for the simultaneous determination of ciprofloxacin and doxycycline hyclate in pharmaceutical formulations // Journal of Analytical Methods in Chemistry. 2018. Vol. 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/9538435>
8. Gandhi S. V., Waghmare A. D., Nadwani Y. S., Mutha A. S. Chemometrics-assisted UV spectrophotometric method for determination of ciprofloxacin and ornidazole in pharmaceutical formulation // ARC Journal of Pharmaceutical Sciences. 2017. Vol. 3, № 1. P. 19–25. <http://dx.doi.org/10.20431/2455-1538.0301005>
9. Силаев Д. В., Шестопалова Н. Б., Фомина Ю. А., Русанова Т. Ю. Определение синтетических пищевых красителей E110 и E124 при совместном присутствии методами Фирордта и производной спектрофотометрии // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2019. Т. 19, вып. 3. С. 257–267. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-3-257-267>

References

1. Pomerantsev A. L. *Khemometrika v Excel: uchebnoe posobie* [Chemometrics in Excel: Textbook]. Tomsk, Tomsk Polytechnic University Publ., 2014. 435 p. (in Russian).
2. Kucheryavsky S., Panchuk V., Monakhova Yu., Kirsanov D. *Vvedenie v khemetriku* [Introduction to Chemometrics]. Available at: <https://www.chemometrics.ru/media/documents/site/Introduction-to-chemometrics.pdf> (accessed September 15, 2023) (in Russian).
3. Silaev D. V., Shestopalova N. B., Fomina Yu. A., Rusanova T. Yu. Application of chemometric algorithms for spectrophotometric determination of synthetic food dyes E110 and E124. *News of Higher Educational Institutions. Chemistry and Chemical Technology*, 2022, vol. 65, no. 2, pp. 50–59 (in Russian). <https://doi.org/10.6060/ivkkt.20226502.6497>
4. Attia K. A., Nassar M. W., El-Zeiny M. B., Serag A. Effect of genetic algorithm as a variable selection method on different chemometric models applied for the analysis of binary mixture of amoxicillin and flucloxacillin: A comparative study. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2016, vol. 156, pp. 54–62. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2015.11.024>



5. Mohamed A. E. M. I., Abdelmageed O. H., Refaat I. H. Determination of two antibacterial binary mixtures by chemometrics-assisted spectrophotometry. *Journal of AOAC International*, 2007, vol. 90, no. 1, pp. 128–141. <https://doi.org/10.1093/jaoac/90.1.128>
6. Gandhi S. V., Patil D., Baravkar A. A. Comparison of chemometric assisted UV spectrophotometric and RP-HPLC method for the simultaneous determination of Ofloxacin and Tinidazole in their combined dosage form. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 2021, vol. 14, no. 11, pp. 5713–5718. <https://doi.org/10.52711/0974-360X.2021.00993>
7. Eticha T. Khsay G., Asefa F., Hailu T., Gebretsadik H., Gebretsadikan T., Thangabalan B. Chemometric-Assisted spectrophotometric method for the simultaneous determination of ciprofloxacin and doxycycline hyclate in pharmaceutical formulations. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 2018, vol. 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/9538435>
8. Gandhi S. V., Waghmare A. D., Nadwani Y. S., Mutha A. S. Chemometrics-assisted UV spectrophotometric method for determination of ciprofloxacin and ornidazole in pharmaceutical formulation. *ARC Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2017, vol. 3, no. 1, pp. 19–25. <http://dx.doi.org/10.20431/2455-1538.0301005>
9. Silaev D. V., Shestopalova N. B., Fomina Yu. A., Rusanova T. Yu. Determination of synthetic food dyes E110 and E124 in their joint presence using Firordt methods and derivative spectrophotometry. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2019, vol. 19, iss. 3, pp. 257–267 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-3-257-267>

Поступила в редакцию 11.09.2023; одобрена после рецензирования 18.09.2023; принята к публикации 21.09.2023
The article was submitted 11.09.2023; approved after reviewing 18.09.2023; accepted for publication 21.09.2023