



Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 3. С. 271–281
Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology, 2024, vol. 24, iss. 3, pp. 271–281
<https://ichbe.sgu.ru> <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-3-271-281>, EDN: HEPTCV

Научная статья
УДК 543.422.3-74

Идентификация цефалоспориновых антибиотиков с использованием ИК-спектроскопии и хемометрических алгоритмов



А. Ю. Шабунина, Т. Ю. Русанова ✉

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

Шабунина Анна Юрьевна, студент кафедры аналитической химии и химической экологии, kalinichenkoau@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0006-5329-9896>

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

Аннотация. Показано использование ИК-спектроскопии в средней области в сочетании с хемометрическими алгоритмами для идентификации цефалоспориновых антибиотиков в виде порошков для инъекций. В качестве объектов исследования выбраны цефалоспорины III поколения: цефтриаксон, цефтазидим, цефотаксим, широко применяющиеся в фармацевтической практике. ИК-спектры препаратов регистрировали с использованием ИК-фурье-спектрометра ФТ-801 с приставкой нарушенного полного внутреннего отражения. Обработку результатов осуществляли в компьютерном пакете Microsoft Excel с надстройкой XLSTAT методом главных компонент (МГК) / principal component analysis (PCA), методом *k*-средних / *k*-means и агломеративной иерархической кластеризации / agglomerative hierarchical clustering (AHC). Показано, что с помощью данных алгоритмов можно провести идентификацию исследуемых цефалоспориновых антибиотиков различных производителей. В методе МГК точки, соответствующие образцам, находятся в отдельных квадрантах в зависимости от природы антибиотика. Методом *k*-средних получено разделение антибиотиков на классы, также видны различия и в самих классах в зависимости от производителя. Наиболее наглядное разделение цефалоспоринов наблюдается при представлении данных методом АНС в виде дендрограммы.

Ключевые слова: цефалоспориновые антибиотики, ИК-спектроскопия в средней области, хемометрический анализ, метод главных компонент, агломеративная иерархическая кластеризация, метод *k*-средних

Благодарности. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, проект № 24-23-00519.

Для цитирования: Шабунина А. Ю., Русанова Т. Ю. Идентификация цефалоспориновых антибиотиков с использованием ИК-спектроскопии и хемометрических алгоритмов // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2024. Т. 24, вып. 3. С. 271–281. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-3-271-281>, EDN: HEPTCV

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

Article

The identification of cephalosporins antibiotics using IR spectroscopy and chemometric algorithms

A. Yu. Shabunina, T. Yu. Rusanova ✉

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

Anna Yu. Shabunina, kalinichenkoau@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0001-7456-033X>

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

Abstract. The use of mid-field infrared spectroscopy in combination with chemometric algorithms for the identification of cephalosporin antibiotics in the form of injectable powders is demonstrated. III generation cephalosporins have been selected as objects of the study: ceftriaxone, ceftazidime, cefotaxime, which are widely used in pharmaceutical practice. IR spectra of the medical preparations have been recorded using an FT-801 Fourier transform IR spectrometer with an attenuated total reflection (ATR) attachment. The results have been processed in the Microsoft Excel computer package with the XLSTAT add-in using the principal component analysis (PCA), the *k*-means method and agglomerative hierarchical clustering (AHC). It has been shown that using these algorithms it is possible to identify the studied cephalosporin antibiotics from different manufacturers. In the PCA method, points corresponding to samples are located in separate quadrants depending on the nature of the antibiotic. The *k*-means method has been used to divide antibiotics into classes; differences are also visible in the classes themselves, depending on the manufacturer. The clearest separation of cephalosporins is observed when data are presented using the AHC method in the form of a dendrogram.

Key words: cephalosporin antibiotics, mid-IR spectroscopy, chemometric analysis, principal component analysis, agglomerative hierarchical clustering, *k*-means method

Acknowledgements. This work was supported by the Russian Science Foundation (project No. 24-23-00519).



For citation: Shabunina A. Yu., Rusanova T. Yu. The identification of cephalosporins antibiotics using IR spectroscopy and chemometric algorithms. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2024, vol. 24, iss. 3, pp. 271–281 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2024-24-3-271-281>, EDN: HEPTCV

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

Введение

Антибиотики – это химиотерапевтические вещества, образуемые при биосинтезе микроорганизмов, и их производные, а также вещества, полученные путем химического синтеза или выделенные из природных источников (ткани животных и растений), обладающие способ-

ностью избирательно подавлять в организме возбудителей заболеваний (бактерии, грибы, простейшие) [1]. Наиболее широко применяются антибиотики тетрациклинового, хинолонового рядов и β -лактамы [2].

На рис. 1 приведены структурные формулы исследуемых в данной работе цефалоспориновых антибиотиков.

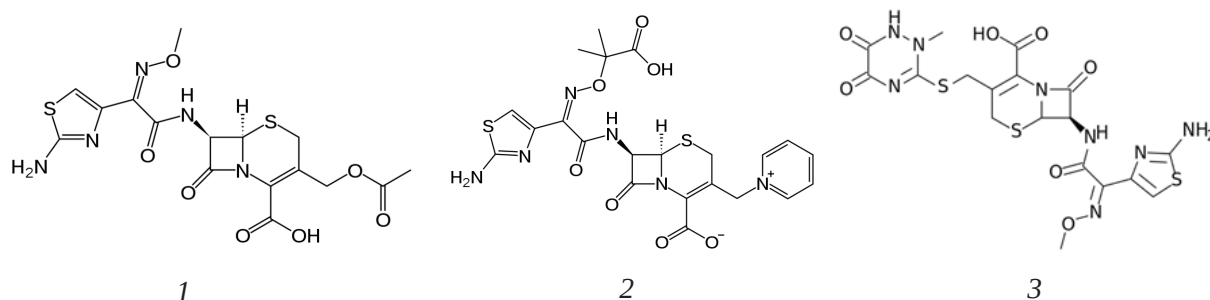


Рис. 1. Структурные формулы цефалоспориновых антибиотиков: 1 – цефотаксим (ЦФМ), 2 – цефтазидим (ЦФТМ), 3 – цефтриаксон (ЦФТР)

Fig. 1. Structural formulas of cephalosporin antibiotics: 1 – cefotaxime (CFM), 2 – ceftazidime (CFTM), 3 – ceftriaxone (CFTR)

Контроль лекарственных препаратов осуществляется на основании нормативных документов, основным из которых является Государственная фармакопея Российской Федерации [3]. Для идентификации и определения антибиотиков чаще всего применяют хроматографические [4] и спектроскопические методы [4–6]. Хроматографические методы требуют дорогостоящего оборудования, зачастую длительной пробоподготовки и высококвалифицированного персонала. Поэтому перспективным является сочетание спектроскопических методов определения антибиотиков с хемометрическими алгоритмами.

В литературе описано сочетание многомерной флуоресцентной спектроскопии (3D и 2D) с хемометрическими инструментами для обнаружения и количественного определения пенициллина, сульфадиазина и тетрациклина в молоке. Выявлена отрицательная корреляция между концентрацией антибиотика и высотой пика флуоресценции ($r \geq 0,963$ и $p \leq 0,002$). Установлена возможность количественного определения антибиотиков: $R^2 > 0,9$, что указывает на приемлемую точность разработанной методики [7].

В работе [8] использовались хемометрические инструменты для исследования качества

данных трех- и четырехсторонней жидкостной хроматографии, полученных с помощью двух разных флуоресцентных детекторов и применяемых для определения хинолоновых антибиотиков в животных тканях. Десять хинолоновых антибиотиков были одновременно проанализированы в съедобных тканях животных. Метод многомерного разрешения кривых с использованием ограниченного алгоритма чередующихся наименьших квадратов / multivariate curve resolution alternating least-squares (MCR-ALS) обеспечил результаты со средними относительными ошибками прогнозирования в диапазоне 4–12%.

Предложен быстрый и простой метод определения пенициллиновых антибиотиков в лекарственных средствах. Он основан на жидкостно-жидкостной микроэкстракции ассоциатов пенициллина с метиленовым синим и измерении колориметрических характеристик экстрактов с помощью смартфона и программного обеспечения. Пределы обнаружения и определения составляют 0,2 и 0,6–0,8 мкг/мл соответственно. Массив данных (колориметрические параметры в системе RGB) обрабатывались методами PCA, иерархического кластерного анализа / hierarchical cluster analysis (HCA) и метода k -средних с



использованием программного обеспечения XLSTAT. Калибровочные характеристики линейны с коэффициентами достоверности аппроксимации $>0,99$ [9].

Исследовали возможность определения цефокситина натрия шестью хемометрическими моделями (регрессия на главные компоненты/principal component regression (PCR), проекция на латентные структуры/partial least squares (PLS), генетический алгоритм/genetic algorithm (GA), сочетание генетического алгоритма и проекции на латентные структуры (GA-PLS), искусственная нейронная сеть/artificial neural network (ANN), комбинация генетических алгоритмов с искусственной нейронной сетью (GA-ANN)). Более надежные модели получены на основе GA, они показывают меньшие величины среднеквадратичной погрешности градуировки/root-mean square error of calibration (RMSEC) и среднеквадратичной погрешности прогноза/root-mean square error of prediction (RMSEP) [10].

Хемометрические подходы использованы для определения цефалоспоринов в сточных водах [11]. Для определения цефпрозила, цефрадина и цефадроксила сравнивали PCR, PLS, MCR-ALS и ANN. Для предложенных хемометрических методов получены удовлетворительные результаты, тогда как метод ANN показал наилучшие аналитические характеристики. Методом MCR-ALS получили хорошую корреляцию между экспериментальными и расчетными спектрами трех компонентов.

Разработан метод быстрой идентификации производителей лекарственных средств на основе спектроскопии лазерного пробоя [12]. Хемометрическими методами обрабатывались спектры от 12 образцов трех типов пенициллина (таблетки феноксиметилпенициллина калия, капсулы амоксициллина и таблетки амоксициллина и клавуланата калия), выпускаемые 10 производителями. Характерные линии трех типов пенициллина были ранжированы по важности методом случайного леса/random forest (RF). Для идентификации использовали – линейный дискриминантный анализ/linear discriminant analysis (LDA), метод опорных векторов/support vector machines (SVM) и ANN. RF-ANN обеспечил лучший результат классификации и 100%-ную точность идентификации производителя пенициллина.

Предложен метод идентификации, сочетающий терагерцовую (ТГц) спектроскопию и хемометрический подход [13]. В работе исследованы шестнадцать типов антибиотиков, включая цефалоспорины, макролиды и тетрациклины. Для

уменьшения размерности данных реализованы метод главных компонент и стохастическое вложение соседей с t-распределением/t-distributed stochastic neighbor embedding (t-SNE). Данные после уменьшения размерности обработаны методом SVM. Проведено сравнение различных методов оптимизации параметров модели: поиск по сетке/grid search (GS), GA и оптимизация роя частиц/particle swarm optimization (PSO). При использовании модели t-SNE-PSO-SVM достигнута самая высокая средняя точность, которая составила 99,91%. Таким образом, показано, что комбинация ТГц-спектроскопии и хемометрического распознавания обладает большим потенциалом для идентификации лекарственных веществ [13].

Сочетание спектроскопии ближнего инфракрасного диапазона с хемометрическими алгоритмами дает возможность точного, быстрого и неразрушающего метода идентификации антибиотиков. Для аутентификации антибиотиков использовалась БИК-спектроскопия с PCA и мягким независимым моделированием аналогии классов/soft independent modelling by class analogy (SIMCA) [14]. Всего проанализировано 23 антибиотика, которые соответствовали шести различным активным фармацевтическим ингредиентам: тригидрату амоксициллина и клавулановой кислоте, дигидрату азитромицина, гидрохлориду ципрофлоксацина, гидрохлориду доксициклина и офлоксацину. PCA показал отдельные кластеры, соответствующие каждой группе антибиотиков. SIMCA обеспечило более точную классификацию по сравнению с PCA для всех антибиотиков, за исключением ципрофлоксацина, в продуктах которого имеется много вспомогательных веществ с перекрывающимися спектрами.

В работе [15] исследована возможность использования ближней инфракрасной спектроскопии в сочетании с классовым моделированием для аутентификации антибиотиков. Всего собран 591 образец антибиотиков девяти классов различных лекарственных форм. Для анализа использовался метод PCA. В качестве целевых классов для экспериментов использовались три вида антибиотиков. Результаты подтвердили, что такая схема осуществима и может быть использована при скрининге поддельных лекарств.

В литературе нами найдена только одна работа, посвященная применению ИК-спектроскопии нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО) в сочетании с хемометрикой для анализа препаратов антибиотиков. В работе [16] предложен способ количественного определения



цефиксима методом ИК-спектроскопии с приставкой НПВО [16]. Спектральные данные в диапазоне частот от 890 до 1179 см⁻¹ обрабатывали методом PLS, коэффициент корреляции составил 0,99976, а значение RMSEP 3,45%.

Литературные данные по анализу антибиотиков спектроскопическими методами в

сочетании с хемометрическими алгоритмами суммированы в табл. 1. Как видно из обзора литературы, сочетание спектроскопических методов и хемометрических подходов имеет высокий потенциал для идентификации и определения антибиотиков и реализовано далеко не в полной мере, в особенности в случае спектроскопии НПВО.

Таблица 1 / Table 1

**Применение спектроскопических методов с хемометрическими алгоритмами
для обнаружения и определения антибиотиков**
**Application of spectroscopic methods with chemometric algorithms for the detection and determination
of antibiotics**

Аналит / Analyte	Метод / Method		Основные результаты / Main results	Ссылка / Reference
	Аналитический / Analytical	Хемометрический / Chemometrics		
1	2	3	4	5
Пенициллин, сульфадиазин, тетрациклин / Penicillin, sulfadiazine, tetracycline	Многомерная флуоресцентная спектроскопия / Multidimensional fluorescence spectroscopy	PCA	Отрицательная корреляция между концентрацией антибиотика и высотой пика флуоресценции ($r = 0,99$) / Negative correlation between antibiotic concentration and fluorescence peak height ($r = 0,99$)	[7]
Хинолоновые антибиотики / Quinolone antibiotics	Флуоресцентное детектирование после хроматографического разделения / Fluorescence detection after chromatographic separation	MCR-ALS	Средняя относительная погрешность прогноза составляет 4–12% / Average relative forecast errors 4–12%	[8]
Пенициллиновые антибиотики / Penicillin antibiotics	Цветометрия / Colorimetry	PCA, HCA, k -средних / k -means	Коэффициент детерминации $R^2 > 0,99$ / R -squared $> 0,99$	[9]
Цефокситин натрия / Cefoxitin sodium	УФ-спектроскопия / UV spectroscopy	PCR, PLS, GA, GA-PLS, ANN, GA-ANN	Более надежные модели получены на основе GA (метод GA-PLS: $R^2 = 0,9995$) / More reliable models are obtained based on GA (GA-PLS method: $R^2 = 0,9995$)	[10]
Цефалоспориновые антибиотики / Cephalosporin antibiotics	УФ-спектроскопия / UV spectroscopy	PCR, PLS, MCR-ALS, ANN	Наилучшие аналитические параметры получены при использовании ANN / The best analytical parameters obtained using ANN: RMSEC 0,0812–0,1308, R^2 0,9997–0,9999, RMSEP 0,1774–0,2533	[11]
12 образцов трех типов пенициллина / 12 samples of three types of penicillin	Спектроскопия лазерного пробоя / Laserinduced breakdown spectroscopy	Ранжирование по важности – RF, идентификация – LDA, SVM, ANN / Importance ranking – RF, identification – LDA, SVM, ANN	RF-ANN обеспечил лучший результат классификации и 100% точность идентификации производителя пенициллина / RF-ANN provided the best classification result and 100% accuracy in identifying the penicillin manufacturer	[12]
16 типов антибиотиков, включая цефалоспорины, макролиды и тетрациклины / 16 types of antibiotics, including cephalosporins, macrolides and tetracyclines	Терагерцовая спектроскопия / Terahertz spectroscopy	t-SNE, GS, GA, PSO, SVM	При использовании модели t-SNE-PSO-SVM достигнута самая высокая средняя точность 99,91% / The highest average accuracy of 99,91% was achieved using the model t-SNE-PSO-SVM	[13]



Окончание табл. 1 / Continuation of the Table 1

1	2	3	4	5
23 антибиотика на основе амоксициллина и клавулановой кислоты, азитромицина, ципрофлоксацина, доксицилина и офлоксацина / 23 antibiotics based on amoxicillin and clavulanic acid, azithromycin, ciprofloxacin, doxycycline and ofloxacin	БИК-спектроскопия / NIR spectroscopy	PCA, SIMCA	SIMCA обеспечила более точную классификацию по сравнению с PCA для всех антибиотиков, за исключением ципрофлоксацина / SIMCA provided more accurate classification than PCA for all antibiotics except ciprofloxacin	[14]
591 образец антибиотиков девяти классов различных лекарственных форм / 591 samples of antibiotics from nine classes of different dosage forms	БИК-спектроскопия / NIR spectroscopy	PCA	Подтверждается возможность использования для идентификации антибиотиков / The possibility of using for antibiotics identification is confirmed	[15]
Цефиксим / Cefixime	ИК-спектроскопия с НПВО / ATR IR spectroscopy	PLS	$R^2 = 0,99976$	[16]

Цель данной работы – оценка возможности использования ИК-спектроскопии НПВО в сочетании с хемометрическими алгоритмами для идентификации некоторых цефалоспориновых антибиотиков.

Метод ИК-спектроскопии НПВО позволяет анализировать твердые и жидкие образцы без подготовки, а также образцы с высокой оптической плотностью, данный метод используется как для контроля во время синтеза лекарственного вещества, так и для количественного определения в различных средах. Сочетание ИК-спектроскопии и хемометрических алгоритмов позволяет сократить время анализа, так как не требуется анализировать каждую полосу отдельно, исследование проводится по всему спектру, и идентификация осуществляется по положению образца в новом пространстве главных компонент в методе PCA.

Материалы и методы

Регистрацию ИК-спектров в средней области инфракрасного диапазона ($550\text{--}3500\text{ см}^{-1}$) проводили с использованием ИК-фурье-спектрометра ФТ-801 (ООО НПФ «Симекс», г. Новосибирск, Россия) с универсальной приставкой НПВО, количество циклов съёмки – 35, шаг 4 см^{-1} . Обработку спектральных данных осуществляли с помощью Microsoft Excel с надстройкой XLSTAT.

В качестве объектов исследования использовали лекарственные препараты, приобретенные

в аптеках г. Саратова, следующих наименований и производителей: «Цефотаксим» (цефотаксим 1000 мг), «Цефтриаксон» (цефтриаксон 1000 мг) – АО «Биохимик», Россия, г. Саранск; «Цефотаксим» (цефотаксим 1000 мг), «Цефтриаксон» (цефтриаксон 1000 мг) – ЗАО «ЛЕКО», Россия, Владимирская область; «Цефтазидим» (цефотаксим 1000 мг), «Цефтриаксон» (цефтриаксон 1000 мг) – АО «Рафарма», Россия, Липецкая область; «Цефотаксим» (цефотаксим 1000 мг) – ООО «КОМПАНИЯ ДЕКО», Россия, г. Москва; «Цефтазидим» (цефотаксим 1000 мг) – ПАО «Красфарма», Россия, г. Красноярск; «Цефтазидим» (цефотаксим 1000 мг) – ОАО «Синтез», Россия, г. Курган; «Цефтриаксон» (цефтриаксон 1000 мг) – Шрея Лайф Саенсиз Пвт Лтд, Индия; «Цефтриаксон» (цефтриаксон 1000 мг) – ОАО «Синтез», Россия, г. Курган; «Цефтриаксон» (цефтриаксон 1000 мг) – ПАО «Красфарма», Россия, г. Красноярск; «Цефтриаксон» (цефтриаксон 1000 мг) – ОАО «Борисовский завод медицинских препаратов», Республика Беларусь, г. Борисов.

Результаты и их обсуждение

ИК-спектры исследуемых антибиотиков представлены на рис. 2.

По рис. 2 и по литературным данным [17–19] проведено отнесение полос с функциональными группами антибиотиков, данные представлены в табл. 2. Видно, что спектры

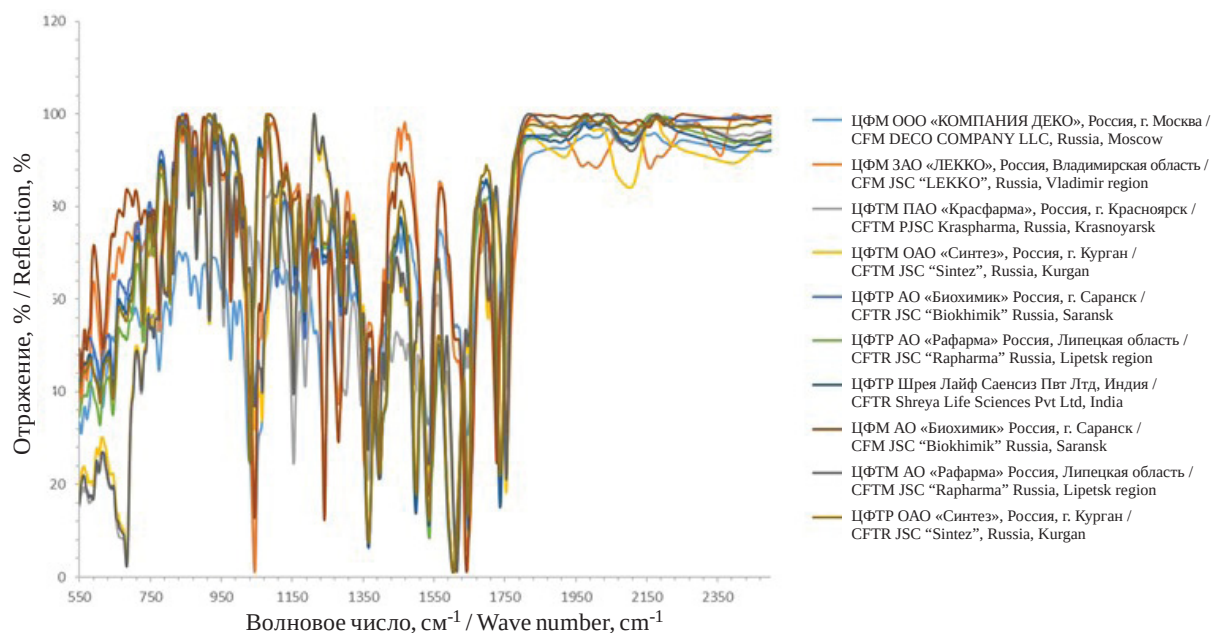


Рис. 2. ИК-спектры исследуемых антибиотиков (цвет онлайн)
Fig. 2. IR spectra of the studied antibiotics (color online)

Таблица 2 / Table 2

Характеристические частоты полос антибиотиков в средней области ИК-спектра
Characteristic frequencies of antibiotic bands in the middle region of the IR spectrum

Полоса, см ⁻¹ / Band, cm ⁻¹	Цефтриаксон / Ceftriaxone	Цефтазидим / Ceftazidime	Цефотаксим / Cefotaxime
N-H (валентные колебания / stretching vibrations), O-H (валентные колебания, водородная связь / stretching vibrations, hydrogen bond)	3439	3425	3431
N ⁺ -H (валентные колебания / stretching vibrations)	3257	3337	3350
C-H (в бензольном кольце / in the benzene ring)	3250	3281	3259
C-H (валентные колебания / stretching vibrations)	2936	2930	2938, 2822
C=O (β-лактамы / β-lactam)	1750	1770	1761
COO ⁻ (асимметричное валентное / asymmetrical valence)	1740	1610	1728
C=O (амид, валентные / amide, stretching)	1655	1677	1648
Валентные колебания бензольного кольца / Stretching vibrations of the benzene ring	1548	1531	1543
Валентные колебания бензольного кольца / Stretching vibrations of the benzene ring	1540	1491	1536
C-N (валентные колебания / stretching vibrations)	1286	1233	1240
C-O (валентные колебания / stretching vibrations)	1085	1042	1043
CH ₂ - (деформационные колебания / deformation vibrations)	740	730	728
C-H (деформационные колебания / deformation vibrations)	560	565	562

исследуемых цефалоспориновых антибиотиков имеют близкие характеристические полосы в средней области ИК-спектра, поэтому для их дифференциации использовались методы многомерного анализа данных – метод главных компонент (РСА), метод *k*-средних и агломеративная иерархическая кластеризация (АНС).

Спектральные данные перед применением хемометрических алгоритмов предварительно не обрабатывались.

РСА – это метод анализа числовых данных, структурированных в таблице образцов (препаратов антибиотиков) / переменных (спектральных данных). Метод позволяет визуализировать



и анализировать корреляцию между переменными и образцами. В методе PCA расчет можно запускать несколько раз с удалением или добавлением наблюдений, или переменных.

Одним из критериев для выбора лучшей модели в методе PCA служит объясненная дисперсия, которая показывает, какой процент данных описывает модель при выборе того или иного числа главных компонент

(факторов). По данным табл. 3 можно сделать вывод, что наибольший процент объясненной дисперсии наблюдается для интервала частот 550–1850 cm^{-1} и при выборе первых двух компонент $F1 = 1$ и $F2 = 2$. Еще одним критерием выбора числа главных компонент является график нагрузок, также он дает информацию о вкладах каждой переменной в главные компоненты (рис. 3).

Таблица 3 / Table 3

Величина объясненной дисперсии (%) в методе PCA для различных диапазонов частот
Explained variance (%) of PCA models for different frequency ranges

Диапазон частот, cm^{-1} / Frequency range, cm^{-1}	Объясненная дисперсия / Explained variance		
	при $F1 = 1, F2 = 2$ / Explained variance for $F1 = 1, F2 = 2$	при $F1 = 1, F2 = 3$ / Explained variance for $F1 = 1, F2 = 3$	при $F1 = 2, F2 = 3$ / Explained variance for $F1 = 2, F2 = 3$
550–1850	73,9	60,3	53,0
1850–3500	67,9	52,4	47,1
550–3500	60,8	50,4	44,2

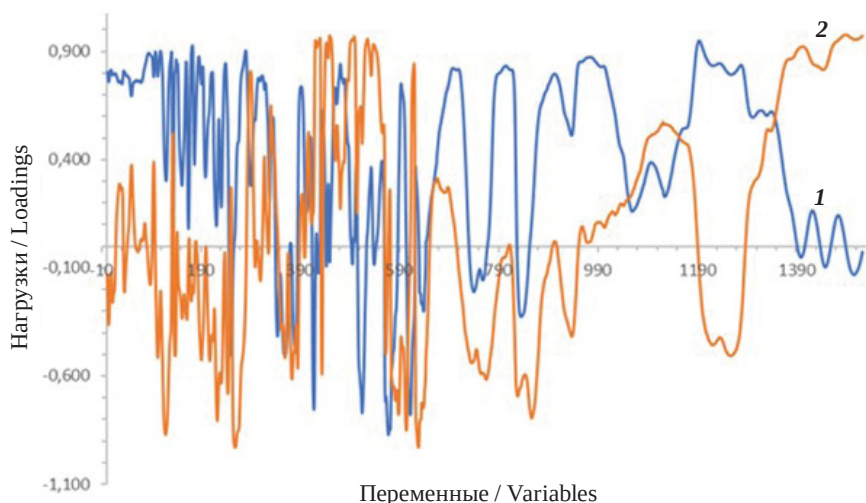


Рис. 3. График нагрузок для двух факторов: 1 – $F1=1$; 2 – $F2 = 2$. Переменные от -10 до 680 соответствует частотам от 550–1850 cm^{-1} , от 681 до 1525 – 1851–3500 cm^{-1} (цвет онлайн)

Fig. 3. Loadings chart for two factors: 1 – $F1=1$; 2 – $F2 = 2$. Variables from -10 to 680 correspond to frequencies from 550–1850 cm^{-1} , from 681 to 1525 – 1851–3500 cm^{-1} (color online)

Применение метода PCA для трех производителей цефотаксима, трех производителей цефтазидима и пяти производителей цефтриаксона показало четкое различие между данными лекарственными препаратами (каждый производитель пронумерован, данные представлены в табл. 4). Препараты разделились на кластеры, что видно на рис. 4, при этом для диапазона частот 550–1850 cm^{-1} происходит наиболее четкое разделение антибиотиков.

Для классификации исследуемых антибиотиков использовали метод k -средних / k -means. Данный метод разделяет множество элементов пространства на определенное

число кластеров k . На каждой итерации заново вычисляется центр для каждого кластера, полученного на предыдущем этапе, затем элементы разбиваются на кластеры вновь в соответствии с тем, какой из новых центров оказался ближе. Расчет завершается, когда на какой-то итерации не происходит изменения внутрикластерного расстояния. Число кластеров определяется по изгибу на графике внутриклассовой дисперсии. Результаты, полученные методом k -средних, отображены в табл. 5.

Схожие результаты разделения антибиотиков на классы получены методом АНС, данные представлены на рис. 5.



Таблица 4 / Table 4

**Производители исследуемых цефалоспориновых антибиотиков
Manufacturers of the studied cephalosporin antibiotics**

Производитель / Manufacturer	№ / No
ООО «КОМПАНИЯ ДЕКО», Россия, г. Москва / DECO COMPANY LLC, Russia, Moscow	1
ЗАО «ЛЕККО», Россия, Владимирская область / JSC "LEKKO", Russia, Vladimir region	2
ПАО «Красфарма», Россия, г. Красноярск / PJSC Kraspharma, Russia, Krasnoyarsk	3
ОАО «Синтез», Россия, г. Курган / JSC "Sintez", Russia, Kurgan	4
АО «Биохимик» Россия, г. Саранск / JSC "Biokhimik" Russia, Saransk	5
АО «Рафарма» Россия, Липецкая область / JSC "Rapharma" Russia, Lipetsk region	6
Шрея Лайф Саенсиз Пвт Лтд, Индия / Shreya Life Sciences Pvt Ltd, India	7

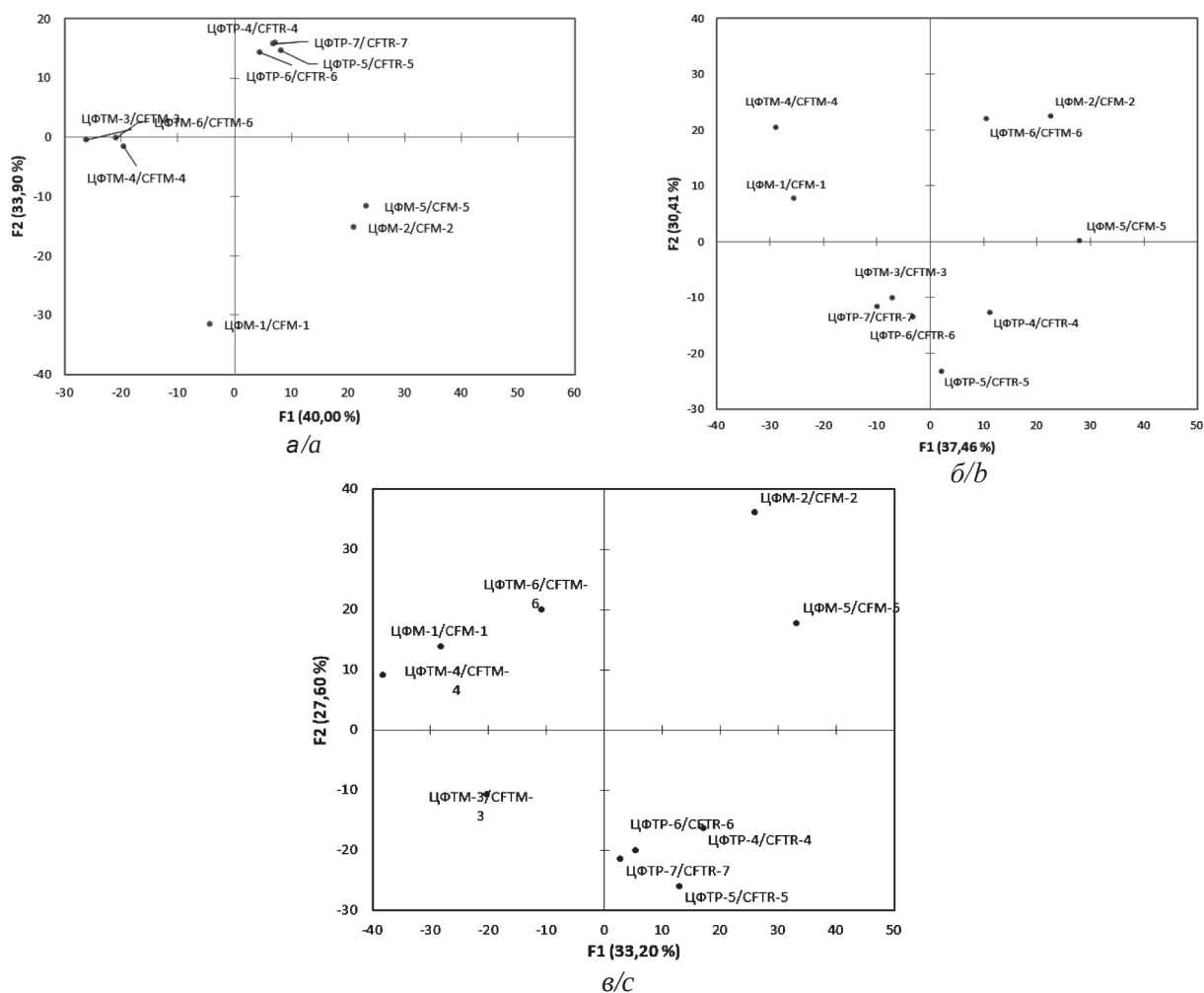


Рис. 4. Графики счетов PCA, полученные на основе ИК-спектров в диапазонах: а – 550–1850 см⁻¹; б – 1850–3500 см⁻¹; в – 550–3500 см⁻¹

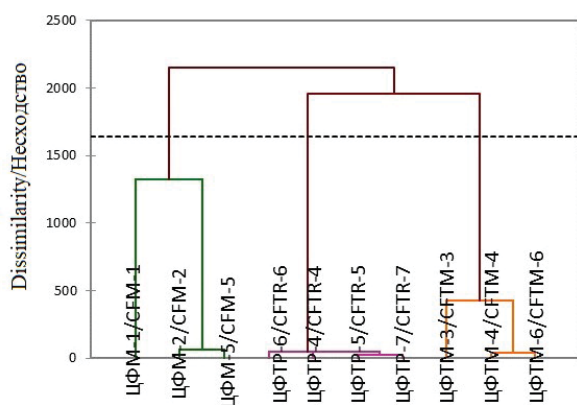
Fig. 4. Graphs of PCA scores based on IR spectra in the ranges: a – 550–1850 cm⁻¹; b – 1850–3500 cm⁻¹; c – 550–3500 cm⁻¹



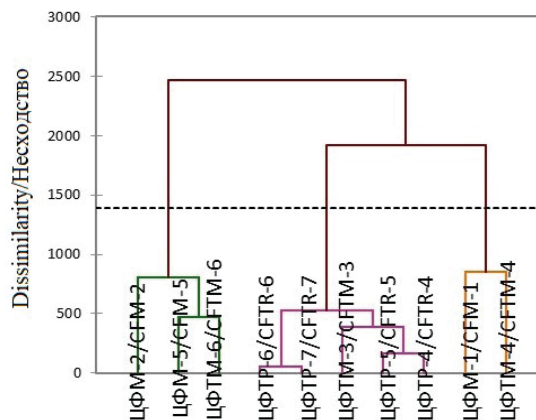
Таблица 5 / Table 5

Результаты, полученные методом k-средних
Results obtained by k-means method

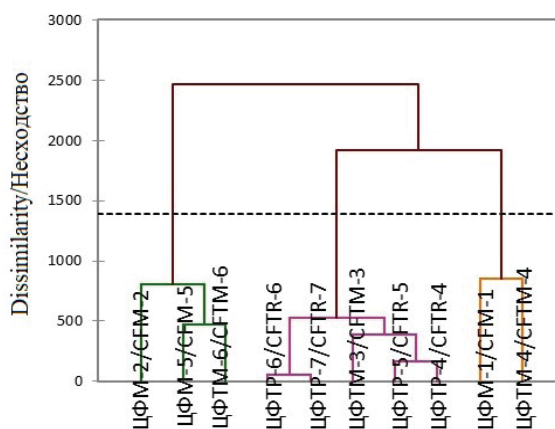
Диапазон частот, см ⁻¹ / Frequency range, cm ⁻¹	Оптимальное число классов / Optimal number of classes	Результат кластеризации / Clustering result			
		Класс / Class			
		1	2	3	4
550–1850	4	ЦФМ-1 / CFM-1	ЦФМ-2 / CFM-2 ЦФМ-5 / CFM-5	ЦФТМ-3 / CFТМ-3 ЦФТМ-4 / CFТМ-4 ЦФТМ-6 / CFТМ-6	ЦФТР-5 / CFTR-5 ЦФТР-6 / CFTR-6 ЦФТР-7 / CFTR-7 ЦФТР-4 / CFTR-4
1850–3500	3	ЦФМ-1 / CFM-1 ЦФТМ-4 / CFТМ-4	ЦФМ-2 / CFM-2 ЦФМ-5 / CFM-5 ЦФТМ-6 / CFТМ-6	ЦФТМ-3 / CFТМ-3 ЦФТР-5 / CFTR-5 ЦФТР-6 / CFTR-6 ЦФТР-7 / CFTR-7 ЦФТР-4 / CFTR-4	
550–3500	4	ЦФМ-1 / CFM-1	ЦФМ-2 / CFM-2 ЦФМ-5 / CFM-5	ЦФТМ-3 / CFТМ-3 ЦФТМ-4 / CFТМ-4 ЦФТМ-6 / CFТМ-6	ЦФТР-5 / CFTR-5 ЦФТР-6 / CFTR-6 ЦФТР-7 / CFTR-7 ЦФТР-4 / CFTR-4



а/а



б/б



в/в

Рис. 5. Графики АНС, полученные на основе ИК-спектров различных диапазонов: а – 550–1850 см⁻¹; б – 1850–3500 см⁻¹; в – 550–3500 см⁻¹

Fig. 5. ANS graphs obtained on the basis of IR spectra of various ranges: а – 550–1850 cm⁻¹; б – 1850–3500 cm⁻¹; в – 550–3500 cm⁻¹



Заключение

В работе представлен способ идентификации некоторых цефалоспориновых антибиотиков методом ИК-спектроскопии в средней области с применением хемометрических методов: РСА, метод k -средних и АНС. Наилучшие параметры моделей получены в области 550–1850 см⁻¹. Показано применение данного подхода для классификации некоторых антибиотиков цефалоспоринового ряда.

Список литературы

1. Лекарственные средства: пособие для врачей : в 2 т. / под ред. М. Д. Машковского. М. : Медицина, 1998. Т. 1. 688 с.
2. Бузмакова У. А., Кудряшова О. С. Химическая классификация и методы определения антибиотиков // Вестник Пермского университета. Серия: Химия. 2018. Т. 8, № 1. С. 6–28. <https://doi.org/10.17072/2223-1838-2018-1-6-28>
3. Государственная Фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. III. М. : ФЭМБ, 2018. 1926 с.
4. Duan X. Y., Zhang Y., Yan J.-Q., Zhou Y., Li G.-H., Feng X.-S. Progress in pretreatment and analysis of cephalosporins: An update since 2005 // Crit. Rev. Anal. Chem. 2021. Vol. 51, № 1. P. 55–86. <https://doi.org/10.1080/10408347.2019.1676194>
5. Abdel-Aziz H., Tolba M. M., ElEnany N., Aly F. A., Fathy M. E. Green and sensitive spectrofluorimetric method for the determination of two cephalosporins in dosage forms // R. Soc. Open Sci. 2021. Vol. 8, № 8. Article number 210329. <https://doi.org/10.1098/rsos.210329>
6. Фаращук Н. Ф., Цюман Ю. П. Современные, наиболее употребляемые лабораторные методы исследования антибиотиков // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. 2012. Т. 11, № 4. С. 58–63.
7. Ntakatsane M., Chen P., Liu J., Mosebi P., Xu L., Matebesi P., Cui W., Wang Y. Multi-dimensional fluorescence spectroscopy coupled with chemometrics in rapid antibiotic detection and discrimination // Food Measure. 2020. Vol. 14. P. 1892–1900. <https://doi.org/10.1007/s11694-020-00436-x>
8. Anzardi M. B., Arancibia J. A., Olivieri A. C. Using chemometric tools to investigate the quality of three- and four-way liquid chromatographic data obtained with two different fluorescence detectors and applied to the determination of quinolone antibiotics in animal tissues // Chemometr. Intelligent Lab. Syst. 2020. Vol. 199. Article number 103972. <https://doi.org/10.1016/j.chemolab.2020.103972>
9. Amelin V. G., Shogah Z. A. C., Bolshakov D. S. Microextraction-colorimetric determination and identification of penicillin antibiotics in medicines using a smartphone and chemometric analysis // Moscow Univ. Chem. Bull. 2022. Vol. 77, № 3. P. 163–170. <https://doi.org/10.3103/S0027131422030026>
10. Attia K. A.-S. M., Omar A.-A., Magdy N., Mohamed G. F. Development and validation of different chemometric-assisted spectrophotometric methods for determination of cefoxitin-sodium in presence of its alkali-induced degradation product // Future J. Pharm. Sci. 2018. Vol. 4, № 2. P. 241–247. <https://doi.org/10.1016/j.fjps.2018.08.002>
11. Yehia A. M., Elbalkiny H. T., Riad. S. M., Elsharty Y. S. Chemometrics for resolving spectral data of cephalosporines and tracing their residue in waste water samples // Spectrochim. Acta A. Mol. Biomol. Spectrosc. 2019. Vol. 219. P. 436–443. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2019.04.081>
12. Wei K., Wang Q., Teng G., Xu X., Zhao Z., Chen G. Application of laser-induced breakdown spectroscopy combined with chemometrics for identification of penicillin manufacturers // Appl. Sci., 2022, Vol. 12, № 10. Article number 4981. <https://doi.org/10.3390/app12104981>
13. Guo J., Deng H., Liu Q., Chen L. Xiong Z., Shang L. A reliable method for identification of antibiotics by terahertz spectroscopy and SVM // J. Spectrosc. 2020. Vol. 2020. Article number 8811467. <https://doi.org/10.1155/2020/8811467>
14. Assi S., Arafat B., Lawson-Wood K., Robertson I. Authentication of antibiotics using portable near-infrared spectroscopy and multivariate data analysis // Appl. Spectrosc. 2021. Vol. 75, № 4. P. 434–444. <https://doi.org/10.1177/0003702820958081>
15. Chen H., Lin Z., Tan C. Application of near-infrared spectroscopy and class-modeling to antibiotic authentication // Anal. Biochem. 2020. Vol. 590. Article number 113514. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2019.113514>
16. Сапон Е. С., Лугин В. Г. Применение ИК-Фурье спектроскопии для количественного анализа в фармацевтической промышленности // Вестник фармации. 2017. № 1 (75). С. 82–92.
17. Безъязычная А. А., Шорманов В. К., Супливая Л. Е. Определение цефтриаксона в биологическом материале // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». 2018. № 1. С. 128–132.
18. Masoud M. S., Ali A. E., Elsalala G. S., Kolkaila S. A. Synthesis, spectroscopic, biological activity and thermal characterization of ceftazidime with transition metals // Spectrochim. Acta A. Mol. Biomol. Spectrosc. 2018. Vol. 193. P. 458–466. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2017.12.060>
19. Ali Mahmoud M., Gaballa Akmal S., Teleb Said M. Spectroscopic and thermal investigations of charge-transfer complexes formed between cefotaxime sodium drug and various acceptors // Russ. J. Gen. Chem. 2015. Vol. 85, № 3. P. 731–745. <https://doi.org/10.1134/S1070363215020322>

References

1. *Lekarstvennye sredstva: posobie dlya vrachei: v 2 t. Pod red. M. D. Mashkovskogo* [Mashkovsky M. D., ed. Medicines: A manual for doctors: in 2 vols.]. Moscow, Meditsina, 1998, vol. 1. 688 p. (in Russian).
2. Buzmakova U. A., Kudryashova O. S. Chemical classification and methods for the determination of antibiotics.



- Bulletin of the Perm University. Series: Chemistry*, 2018, vol. 8, no. 1, pp. 6–28. <https://doi.org/10.17072/2223-1838-2018-1-6-28> (in Russian).
3. *Gosudarstvennaya Farmakopeya Rossiyskoi Federatsii* [State Pharmacopoeia of the Russian Federation]. XIV ed., vol. III. Moscow, FEMB, 2018. 1926 p. (in Russian).
 4. Duan X. Y., Zhang Y., Yan J.-Q., Zhou Y., Li G.-H., Feng X.-S. Progress in pretreatment and analysis of cephalosporins: An update since 2005. *Crit. Rev. Anal. Chem.*, 2021, vol. 51, no. 1, pp. 55–86. <https://doi.org/10.1080/10408347.2019.1676194>
 5. Abdel-Aziz H., Tolba M. M., ElEnany N., Aly F. A., Fathy M. E. Green and sensitive spectrofluorimetric method for the determination of two cephalosporins in dosage forms // *R. Soc. Open Sci.*, 2021, vol. 8, no. 8, article number 210329. <https://doi.org/10.1098/rsos.210329>
 6. Farashchuk N. F., Tsyuman Yu. P. Modern, most commonly used laboratory methods for studying antibiotics. *Bulletin of the Smolensk State Medical Academy*, 2012, vol. 11, no. 4, pp. 58–63 (in Russian).
 7. Ntakatsane M., Chen P., Liu J., Mosebi P., Xu L., Matebesi P., Cui W., Wang Y. Multi-dimensional fluorescence spectroscopy coupled with chemometrics in rapid antibiotic detection and discrimination. *Food Measure*, 2020, vol. 14, pp. 1892–1900. <https://doi.org/10.1007/s11694-020-00436-x>
 8. Anzardi M. B., Arancibia J. A., Olivieri A. C. Using chemometric tools to investigate the quality of three- and four-way liquid chromatographic data obtained with two different fluorescence detectors and applied to the determination of quinolone antibiotics in animal tissues. *Chemometr. Intelligent Lab. Syst.*, 2020, vol. 199, article number 103972. <https://doi.org/10.1016/j.chemo-lab.2020.103972>
 9. Amelin V. G., Shogah Z. A. C., Bolshakov D. S. Micro-extraction-colorimetric determination and identification of penicillin antibiotics in medicines using a smartphone and chemometric analysis. *Moscow Univ. Chem. Bull.*, 2022, vol. 77, no. 3, pp. 163–170. <https://doi.org/10.3103/S0027131422030026>
 10. Attia K. A.-S. M., Omar A.-A., Magdy N., Mohamed G. F. Development and validation of different chemometric-assisted spectrophotometric methods for determination of cefoxitin-sodium in presence of its alkali-induced degradation product. *Future J. Pharm. Sci.*, 2018, vol. 4, no. 2, pp. 241–247. <https://doi.org/10.1016/j.fjps.2018.08.002>
 11. Yehia A. M., Elbalkiny H. T., Riad. S. M., Elsharty Y. S. Chemometrics for resolving spectral data of cephalosporines and tracing their residue in waste water samples. *Spectrochim. Acta A. Mol. Biomol. Spectrosc.*, 2019, vol. 219, pp. 436–443. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2019.04.081>
 12. Wei K., Wang Q., Teng G., Xu X., Zhao Z., Chen G. Application of laser-induced breakdown spectroscopy combined with chemometrics for identification of penicillin manufacturers. *Appl. Sci.*, 2022, vol. 12, no. 10, article number 4981. <https://doi.org/10.3390/app12104981>
 13. Guo J., Deng H., Liu Q., Chen L. Xiong Z., Shang L. A reliable method for identification of antibiotics by terahertz spectroscopy and SVM. *J. Spectrosc.*, 2020, vol. 2020, article number 8811467. <https://doi.org/10.1155/2020/8811467>
 14. Assi S., Arafat B., Lawson-Wood K., Robertson I. Authentication of antibiotics using portable near-infrared spectroscopy and multivariate data analysis. *Appl. Spectrosc.*, 2021, vol. 75, no. 4, pp. 434–444. <https://doi.org/10.1177/0003702820958081>
 15. Chen H., Lin Z., Tan C. Application of near-infrared spectroscopy and class-modeling to antibiotic authentication. *Anal. Biochem.*, 2020, vol. 590, article number 113514. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2019.113514>
 16. Sapon E. S., Lugin V. G. Application of IR-Fourier spectroscopy for quantitative analysis in the pharmaceutical industry. *Bulletin of Pharmacy*, 2017, no. 1 (75), pp. 82–92 (in Russian).
 17. Bezyazychnaya A. A., Shormanov V. K., Siplivaya L. E. Determination of ceftriaxone in biological material. *Kursk Scientific and Practical Bulletin “Man and His Health”*, 2018, no. 1, pp. 128–132 (in Russian).
 18. Masoud M. S., Ali A. E., Elsalala G. S., Kolkaila S. A. Synthesis, spectroscopic, biological activity and thermal characterization of ceftazidime with transition metals. *Spectrochim. Acta A. Mol. Biomol. Spectrosc.*, 2018, vol. 193, pp. 458–466. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2017.12.060>
 19. Ali Mahmoud M., Gaballa Akmal S., Tebeb Said M. Spectroscopic and thermal investigations of charge-transfer complexes formed between cefotaxime sodium drug and various acceptors. *Russ. J. Gen. Chem.*, 2015, vol. 85, no. 3, pp. 731–745. <https://doi.org/10.1134/S1070363215020322>

Поступила в редакцию: 03.05.2024; одобрена после рецензирования 17.05.2024; принята к публикации 20.05.2024; опубликована 30.09.2024

The article was submitted 03.05.2024; approved after reviewing 17.05.2024; accepted for publication 20.05.2024; published 30.09.2024