

На правах рукописи



ТУМСКАЯ АНАСТАСИЯ ВЯЧЕСЛАВОВНА

**ЭКСПРЕСС-ОПРЕДЕЛЕНИЕ НЕКОТОРЫХ *БЕТА*-ЛАКТАМНЫХ
АНТИБИОТИКОВ С ПРИМЕНЕНИЕМ ЦИФРОВЫХ ТЕХНОЛОГИЙ**

1.4.2. Аналитическая химия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени
кандидата химических наук

Саратов – 2023

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского»

Научный руководитель:

кандидат химических наук
Косырева Ирина Владимировна

Официальные оппоненты:

доктор химических наук, профессор
Ермолаева Татьяна Николаевна
Федеральное государственное
бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Липецкий
государственный технический
университет», профессор кафедры химии

доктор химических наук, профессор
Рудаков Олег Борисович
Федеральное государственное
бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Воронежский
государственный технический
университет», заведующий кафедрой
химии и химической технологии
материалов

Ведущая организация:

**Федеральное государственное
бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
«Московский государственный
университет имени М.В.Ломоносова»**

Защита состоится «27» июня 2023 года в 12 часов 00 мин. на заседании диссертационного совета 24.2.392.03, созданного на базе ФГБОУ ВО «СГУ имени Н.Г. Чернышевского» по адресу: 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, д. 83, корп. 1, Институт химии СГУ.

С диссертацией можно ознакомиться в Зональной научной библиотеке имени В.А. Артисевич ФГБОУ ВО «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского» (410601, ул. Университетская, 42) и на сайте: <https://www.sgu.ru/research/dissertation-council/24-2-392-03/kandidatskaya-dissertaciya-tumskoy-anastasii>

Автореферат разослан «__» _____ 2023 года

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор химических наук



Русанова Т.Ю.

Общая характеристика работы

Актуальность исследования. Одной из важных задач аналитической химии является разработка эффективных и экспрессных методов определения действующих веществ при контроле качества лекарственных препаратов (ЛП). В частности актуальна проблема фальсификации, например, экспресс-определение антибиотиков в различных лекарственных формах (таблетках, капсулах, суспензиях и т.д.).

Для быстрого, дешевого внелабораторного определения различных антибактериальных препаратов положительно себя зарекомендовали экспрессные, в том числе и тест-методы анализа. Такие методы часто применяют для предварительного скрининга анализируемых проб. Важными требованиями, предъявляемыми к индикаторным реакциям, являются: скорость, простота и контрастность перехода окраски при формировании аналитической формы. Регистрация аналитического сигнала при этом возможна не только визуальная, но и с применением цветометрии.

Цветометрические методики в комбинации с цифровой обработкой изображений позволяют расширить области применения и улучшить чувствительность способов внелабораторного анализа. Применяют координаты цвета, светлоту, насыщенность, цветовой тон и др. К преимуществам применения метода цифровой цветометрии можно отнести экономичность, простоту выполнения, возможность сохранения информации в электронном формате, проведение анализа как жидких, так и твердых образцов.

Цель исследования – разработка способов экспресс-определения некоторых β -лактамных антибиотиков с применением цифровых технологий, в том числе авторского приложения для смартфона.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. Выбор индикаторных реакций для экспресс-определения некоторых β -лактамных антибиотиков. Изучение взаимодействия антибиотиков с различными реагентами методами ИК-, видимой (СФМ), УФ-спектроскопии и спектроскопии диффузного отражения (СДО).
2. Изучение условий иммобилизации реагентов на твердую подложку при варьировании ее типа, концентрации реактантов, времени и температуры.
3. Оптимизация условий реакций антибиотиков с иммобилизованными реагентами с применением цифровых технологий.
4. Разработка методик визуального и цветометрического определения некоторых β -лактамных антибиотиков в лекарственных препаратах.

Методы исследования. Для решения поставленных в работе задач применяли методы УФ-, ИК- и видимой спектроскопии, спектроскопии

диффузного отражения (СДО), цифровой цветометрии. Обработка экспериментальных данных проводилась с использованием цифровых технологий, а именно разработанных авторских программ приложения по обработке изображений к смартфону на базе Android, online-программы по обработке RGB-параметров и программы Adobe Photoshop®.

Научная новизна.

Для определения β -лактамных антибиотиков предложены четыре индикаторные системы: целлюлозная матрица – иммобилизованный реагент (*para*-диметиламинобензальдегид, нингидрин, CuSO_4 и реактив Фелинга). Применен цветометрический подход, состоящий в регистрации изменений интенсивностей соответствующих параметров ($\Delta I_{\text{П}}$) наряду с методами ИК-, видимой, УФ-спектроскопии и спектроскопии диффузного отражения для оптимизации как условий иммобилизации реагентов на подложку, так и особенностей формирования соответствующих аналитических форм.

Предложены оригинальные методики визуального и цветометрического экспресс-определения некоторых β -лактамных антибиотиков в ЛП. Впервые разработано авторское приложение для смартфона, позволяющего исследователю в режиме реального времени получать результат количественного определения аналита.

Практическая значимость.

Предложены индикаторные бумаги (ИБ) для визуального и цветометрического экспресс-определения некоторых антибактериальных препаратов группы β -лактамов, входящих в перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов медицинского назначения, а именно амоксициллина, цефалексина, цефотаксима, цефуроксима, цефазолина и цефтриаксона для оценки их подлинности и на уровне от 0.13 до 16 мг/мл в капсулах, таблетках и порошках.

Авторское приложение по обработке изображений к смартфону позволяет в режиме реального времени получать концентрацию антибиотиков и может быть реализовано для цветометрического экспресс-определения и других аналитов.

Автор выносит на защиту:

1. Данные исследования методами ИК-, видимой и УФ-спектроскопии и спектроскопии диффузного отражения взаимодействия β -лактамных антибиотиков с *para*-диметиламинобензальдегидом, нингидрином, CuSO_4 и реактивом Фелинга.

2. Результаты по иммобилизации исследованных реагентов на целлюлозную матрицу при варьировании ее типа, концентрации реагентов, времени и температуры высушивания.

3. Особенности взаимодействия β -лактамных антибиотиков с иммобилизованными реагентами с применением цифровых технологий, а именно, с

помощью авторских программ (приложение по обработке изображений к смартфону на базе Android и online-программа по обработке RGB-параметров) и программы Adobe Photoshop[®].

4. Методики визуального и цветометрического экспресс-определения некоторых β -лактамных антибиотиков в лекарственных препаратах.

Личный вклад автора заключался в постановке задач, а также в выполнении основных теоретических и экспериментальных работ по ключевым направлениям исследования. В диссертации обобщены результаты, полученные лично автором совместно с соавторами публикаций.

Апробация работы. Основные результаты работы доложены на VII и IX международной научной конференции «Компьютерные науки и информационные технологии» (Саратов, 2018, 2021), научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов-2019, 2020, 2022» (Москва, 2019, 2022), XI Всероссийской конференции по анализу объектов окружающей среды (Пермь, 2019), XX Международной научно-практической конференции «Химия и химическая технология в XXI веке» (Томск, 2019), II Всероссийской конференции «Химия биологически активных веществ» с международным участием (Саратов, 2019), XIV Всероссийской интерактивной (с международным участием) конференции молодых ученых «Современные проблемы теоретической и экспериментальной химии» (Саратов, 2020, 2021), XI всероссийской научной конференции и школе «Аналитика Сибири и Дальнего Востока» (Новосибирск, 2021), XXV Saratov Fall Meeting «International Symposium optics and Biophotonics» (Саратов, 2021), IV Съезде аналитиков России (Москва, 2022).

Публикации. Опубликовано 50 работ, из них 30 по теме диссертации: 6 статей в журналах, входящих в перечень ВАК и библиографические базы данных Web of Science и Scopus, 12 статей в сборниках научных трудов, 12 тезисов докладов конференций.

Степень достоверности результатов обеспечена грамотной постановкой эксперимента, применением современных методов исследования и анализа, непротиворечивостью результатов эксперимента по сравнению с известными в литературе данными, а также взаимной корреляцией результатов, их статистической проработкой.

Финансовая поддержка работы осуществлялась в рамках гранта РФФИ в рамках научного проекта № 20-33-90020.

Структура и объем работы. Диссертация состоит из введения, пяти глав, заключения и списка использованных источников, состоящего из 171 наименований. В тексте работы содержатся таблицы, схемы и графические иллюстрации. Общий объем диссертации составляет 135 страниц, включая 31 рисунок и 34 таблицы.

Во **введении** описана актуальность темы исследования, раскрыта научная новизна работы, ее научно-практическая значимость, а также определены цель и задачи. **Первая глава** посвящена критическому анализу обзора литературы, в котором рассмотрены экспресс-методы определения некоторых β -лактамных антибиотиков, в том числе с применением цветометрии. Во **второй главе** представлены применяемые в работе аппаратура, посуда, реактивы и методики проводимых исследований. **Третья глава** посвящена обоснованию, выбору объектов исследования и изучению условий иммобилизации реагентов на целлюлозную матрицу. В **четвертой главе** приведены результаты изучения особенностей взаимодействия аналитов с иммобилизованными реагентами с применением цифровых технологий. **Пятая глава** посвящена разработке методик визуального и цветометрического экспресс-определения некоторых β -лактамных антибиотиков в лекарственных препаратах.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Выбор индикаторных систем. Изучение взаимодействия антибиотиков с иммобилизованными реагентами

β -Лактамные антибиотики (β -лактамы), благодаря высокой клинической эффективности и низкой токсичности, доступности и невысокой стоимости составляют на современном этапе основу антимикробной химиотерапии, занимая одно из ведущих мест при лечении большинства инфекций.

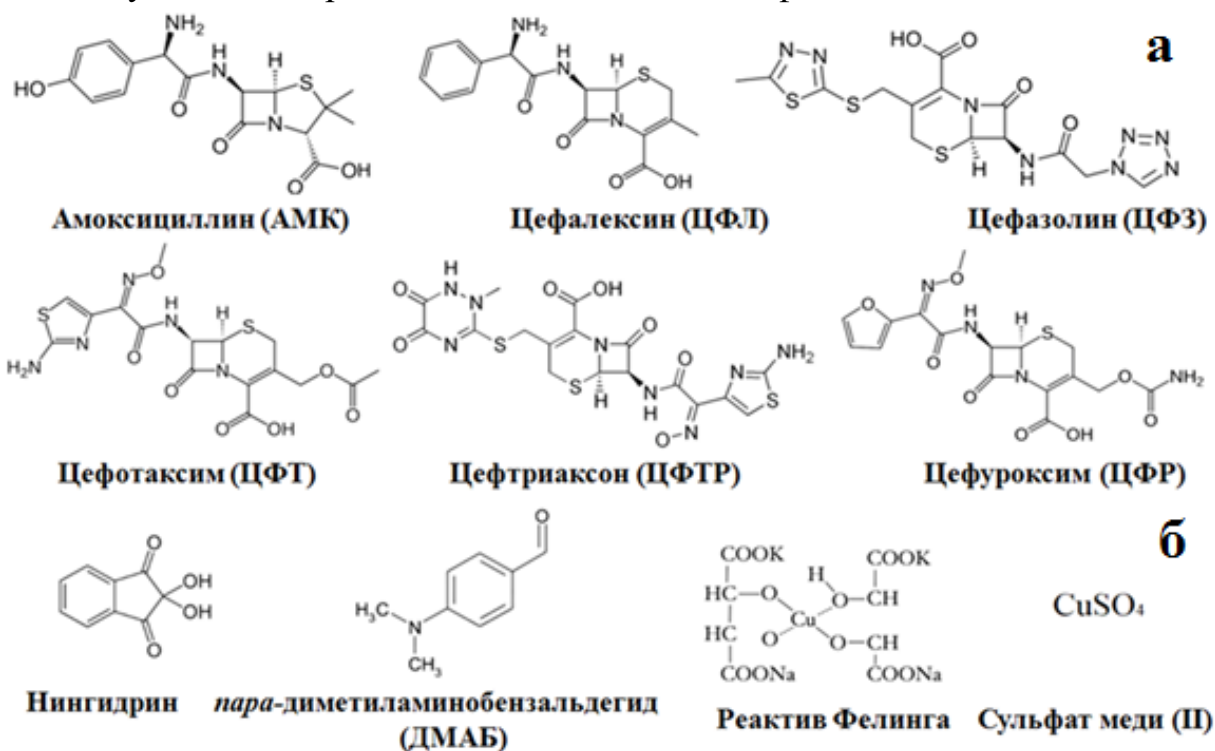


Рис. 1. Формулы β -лактамных антибиотиков (а) и иммобилизованных реагентов (б)

Большинство β -лактамов входят в перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов медицинского назначения. На рис.1 представлены β -лактамные антибиотики (рис. 1а), а также иммобилизованные реагенты (рис. 1б).

В настоящем исследовании применяли инъекционные лекарственные формы (цефазолин («Биосинтез», Россия), цефотаксим («Биохимик», Россия), цефтриаксон («Синтез», Россия), цефуроксим (Зинацеф, Италия)) и коммерческие препараты (амоксциллина тригидрат («Guangzhou Yinglue Tianzhishan Pharmaceutical Co», Китай) и цефалексин гидрат («Sigma Aldrich», США)).

Методы ИК- и УФ-спектроскопии применяли для установления подлинности β -лактамных антибиотиков согласно Фармакопее РФ. В ИК-спектрах всех исследуемых β -лактамов присутствуют полосы колебаний C=O группы при β -лактамном кольце ($1768 - 1750 \text{ см}^{-1}$), а также валентные колебания C=O (полоса амид I, $1690 - 1650 \text{ см}^{-1}$). Значения максимумов поглощения водных растворов исследуемых аналитов (рис. 2, табл. 1) согласуются с данными литературы.

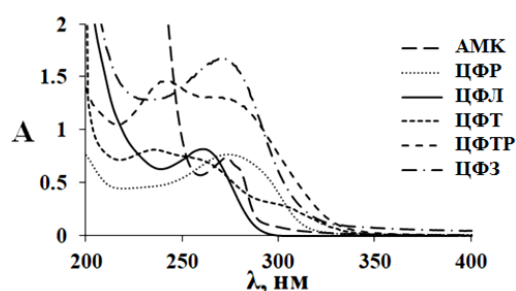


Рис. 2. Спектры поглощения водных растворов антибиотиков

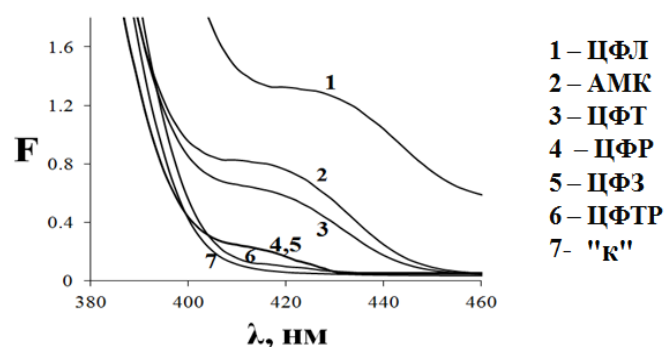
Таблица 1. Значения λ_{max} водных растворов антибиотиков

| β -лактам | АМК | ЦФР | ЦФЛ |
|-----------------------------|-----|----------|-----|
| λ_{max} , нм | 273 | 278 | 262 |
| β -лактам | ЦФТ | ЦФТР | ЦФЗ |
| λ_{max} , нм | 235 | 241; 270 | 272 |

Таблица 2. Типы индикаторных реакций

| Система (тип реакции) | Реагент | Реакция |
|--------------------------------|------------------|---|
| I (конденсация) | ДМАБ | $\text{R-NH}_2 + \text{N(CH}_3)_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{-CHO} \xrightarrow[\text{-H}_2\text{O}]{\text{t}^\circ, \text{H}^+} \text{N(CH}_3)_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{-CH=N-R}$ |
| II (окислительная конденсация) | Нингидрин | |
| III (окисление-восстановление) | Реактив Фелинга | $\text{Cu(OH)}_2 + 2\text{NaOOC-CH(OH)-CH(OH)-COOK} + \text{R-CHO} \rightarrow 2\text{CuOH} \downarrow + \text{R-COONa} + 2\text{H}_2\text{O} + \text{NaOOC-CH(OH)-CH(OH)-COOK}$ $2\text{CuOH} \rightarrow \text{Cu}_2\text{O} + \text{H}_2\text{O}$ |
| IV (комплексобразование) | Cu^{2+} | |

Предварительно исследовано *более 10* индикаторных реакций с реагентами органической и неорганической природы. В табл. 2 приведены типы выбранных индикаторных реакций.



- 1 – ЦФЛ
- 2 – АМК
- 3 – ЦФТ
- 4 – ЦФР
- 5 – ЦФЗ
- 6 – ЦФТР
- 7 – "К"

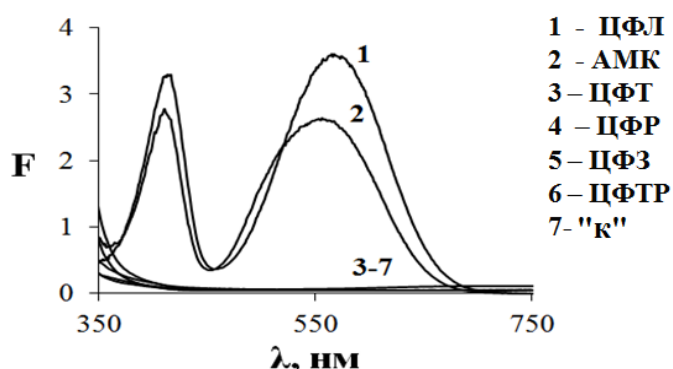
Таблица 3. Значения λ аналитических форм

| β -лактамы | АМК | ЦФЛ | ЦФЗ | ЦФР | ЦФТ | ЦФТР |
|----------------------|---------|---------|---------|---------|---------|------|
| λ , нм (СДО) | 410-430 | 415-440 | 410-430 | 410-430 | 420-430 | - |
| λ , нм (СФМ) | - | - | - | 420 | 400 | 420 |

Рис. 3. Спектры диффузного отражения (система I)

Система I. Преимуществом ДМАБ при взаимодействии с аминогруппами β -лактамов является одностадийность реакции, отсутствие токсичных реагентов (β -нафтол и др.). Значения λ_{\max} азопроизводных β -лактамов в спектрах диффузного отражения и спектрах поглощения в водных растворах находятся в интервале 410 - 430 нм (рис. 3, табл. 3).

Система II. Нингидрин широко применяется при определении аминов, аминокислот и др., одним из преимуществ нингидриновой реакции является высокая контрастность (образование сине-фиолетового пурпура Руэманна). Значения λ_{\max} аналитических форм в спектрах диффузного отражения и спектрах поглощения в водных растворах находятся в интервале 550 - 560 и 560 - 570 нм, а также при 400 и 410 нм для АМК и ЦФЛ соответственно, что согласуется с данными литературы для аналогичных систем (рис. 4, табл. 4).



- 1 – ЦФЛ
- 2 – АМК
- 3 – ЦФТ
- 4 – ЦФР
- 5 – ЦФЗ
- 6 – ЦФТР
- 7 – "К"

Таблица 4. Значения λ_{\max} аналитических форм

| β -лактамы | АМК | ЦФЛ |
|-----------------------------|--------------|--------------|
| λ_{\max} , нм (СДО) | 400; 550-560 | 400; 560-570 |
| λ_{\max} , нм (СФМ) | 400; 550-560 | 400; 550-560 |

Рис. 4. Спектры диффузного отражения (система II)

Система III. Реактив Фелинга вступает в реакцию окислительно-восстановительного типа и с β -лактамами, при этом система гетерогенна.

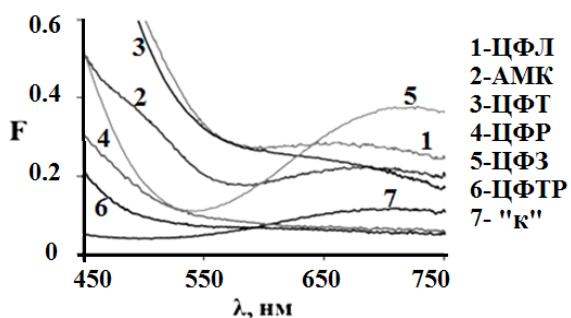


Рис. 5. Спектры диффузного отражения (система III)

В спектрах диффузного отражения наблюдается появление широкой полосы в интервале длин волн 650 - 750 нм (рис. 5).

Система IV. Соли меди (II) образуют с β -лактамами комплексные соединения. В отличие от электронных спектров поглощения, λ_{\max} аналитических форм которых приведены в табл. 5, в спектрах диффузного отражения наблюдается появление широкой полосы в области 680 - 730 нм для всех анализируемых антибиотиков (рис. 6).

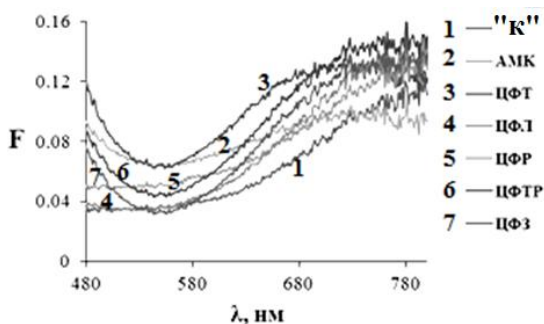


Рис. 6. Спектры диффузного отражения (система IV)

Таблица 5. Значения λ_{\max} аналитических форм

| β -лактамы | АМК | ЦФЛ | ЦФЗ | ЦФР | ЦФТ | ЦФТР |
|-----------------------------|----------------|----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| λ_{\max} , нм (СДО) | 680 - 740 | 700 - 750 | 760 - 780 | 740 - 780 | 690 - 740 | 690 - 740 |
| λ_{\max} , нм (СФМ) | 315; 680 - 720 | 315; 700 - 740 | 700 - 740 | 720 - 780 | 700 - 760 | - |

Синтез комплексных соединений β -лактамов с $CuSO_4$. В табл. 6 приведены предполагаемые формулы и данные элементного анализа синтезированных соединений меди (II) с β -лактамами.

Таблица 6. Данные элементного анализа комплексов меди (II) с β -лактамами

| Соединение | Молекулярная масса | Найдено (вычислено), % | | | |
|-------------------------|--------------------|------------------------|-------------|---------------|---------------|
| | | C | H | N | S |
| $Cu(ЦФЗ)_2$ | 972.6 | 34.21 (34.58) | 2.82 (2.90) | 22.42 (23.0) | 18.96 (19.78) |
| $Cu(ЦФР)_2 \cdot 2H_2O$ | 948.3 | 40.11 (40.53) | 3.62 (3.83) | 11.55 (11.82) | 6.44 (6.76) |
| $Cu(ЦФТ)_2 \cdot 3H_2O$ | 1026.5 | 36.86 (37.46) | 3.48 (3.73) | 13.14 (13.65) | 12.08 (12.49) |

На рис. 7. представлены полученные цветовые шкалы систем I - IV. Как видно, наиболее контрастная окраска характерна для системы II и III, переход окраски от белой к темно-фиолетовой и от светло-голубой к оливковой соответственно.

Выбор индикаторной системы сопряжен с конкретной аналитической задачей. Так система I наиболее чувствительна, однако, не отличается высокой контрастностью. Система II напротив высококонтрастна, но требует дополнительной стадии нагревания. Для снижения времени и числа стадий

экспресс-анализа предпочтительна либо система III, либо система IV, которые при этом малочувствительны.

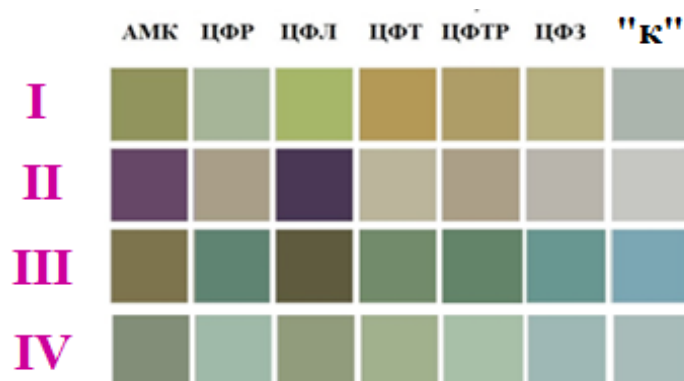


Рис. 7. Цветовые шкалы для систем I – IV

Иммобилизация реагентов на целлюлозную матрицу. Схематично иммобилизацию исследованных реагентов осуществляли, как показано ниже:

Схема иммобилизации



Применен цветометрический подход, состоящий в регистрации ΔI_{II} для оптимизации условий иммобилизации реагентов на подложку. Анализ значений ΔI_{II} , при варьировании различных параметров показал, что способ, температура и время высушивания не влияют на цветовые характеристики ИБ (табл. 7). Оптимальные концентрации реагентов устанавливали по зависимостям $\Delta I_{II} - c_{\text{реагента}}$, пример которой приведен на рис. 8.

Таблица 7. Температура и время высушивания (зависимость $\Delta I_{\text{Blue}} - T, ^\circ\text{C} / t, \text{мин}$)

| Система | Условия высушивания | | |
|---------|----------------------|-----------------|------------------|
| | 23 - 25°C/ 30 мин | 80°C/ 10 мин | 100°C/ 10 мин |
| III | 60 ± 4 | 61 ± 3 | 64 ± 5 |
| IV | 27 ± 4 | 30 ± 5 | 28 ± 4 |

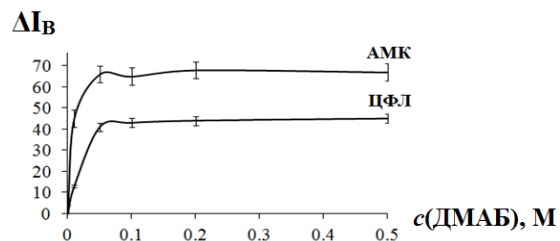


Рис. 8. Зависимость $\Delta I_{II} - c_{\text{(DMAAB)}}$

Оптимальные условия иммобилизации реагентов на целлюлозную матрицу представлены в табл. 8.

Таблица 8. Оптимальные условия иммобилизации реагентов

| Система | $c_{\text{реагента}}, M$ | $T, ^\circ C$ | Время, мин | Матрица | Цвет тест - средства |
|---------|--------------------------|---------------|------------------|-------------------------|----------------------|
| I | 0.05 | 23 - 25 | 5 | фильтр «Синяя лента» | белый |
| II | 0.05 | | | | белый |
| III | 0.1 | 80 - 85 | голубой | | |
| IV | | | светло - голубой | | |

Оптимизацию реакций антибиотиков с иммобилизованными реагентами осуществляли с применением цифровых технологий, специализированного программного обеспечения, в том числе авторских программ обработки изображений по схеме:



Преимущества и необходимые требования, применяемых в исследовании программ, представлены в табл. 9.

Таблица 9. Основные опции и требования применяемых в исследовании программ

| Опция/требования | Adobe Photoshop | Авторская программа по обработке RGB-параметров | Авторское приложение для смартфона |
|--|-----------------|---|------------------------------------|
| 1. Подходит для ПК и портативных устройства | + | + | - |
| 2. Расчет значений RGB, CMYK, HSV – моделей | + | - | + |
| 3. Не требует специализированного ПО | + | + | - |
| 4. Получение зависимостей $I_{\Pi} - c$ | - | - | + |
| 5. Сохранение зависимостей $I_{\Pi} - c$ | - | - | + |
| 6. Расчет концентрации аналита в online - режиме | - | - | + |

Разработана авторская программа для математической обработки изображений тест-средств на веб-платформе с применением языков программирования php и JavaScript, а также разметки страницы html. Так как программа расположена на удаленном сервере, все вычисления выполняются на сервере и не расходуют вычислительную мощность устройства. Программа оптимизирована для работы с браузерами различных типов, не требует специализированного программного обеспечения, зависящего от типа операционной системы.

Предложено авторское приложение для смартфона, с помощью которого пользователю достаточно сделать снимок тест-средства, а на экране смартфона выводится результат содержания соответствующего аналита. Приложение разработано с использованием программы на базе Java для операционной системы Android. В приложении пользователь может задавать необходимые единицы измерения, а также строить калибровочные зависимости интенсивностей цветовых каналов от концентрации аналита.

Показано, что значения цветовых параметров, полученных в коммерческой программе (Adobe Photoshop®), а также разработанной авторской программе и приложении к смартфону идентичны (табл. 10).

Таблица 10. Адекватность цифровых технологий при регистрации некоторых цветовых параметров (ЦФЛ, система III)

| Цветовой параметр | Adobe Photoshop® | Авторская online-программа по определению RGB-параметров | Авторское приложение для смартфона на базе Android |
|-------------------|------------------|--|--|
| Red | 83 ± 4 | 83 ± 5 | 83 ± 3 |
| Green | 98 ± 3 | 99 ± 4 | 98 ± 4 |
| Blue | 91 ± 4 | 91 ± 4 | 91 ± 4 |

Реализованный ранее подход (стр. 10) применен также для оптимизации условий взаимодействия β -лактамов с иммобилизованными на целлюлозной матрице реагентами. Так, например, зависимость $\Delta I_G - \tau_{\text{нагревания}}$ матрицы с иммобилизованным нингидрином показала, что наибольшая контрастность наблюдается через 15-20 мин при $100 \pm 5^\circ\text{C}$ с учетом природы и pH буферного раствора (рис. 9).

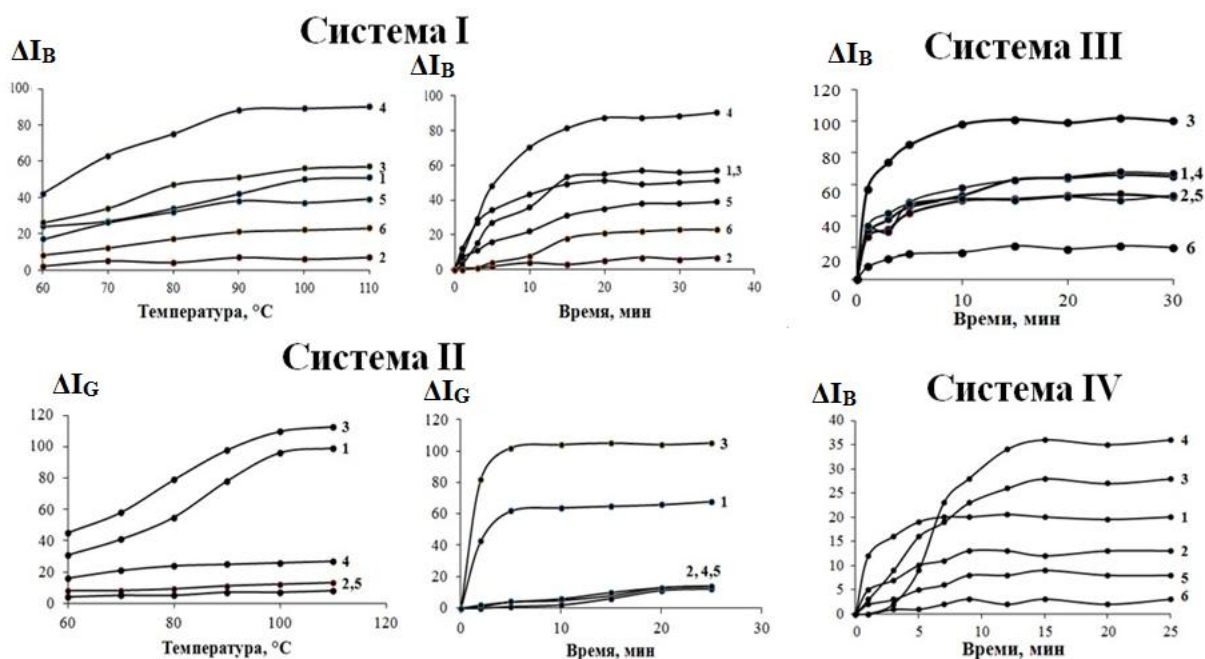
Для оценки влияния типа фоторегистрирующего устройства применяли различные марки смартфонов (Redmi 6A, Lenovo K6 Power), а также офисный планшетный сканер. Изображения тест-средств регистрировали без применения специализированных устройств, а также в боксе для фотографирования (табл. 11).

Установлено, что ни тип фоторегистрирующего устройства, ни условия фотографирования не оказывают влияния на $\Delta I_{\text{П}}$, поскольку средние их значения находятся в заданных пределах. При этом ИБ стабильны в течение месяца (рис. 10), а в табл. 12 сведены оптимальные условия реакций в системах I – IV.

Таблица 11. Варьирование условий фотографирования и типа фоторегистрирующего устройства (ЦФЛ, система I)

| Устройство | $I_{C0} - I_{Ci} = \Delta I$ | Уравнение $\Delta I_{\text{В}} - I_{\text{гс}}; r^2$ |
|----------------------------------|------------------------------|--|
| Камера смартфона Redmi 6A | 170 – 105 = 65* | $y = -33x + 140; 0.98$ |
| | 192 – 128 = 64 | $y = -33x + 160; 0.98$ |
| Камера смартфона Lenovo K6 Power | 200 – 134 = 66* | $y = -32x + 170; 0.97$ |
| | 168 – 107 = 61 | $y = -33x + 140; 0.97$ |
| Сканер EPSON | 255 – 189 = 66 | $y = -33x + 220; 0.98$ |

*Фотобокс 22×23×24 см с двумя полосками светодиодного освещения (5V, 1A)



1 – АМК, 2 – ЦФР, 3 – ЦФЛ, 4 – ЦФТ, 5 – ЦФТР, 6 – ЦФЗ
 Рис. 9. Зависимости $\Delta I_{\text{П}}$ от температуры и времени

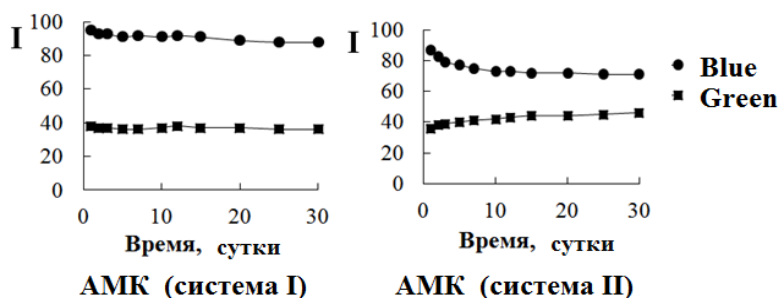


Рис. 10. Оценка стабильности тест-средств (зависимость I – время)

Таблица 12. Оптимальные условия реакций β -лактамов с иммобилизованными реагентами

| Система | pH | Время, мин | Температура, °C |
|---------|----|------------|-----------------|
| I | 1 | 25 - 30 | 90 - 100 |
| II | 7 | 20 - 25 | 100 - 110 |
| III | 10 | 15 - 20 | 25 |
| IV | 7 | 15 - 20 | 25 |

Определение β -лактамных антибиотиков в ЛП

Цветовые шкалы для визуального определения β -лактамов представлены на рис. 11. Интервалы ненадежности соответствующей индикаторной реакции и предел обнаружения оценивали по вероятности обнаружения антибиотика ($P(c)$) по формуле: $P(c_i) = n_i/N_i$, где n_i – число положительных наблюдений, N_i – общее число испытаний для c_i . Предел обнаружения определяли, как правую границу интервала ненадежности, то есть концентрацию, при превышении которой вероятность ошибки I рода (вероятность ложного заключения об отсутствии аналита) меньше 1% (рис. 12).

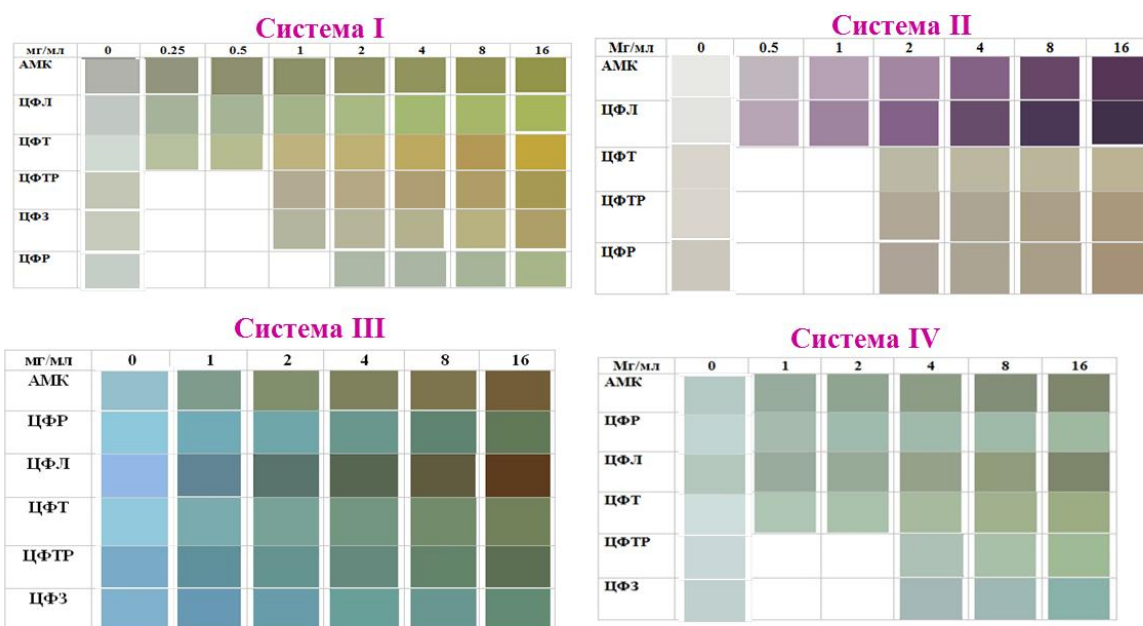


Рис. 11. Цветовые шкалы для визуального определения β -лактамов

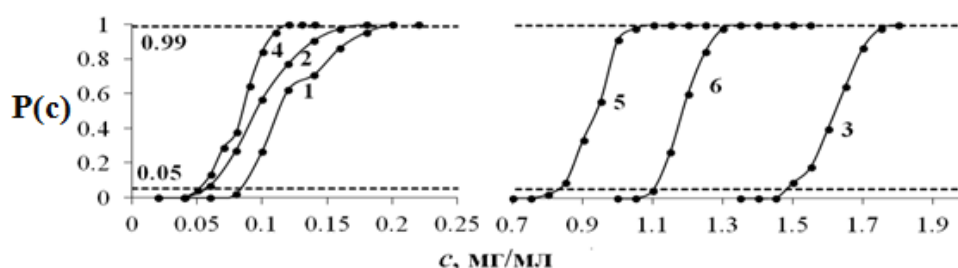


Рис. 12. Зависимости $P(c) - c_{\beta\text{-лактама}}$ на примере системы I

Для описания функций нормального, логнормального, экспоненциального распределений и распределения экстремального значения первого рода (Вейбулла) от концентрации аналитов. Получены значения коэффициентов корреляций уравнений прямых, которые составляли ≥ 0.88 , что подтверждает согласованность экспериментальных данных с функциями распределения и правильность выбранного диапазона интервала ненадежности (табл. 13).

Таблица 13. Функции распределения при аппроксимации зависимости $P(c) - c_{\text{аналита}}$

| Функция распределения | ЦФР – система I | | ЦФЛ – система III | |
|--------------------------------------|----------------------|-------|----------------------|-------|
| | Уравнение $P(c) - c$ | r^2 | Уравнение $P(c) - c$ | r^2 |
| Нормальное | $y = 3.9x - 5.8$ | 0.98 | $y = 4.3x - 0.73$ | 0.95 |
| Логнормальное | $y = 6.3x - 2.5$ | 0.98 | $y = 1.1x + 1.9$ | 0.88 |
| Экспоненциальное | $y = 14x - 22$ | 0.85 | $y = 1.4x - 0.05$ | 0.99 |
| Экстремального значения первого рода | $y = 24x - 12$ | 0.99 | $y = 5.4x + 0.99$ | 0.99 |

Некоторые метрологические характеристики визуального определения β -лактамов представлены в табл.14. Наименьшие значения предела обнаружения (PrO) при визуальном определении получены для системы II (для АМК и ЦФЛ 0.10 и 0.09 мг/мл со значениями ДОС 0.25 – 16 и 0.25 – 8.0 мг/мл соответственно).

Таблица. 14. Некоторые метрологические характеристики визуального определения β -лактамов

| Аналит | Система | Диапазон определяемых содержаний, мг/мл | Интервал ненадежности, мг/мл | Предел обнаружения, мг/мл |
|--------|---------|---|------------------------------|---------------------------|
| АМК | I | 0.25 - 16 | 0.08 - 0.19 | 0.19 |
| | II | 0.25 - 16 | 0.05 - 0.10 | 0.10 |
| | III | 0.50 - 16 | 0.12 - 0.18 | 0.18 |
| | IV | 0.50 - 16 | 0.25 - 0.43 | 0.43 |
| ЦФЛ | I | 0.25 - 8.0 | 0.06 - 0.17 | 0.17 |
| | II | 0.25 - 8.0 | 0.03 - 0.88 | 0.09 |
| | III | 0.50 - 8.0 | 0.20 - 0.40 | 0.40 |
| | IV | 1.0 - 8.0 | 0.46 - 0.84 | 0.84 |
| ЦФР | I | 2.0 - 16 | 1.5 - 1.7 | 1.7 |
| | II | 2.0 - 16 | 1.6 - 1.9 | 1.9 |
| | III | 1.0 - 16 | 0.72 - 0.90 | 0.90 |
| | IV | 0.50 - 16 | 0.28 - 0.45 | 0.45 |
| ЦФТ | I | 0.13 - 16 | 0.05 - 0.12 | 0.12 |
| | II | 2.0 - 16 | 1.7 - 1.9 | 1.9 |
| | III | 1.0 - 16 | 0.62 - 0.78 | 0.78 |
| | IV | 1.0 - 16 | 0.42 - 0.72 | 0.72 |
| ЦФТР | I | 1.0 - 16 | 0.82 - 1.0 | 1.0 |
| | II | 2.0 - 16 | 1.5 - 1.8 | 1.8 |
| | III | 0.50 - 16 | 0.45 - 0.65 | 0.65 |
| | IV | 4.0 - 16 | 1.5 - 1.9 | 1.9 |
| ЦФЗ | I | 2.0 - 16 | 1.1 - 1.3 | 1.3 |
| | III | 1.0 - 16 | 0.48 - 0.70 | 0.68 |
| | IV | 4.0 - 16 | 2.4 - 2.7 | 2.7 |

Цветометрическое определение β -лактамов

Полученные цветовые шкалы далее применяли для цветометрического определения β -лактамов. Уравнения градуировочных зависимостей, значения PrO , а также r^2 при цветометрическом определении представлены в табл. 15, 16.

При цветометрическом определении β -лактамов наибольшая чувствительность наблюдалась для ЦФТР, ЦФТ, ЦФЗ (система I), АМК и ЦФЛ (система II), для ЦФЛ, ЦФР и ЦФТ (система III) и для АМК, ЦФЛ, ЦФТ и ЦФТР (система IV).

Лепестковые диаграммы для исследуемых систем

Построены профили лепестковых диаграмм (ЛД) в координатах цветовых параметров моделей RGB, CMYK, HSV (рис. 13). Каждому антибиотику соответствует индивидуальный профиль ЛД, который может быть применен для идентификации исследуемых β -лактамов.

Рассчитаны площади ЛД ($S_{\text{ЛД}}$) и периметры ($P_{\text{ЛД}}$) соответствующих ЛД (табл. 17), которые позволяют снизить значения НГОС и PrO при цветометрическом определении.

Таблица. 15. Некоторые характеристики методик определения β -лактамов
(авторское приложение для смартфона)

| Аналит | I/255 | Уравнение $I_{\Pi/255}-lgc$ | r^2 | Аналит | I/255 | Уравнение $I_{\Pi/255}-lgc$ | r^2 |
|-------------------|-------|-----------------------------|-------|--------------------|-------------------|-----------------------------|-------|
| Система I | | | | Система III | | | |
| АМК | Blue | $y = -10x + 3.9$ | 0.98 | АМК | Blue | $y = -3.9x + 1.8$ | 0.99 |
| ЦФЛ | | $y = -7.2x + 4.0$ | 0.97 | ЦФЛ | | $y = -2.6x + 1.1$ | 0.99 |
| ЦФР | | $y = -7.0x + 5.1$ | 0.95 | ЦФР | | $y = -3.4x + 2.8$ | 0.97 |
| ЦФТ | | $y = -5.0x + 2.4$ | 0.99 | ЦФТ | | $y = -3.8x + 3.1$ | 0.99 |
| ЦФТР | | $y = -5.4x + 3.3$ | 0.98 | ЦФТР | | $y = -4.8x + 2.9$ | 0.96 |
| ЦФЗ | | $y = -5.3x + 3.1$ | 0.94 | ЦФЗ | | $y = -4.8x + 2.8$ | 0.92 |
| Система II | | | | Система IV | | | |
| АМК | Green | $y = 2.8x - 1.1$ | 0.99 | АМК | Blue | $y = -7.1x + 3.8$ | 0.98 |
| ЦФЛ | | $y = 2.8x - 1.2$ | 0.99 | ЦФЛ | | $y = -7.9x + 5.2$ | 0.97 |
| ЦФР | Blue | $y = -8.5x + 5.2$ | 0.92 | ЦФР | | $y = -4.2x + 2.9$ | 0.97 |
| ЦФТ | | $y = -14x + 8.8$ | 0.96 | ЦФТ | $y = -6.7x + 5.3$ | 0.97 | |
| ЦФТР | | $y = -7.5x + 4.8$ | 0.94 | ЦФТР | Red | $y = -5.3x + 4.1$ | 0.95 |

Таблица. 16. Некоторые характеристики методик определения β -лактамов
(авторская программа и/или Adobe Photoshop®)

| Аналит | Параметр | ДОС, мг/мл | Уравнение $\Delta I_{\Pi}-lgc$ | r^2 | ПрО, мг/мл |
|--------------------|----------|------------|--------------------------------|-------|-------------|
| Система I | | | | | |
| АМК | I_B | 0.25 - 16 | $y = -26x + 110$ | 0.98 | 0.13 |
| ЦФЛ | | 0.25 - 8.0 | $y = -33x + 140$ | 0.98 | 0.13 |
| ЦФТР | | 0.50 - 16 | $y = -46x + 140$ | 0.98 | 0.25 |
| ЦФР | | 2.0 - 16 | $y = -35x + 180$ | 0.95 | 0.34 |
| ЦФТ | | 0.13 - 16 | $y = -51x + 130$ | 0.99 | 0.10 |
| ЦФЗ | | 1.0 - 16 | $y = 46x + 170$ | 0.94 | 0.28 |
| Система II | | | | | |
| АМК | I_G | 0.13 - 1.0 | $y = -33.4x - 1.15$ | 0.99 | 0.15 |
| | | 0.50 - 16 | $y = -90x + 160$ | 0.99 | 0.09 |
| ЦФЛ | | 0.13 - 1.0 | $y = 69x - 4.5$ | 0.99 | 0.12 |
| | | 0.50 - 8.0 | $y = 92x + 63$ | 0.99 | 0.09 |
| ЦФТР | I_B | 2.0 - 16 | $y = -2.0x + 150$ | 0.97 | 1.5 |
| ЦФР | | 2.0 - 16 | $y = -2.3x + 160$ | 0.99 | 1.3 |
| ЦФТ | | 2.0 - 16 | $y = -17x + 170$ | 0.97 | 0.49 |
| Система III | | | | | |
| АМК | I_B | 0.25 - 16 | $y = -67x + 130$ | 0.99 | 0.17 |
| ЦФЛ | | 0.25 - 16 | $y = -96x + 140$ | 0.99 | 0.10 |
| ЦФТР | | 0.25 - 16 | $y = -51x + 150$ | 0.96 | 0.16 |
| ЦФР | | 1.0 - 16 | $y = -83x + 190$ | 0.99 | 0.12 |
| ЦФТ | | 0.50 - 16 | $y = -67x + 170$ | 0.99 | 0.15 |
| ЦФЗ | I_H | 1.0 - 16 | $y = -89x + 190$ | 0.98 | 0.11 |
| | I_B | 1.0 - 16 | $y = -60x + 190$ | 0.96 | 0.20 |
| Система IV | | | | | |
| АМК | I_B | 0.25 - 16 | $y = -35x + 150$ | 0.98 | 0.24 |
| ЦФЛ | | 0.50 - 8.0 | $y = -31x + 160$ | 0.97 | 0.37 |
| ЦФТР | I_H | 2.0 - 16 | $y = -46x + 210$ | 0.95 | 0.19 |
| ЦФР | I_B | 0.25 - 8.0 | $y = -5.8x + 170$ | 0.97 | 0.42 |
| ЦФТ | | 0.25 - 16 | $y = -33x + 180$ | 0.95 | 0.31 |
| ЦФЗ | I_R | 4.0 - 16 | $y = -2.2x + 170$ | 0.98 | 2.2 |

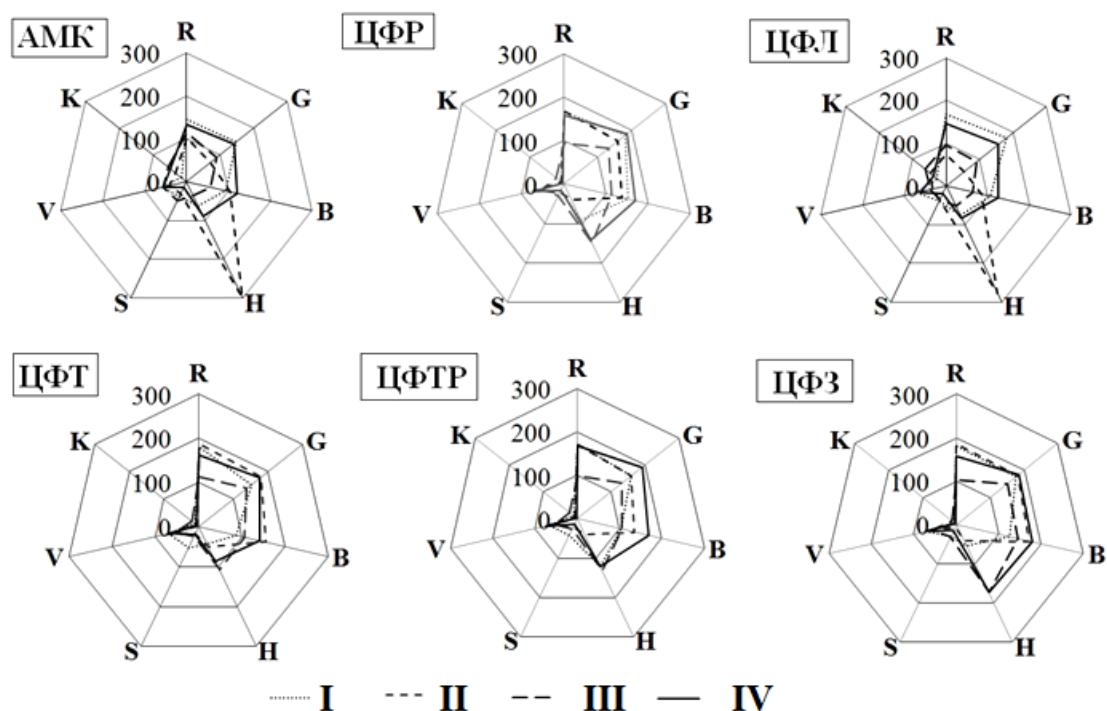


Рис. 13. Профили ЛД исследуемых β -лактамов для систем I – IV

Таблица. 17. Некоторые характеристики методик определения β -лактамов (ЛД)

| Аналит | Параметр | ДОС, мг/мл | ПрО, мг/мл | Аналит | Параметр | ДОС, мг/мл | ПрО, мг/мл |
|-------------------|----------|------------|------------|--------------------|----------|------------|------------|
| Система I | | | | Система III | | | |
| АМК | $S_{лд}$ | 0.13 - 8 | 0.11 | АМК | $P_{лд}$ | 0.13 - 16 | 0.04 |
| ЦФЛ | $S_{лд}$ | 0.13 - 8.0 | 0.01 | ЦФЛ | $S_{лд}$ | 0.13 - 16 | 0.09 |
| ЦФТР | $P_{лд}$ | 0.25 - 16 | 0.21 | | $P_{лд}$ | 0.13 - 16 | 0.04 |
| ЦФР | $P_{лд}$ | 0.25 - 16 | 0.03 | ЦФТР | $S_{лд}$ | 0.25 - 16 | 0.14 |
| ЦФТ | $S_{лд}$ | 0.13 - 16 | 0.02 | ЦФР | $S_{лд}$ | 0.50 - 16 | 0.11 |
| | $P_{лд}$ | 0.13 - 8.0 | 0.01 | ЦФТ | $P_{лд}$ | 0.50 - 16 | 0.11 |
| ЦФЗ | $S_{лд}$ | 1.0 - 16 | 0.25 | ЦФЗ | $P_{лд}$ | 1.0 - 16 | 0.19 |
| Система II | | | | Система IV | | | |
| АМК | $S_{лд}$ | 0.13 - 16 | 0.09 | АМК | $P_{лд}$ | 0.25 - 16 | 0.03 |
| | $P_{лд}$ | 0.13 - 16 | 0.10 | ЦФЛ | $P_{лд}$ | 0.50 - 8.0 | 0.11 |
| ЦФЛ | $S_{лд}$ | 0.13 - 8.0 | 0.04 | ЦФТР | $S_{лд}$ | 1.0 - 16 | 0.18 |
| ЦФТР | $S_{лд}$ | 2.0 - 16 | 1.4 | ЦФР | $S_{лд}$ | 0.25 - 8.0 | 0.09 |
| ЦФР | $S_{лд}$ | 1.0 - 16 | 0.92 | ЦФТ | $S_{лд}$ | 0.25 - 16 | 0.06 |
| ЦФТ | $P_{лд}$ | 2.0 - 16 | 0.34 | ЦФЗ | $P_{лд}$ | 4.0 - 16 | 2.1 |

Оценка влияния некоторых вспомогательных компонентов лекарственных препаратов на экспресс-определение

Проведена оценка влияния на экспресс-определение β -лактамов с помощью ИБ талька, стеарата магния, крахмала картофельного и микрокристаллической целлюлозы и их смесей, содержащихся в исследуемых ЛП (табл. 18).

Таблица 18. Оценка влияния некоторых компонентов ЛП, на примере АМК для систем I-IV

| Компонент | с | ΔI_B | | | |
|--------------------------------|---------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| | | I | II | III | IV |
| Тальк | 1% | 2 ± 4 | 1 ± 4 | 3 ± 3 | 1 ± 4 |
| Стеарат магния | 1% | 3 ± 5 | 0 ± 2 | 5 ± 4 | 3 ± 3 |
| Микрокристаллическая целлюлоза | 5% | 1 ± 3 | 2 ± 5 | 2 ± 5 | 2 ± 4 |
| Крахмал картофельный | 20% | 3 ± 4 | 1 ± 4 | 4 ± 3 | 0 ± 3 |
| Смесь компонентов + АМК | 4 мг/мл | 63 ± 3 | 59 ± 3 | 51 ± 5 | 39 ± 4 |
| АМК | 4 мг/мл | 62 ± 4 | 60 ± 3 | 49 ± 4 | 37 ± 3 |

Колориметрическое определение β -лактамов

Предложены методики визуального и цветометрического (в том числе с применением разработанных авторских программ) определения β -лактамов, которые реализованы на лекарственных средствах: «Амоксициллин» (таблетки, 250 мг, «АВВА Рус», Россия), «Аксосеф» (Цефуроксим) (таблетки, 250 мг, «Nobel Ilaç Sanayii ve Ticaret Anonim Sirketi», Турция), «Цефалексин» (капсулы, 500 мг, «Немофарм», Сербия). Результаты определения содержания антибиотиков в ЛП с помощью разработанных экспресс-способов представлены в табл. 19.

Таблица. 19. Результаты визуального и цветометрического определения содержания антибиотиков в ЛП

| Препарат, заявлено в мг | Найдено, мг | | | | | | | | |
|-------------------------|-------------------|-------------------------|-------|-----------|-------|---------------------|-------|----------|-------|
| | Визуальная оценка | Цветометрическая оценка | | | | | | | |
| | | Авторское приложение | S_r | Photoshop | S_r | Авторская программа | S_r | $S_{лд}$ | S_r |
| Система I | | | | | | | | | |
| «Амоксициллин», 250 | 250 ± 50 | 240 ± 25 | 0.10 | 245 ± 20 | 0.15 | 255 ± 25 | 0.09 | 260 ± 20 | 0.12 |
| «Аксосеф», 250 | 250 ± 50 | 230 ± 25 | 0.13 | 235 ± 35 | 0.11 | 230 ± 25 | 0.11 | 240 ± 35 | 0.14 |
| «Цефалексин», 500 | 500 ± 100 | 520 ± 45 | 0.11 | 490 ± 40 | 0.17 | 480 ± 50 | 0.10 | 485 ± 40 | 0.11 |
| Система II | | | | | | | | | |
| «Амоксициллин», 250 | 250 ± 50 | 240 ± 25 | 0.11 | 225 ± 30 | 0.09 | 230 ± 25 | 0.09 | 225 ± 25 | 0.08 |
| «Цефалексин», 500 | 500 ± 100 | 485 ± 50 | 0.08 | 525 ± 25 | 0.04 | 470 ± 40 | 0.10 | 515 ± 50 | 0.10 |
| Система III | | | | | | | | | |
| «Амоксициллин», 250 | 250 ± 50 | 235 ± 30 | 0.08 | 235 ± 30 | 0.09 | 235 ± 30 | 0.09 | 235 ± 25 | 0.08 |
| «Аксосеф», 250 | 250 ± 50 | 245 ± 25 | 0.11 | 235 ± 50 | 0.14 | 235 ± 50 | 0.14 | 245 ± 25 | 0.10 |
| «Цефалексин», 500 | 500 ± 100 | 480 ± 50 | 0.09 | 460 ± 50 | 0.10 | 460 ± 50 | 0.10 | 465 ± 60 | 0.08 |
| Система IV | | | | | | | | | |
| «Амоксициллин», 250 | 250 ± 50 | 255 ± 20 | 0.15 | 260 ± 20 | 0.13 | 250 ± 20 | 0.14 | 260 ± 30 | 0.16 |
| «Аксосеф», 250 | 250 ± 50 | 265 ± 20 | 0.16 | 250 ± 35 | 0.14 | 255 ± 30 | 0.17 | 255 ± 35 | 0.15 |
| «Цефалексин», 500 | 500 ± 100 | 510 ± 40 | 0.15 | 500 ± 45 | 0.18 | 500 ± 50 | 0.19 | 495 ± 45 | 0.15 |

Содержание активного вещества в исследованных ЛП контролировали независимым методом (СФМ) (табл. 20).

Таблица. 20. Результаты определения содержания антибиотиков спектрофотометрическим методом (n = 3, P = 0.95)

| Препарат, заявлено в мг | Найдено, мг | S _r |
|-------------------------|-------------|----------------|
| «Амоксициллин», 250 | 250 ± 10 | 0.04 |
| «Аксосеф», 250 | 250 ± 20 | 0.03 |
| «Цефалексин», 500 | 480 ± 30 | 0.05 |

Оценку правильности разработанных экспресс-методик осуществляли способом «введено-найденно» (табл. 21, 22, 23).

Таблица. 21. Оценка правильности способом «введено - найденно»* (n = 3; P = 0.95)

| Аналит | Введено, мг/мл | Найдено, мг/мл | S _r | Аналит | Введено, мг/мл | Найдено, мг/мл | S _r |
|-------------------|----------------|----------------|----------------|--------------------|----------------|----------------|----------------|
| Система I | | | | Система III | | | |
| АМК | 7.0 | 7 ± 1 | 0.11 | АМК | 10 | 10 ± 1 | 0.09 |
| ЦФЛ | 7.0 | 7 ± 1 | 0.09 | ЦФЛ | 7.0 | 7 ± 1 | 0.11 |
| ЦФР | 10 | 10 ± 1 | 0.10 | ЦФР | 10 | 10 ± 1 | 0.09 |
| ЦФТ | 10 | 10 ± 1 | 0.12 | ЦФТ | 10 | 10 ± 1 | 0.12 |
| ЦФТР | 10 | 10 ± 1 | 0.14 | ЦФТР | 10 | 10 ± 1 | 0.10 |
| ЦФЗ | 10 | 11 ± 1 | 0.18 | ЦФЗ | 10 | 10 ± 2 | 0.17 |
| Система II | | | | Система IV | | | |
| АМК | 10 | 10 ± 1 | 0.13 | АМК | 10 | 10 ± 1 | 0.18 |
| ЦФЛ | 7.0 | 7.1 ± 0.8 | 0.11 | ЦФЛ | 10 | 10 ± 1 | 0.17 |
| | | | | ЦФР | 10 | 10 ± 2 | 0.16 |
| | | | | ЦФТ | 10 | 11 ± 1 | 0.19 |

*значения I_{Blue} определены в авторском приложении

Таблица. 22. Оценка правильности способом «введено - найденно»* (n = 3; P = 0.95)

| Аналит | Введено, мг/мл | Найдено, мг/мл | S _r | Аналит | Введено, мг/мл | Найдено, мг/мл | S _r |
|-------------------|----------------|----------------|----------------|--------------------|----------------|----------------|----------------|
| Система I | | | | Система III | | | |
| АМК | 7.0 | 7 ± 1 | 0.12 | АМК | 10 | 10 ± 1 | 0.08 |
| ЦФЛ | 7.0 | 7 ± 1 | 0.13 | ЦФЛ | 7.0 | 7.0 ± 0.9 | 0.10 |
| ЦФР | 10 | 10 ± 1 | 0.16 | ЦФР | 10 | 10 ± 1 | 0.07 |
| ЦФТ | 10 | 10 ± 1 | 0.09 | ЦФТ | 10 | 10 ± 1 | 0.13 |
| ЦФТР | 10 | 10 ± 1 | 0.17 | ЦФТР | 10 | 9 ± 1 | 0.12 |
| ЦФЗ | 10 | 11 ± 1 | 0.16 | ЦФЗ | 10 | 10 ± 2 | 0.16 |
| Система II | | | | Система IV | | | |
| АМК | 10 | 10 ± 1 | 0.12 | АМК | 10 | 10 ± 1 | 0.19 |
| ЦФЛ | 7.0 | 7.1 ± 0.9 | 0.14 | ЦФЛ | 10 | 10 ± 1 | 0.17 |
| | | | | ЦФР | 10 | 10 ± 1 | 0.17 |
| | | | | ЦФТ | 10 | 11 ± 1 | 0.19 |

*значения I_{Blue} определены в программе Adobe Photoshop

Таблица. 23. Оценка правильности способом «введено - найдено»* (n = 3; P = 0.95)

| Аналит | Введено, мг/мл | Найдено, мг/мл | S _r | Аналит | Введено, мг/мл | Найдено, мг/мл | S _r |
|-------------------|----------------|----------------|----------------|--------------------|----------------|----------------|----------------|
| Система I | | | | Система III | | | |
| АМК | 7.0 | 7 ± 1 | 0.11 | АМК | 10 | 10 ± 1 | 0.07 |
| ЦФЛ | 7.0 | 7 ± 1 | 0.15 | ЦФЛ | 7.0 | 7 ± 1 | 0.09 |
| ЦФР | 10 | 10 ± 1 | 0.16 | ЦФР | 10 | 10 ± 1 | 0.10 |
| ЦФТ | 10 | 10 ± 1 | 0.07 | ЦФТ | 10 | 10 ± 1 | 0.18 |
| ЦФТР | 10 | 10 ± 2 | 0.19 | ЦФТР | 10 | 10 ± 1 | 0.14 |
| ЦФЗ | 10 | 10 ± 1 | 0.16 | ЦФЗ | 10 | 9 ± 1 | 0.16 |
| Система II | | | | Система IV | | | |
| АМК | 10 | 10 ± 1 | 0.14 | АМК | 10 | 10 ± 1 | 0.15 |
| ЦФЛ | 7.0 | 7 ± 1 | 0.10 | ЦФЛ | 10 | 11 ± 1 | 0.16 |
| | | | | ЦФР | 10 | 10 ± 1 | 0.18 |
| | | | | ЦФТ | 10 | 11 ± 2 | 0.16 |

*значения I_{Blue} определены в авторской программе по обработке RGB-параметров

Относительная погрешность определения исследованных β -лактамов с помощью разработанных экспресс-методик, в том числе с помощью авторского приложения для смартфона, не превышает 20%. Найденные в препаратах содержания амоксициллина, цефуроксима и цефалексина согласуются с заявленными содержаниями определяемых антибиотиков. Разработанные экспресс-методики рекомендованы для полуколичественного определения β -лактамных антибиотиков.

ВЫВОДЫ

1. Для экспресс-определения некоторых β -лактамных антибиотиков (амоксициллина, цефуроксима, цефалексина, цефотаксима, цефтриаксона и цефазолина) предложены 4 типа реакций: конденсации (*n*-диметиламинобензальдегид), окислительной конденсации (нингидрин), окисления – восстановления (реактив Фелинга) и комплексообразования (сульфат меди (II)) с образованием соответствующих окрашенных аналитических форм в целлюлозной матрице.
2. Цветометрически (по значениям ΔI_{Π}) установлены оптимальные условия иммобилизации реагентов на твердую подложку при варьировании концентрации реагентов, времени, pH, температуры, ПАВ: 80 - 85°C, 10 мин для реактива Фелинга и CuSO₄ (0.1 М); 23 - 25°C, 5 мин для ДМАБ (0.1 М) и для нингидрина (0.1 М), фильтр «Синяя лента».
3. Исследованы особенности взаимодействия β -лактамов с иммобилизованными реагентами и установлены оптимальные условия взаимодействия в исследуемых системах: система I (25 - 30 мин, 90 - 100°C, 0.05 М HCl), система II (20 - 25 мин, 100 - 110°C, pH 7.4), система III (25°C, 15 - 20 мин), система IV (25°C, 15 - 20 мин, pH 7.4).

4. Предложены оригинальные методики экспресс-определения некоторых β -лактамных антибиотиков в лекарственных препаратах в диапазоне 0.13 - 16 мг/мл, относительная погрешность цветометрического определения не превышала 20%.
5. Разработано авторское приложение для обработки изображений тест-средств для смартфона, позволяющее исследователю в режиме реального времени получать результат количественного определения аналита.

Список публикаций

*Статьи в журналах, входящих в перечень ВАК,
и библиографические базы данных Web of Science и Scopus:*

1. **Tumskaja A.V.**, Loginov I.V., Tumskiy R.S., Kosyreva I.V. Simple and rapid determination of cephalixin by digital colorimetry using a laboratory-developed smartphone application // Instrumentation Science & Technology. 2022. Vol. 50. №. 2. P. 190-202.
2. **Тумская А.В.**, Косырева И.В. Экспресс-определение некоторых бета-лактамных антибиотиков // Журнал аналитической химии. 2022. Т. 77. № 8. С. 742-747.
3. **Marakaeva (Tumskaja) A.V.**, Kosyreva I.V. Express analysis of amoxicillin via colorimetric testing // Chemical Papers. 2020. Vol. 74. P. 2381-2388.
4. **Тумская А.В.**, Косырева И.В. Экспресс-определение цефалексина // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2021. Т. 21. Вып. 3. С. 260-266.
5. **Маракаева (Тумская) А.В.**, Косырева И.В. Визуально-колориметрическое и цветометрическое определение цефуроксима // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2020. Т. 20. Вып. 1. С. 16-23.
6. **Маракаева (Тумская) А.В.**, Косырева И.В. Тест-определение амоксициллина в лекарственных препаратах // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2019. Т. 19. Вып. 2. С. 146-151.

Некоторые прочие статьи

7. **Тумская А.В.**, Доронин В.С., Косырева И.В., Доронин С.Ю. Способы экспресс-определения гентамицина // Бутлеровские сообщения. 2021. Т.67. №8. С.79-88.
8. **Маракаева (Тумская) А.В.**, Демешко И.А., Карякина А.С., Косырева И.В. Экспериментальная оценка предела визуального обнаружения при тест-определении амоксициллина // Химия биологически активных веществ: межвузовский сборник научных трудов II Всероссийской конференции с международным участием. Саратов: Изд-во «Саратовский источник». 2019. С. 48-49.
9. Буканова В.А., Скородумова Е.А., **Маракаева (Тумская) А.В.**, Косырева И.В., Кожина Л.Ф. Тест-определение лекарственных препаратов на уроках химии // Сборник научных трудов «Вопросы биологии, экологии, химии и методики обучения. Выпуск 22». Саратов. 2020. С. 88-91.
10. Давиденко С.А., **Маракаева (Тумская) А.В.**, Косырева И.В. «On-site» определение цефалексина с помощью тест-средств на основе иммобилизованного реактива Фелинга // Современные проблемы теоретической и экспериментальной химии: Межвуз. сборник науч. трудов XIV Всероссийск. конф. молодых ученых с международ. участием. Саратов: Изд-во «Саратовский источник». 2020. С. 80-82.
11. **Маракаева (Тумская) А.В.**, Косырева И.В. Экспресс-оценка содержания некоторых β -лактамных антибиотиков в лекарственных формах // Химия биологически активных веществ: межвузовский сборник научных трудов II Всероссийской конференции с международным участием. Саратов: Изд-во «Саратовский источник». 2019. С. 50-51.

12. **Тумская А.В.**, Косырева И.В. Применение метода спектроскопии диффузного отражения при определении некоторых бета-лактамных антибиотиков // Проблемы оптической физики и биофотоники. SFM-2021: материалы Международного симпозиума и Международной молодежной научной школы Saratov Fall Meeting 2021 / под ред. Г. В. Симоненко, В. В. Тучина. – Саратов: Изд-во «Саратовский источник». 2021. С. 29-32.

13. Матора А.А., Наумов Е.В., **Тумская А.В.**, Косырева И.В. Тест-определение цефатоксима с помощью иммобилизованного сульфата меди (II) // Сб. научных статей «Вопросы биологии, экологии, химии и методики обучения. Выпуск 24». Саратов. 2022. С. 53-55.

Некоторые тезисы докладов конференций

14. Габидулина М.К., Говорухин В.А., Доронин С.Ю., Косырева И.В., Ли Е.П., **Маракаева (Тумская) А.В.**, Такшаитова Э.И. Программа для обработки цветометрических параметров тест-средств в химическом анализе // Материалы междунар. науч. конф. «Компьютерные науки и информационные технологии». Саратов: Издат. центр «Наука». 2018. С. 93-95.

15. **Маракаева (Тумская) А.В.** Тест-определение некоторых β -лактамных антибиотиков с помощью реактива Фелинга // Материалы XXVI научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов-2019». М.: Издательство «Перо», 2019. С. 54

16. **Маракаева (Тумская) А.В.**, Косырева И.В. Индикаторные бумаги для экспресс-определения амоксициллина // Тезисы докладов XI Всероссийской конференции по анализу объектов окружающей среды с международным участием. Пермь, 2019. С.112.

17. **Маракаева (Тумская) А.В.** Применение лепестковых диаграмм в тест-методах анализа // Материалы XX Международной научно-практической конференции «Химия и химическая технология в XXI веке». Томск: Изд-во Томского политехнического университета, 2019. С. 258.

18. **Тумская А.В.**, Косырева И.В. Применение метода цифровой цветометрии при экспресс-определении некоторых β -лактамных антибиотиков // Сборник тезисов докладов / XI Всероссийская конференция и школа «Аналитика Сибири и Дальнего Востока», посвященная 100-летию со дня рождения И.Г. Юделевича (АСиДВ-11) (16-20 августа, 2021 г., Новосибирск) [Электронный ресурс] / под ред.: Цыганковой А.Р., Сапрыкина А.И. Новосибирск: ИНХ СО РАН, 2021. С.113.

19. **Тумская А.В.**, Косырева И.В. Визуальная оценка предела обнаружения при тест-определении некоторых β -лактамов // Сборник тезисов докладов / XI Всероссийская конференция и школа «Аналитика Сибири и Дальнего Востока», посвященная 100-летию со дня рождения И.Г. Юделевича (АСиДВ-11) (16-20 августа, 2021 г., Новосибирск) [Электронный ресурс] / под ред.: Цыганковой А.Р., Сапрыкина А.И. Новосибирск: ИНХ СО РАН, 2021. С.154.

20. **Тумская А.В.**, Логинов И.В., Тумский Р.С., Косырева И.В. Разработка и применение приложения для смартфона при экспресс-определении β -лактамных антибиотиков // Материалы международной научной конференции «Компьютерные науки и информационные технологии». Саратов: ООО Издательство «Научная книга», 2021. С. 179-182.

21. **Тумская А.В.**, Косырева И.В. Применение цифровых технологий для экспресс-определения β -лактамов // Тезисы докладов, представленных на IV Съезде аналитиков России (26-30 сентября 2022, г. Москва) / М.: ОНТИ ГЕОХИ РАН. 2022. С. 239.

Автор выражает благодарность научному руководителю, кандидату химических наук, доценту кафедры аналитической химии и химической экологии Института химии СГУ – Косыревой Ирине Владимировне за помощь в постановке задач, содействие в работе, обсуждение результатов, поддержку и вдохновение; доктору химических наук, профессору кафедры аналитической химии и химической экологии Института химии СГУ – Доронину Сергею Юрьевичу за постоянное внимание к работе и ценные советы.