

ЭКОЛОГИЯ

КОЛИЧЕСТВЕННАЯ СПЕКТРОСКОПИЯ ЯМР В ИДЕНТИФИКАЦИИ И КОНТРОЛЕ КАЧЕСТВА ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ И РАСТИТЕЛЬНЫХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ КОМПОЗИЦИЙ

**В.А. Ивлев, А.С. Прокопьев,
Г.А. Калабин**

Экологический факультет
Российский университет дружбы народов
Подольское шоссе, 8/5, Москва, Россия, 113093

Показаны уникальные возможности и перспективы количественной спектроскопии ядерного магнитного резонанса в контроле подлинности и качества лекарственных препаратов и растительных биологически активных композиций.

Ключевые слова: количественная спектроскопия ядерного магнитного резонанса, идентификация, контроль качества, лекарственные препараты, биологически активные композиции.

Выявление все возрастающих потоков фальсифицированной и контрафактной продукции — одна из глобальных проблем XXI в. Многие объекты фальсификации — брендовая одежда, обувь, часы, гаджеты и другие технические изделия, имеющие отношение к созданию имиджа или удовлетворению амбиций, — не представляют прямой опасности для здоровья человека. Более критичная ситуация характерна для продуктов питания, парфюмерно-косметических изделий, моющих средств и иных предметов бытовой химии и интерьеров. Однако наибольшую опасность для здоровья и жизни человека представляют фальсифицированные синтетические лекарственные препараты (ЛП) и биологически активные композиции природного происхождения (БАД). В статье будут рассмотрены некоторые возможности количественной спектроскопии ядерного магнитного резонанса (КС ЯМР) в качестве основного универсального метода идентификации, контроля подлинности и качества ЛП и БАД.

В России контроль ЛП обеспечивают методы и методики, представленные в общих и частных статьях Государственной фармакопеи РФ. Сертификация БАД, популярность которых в последние десятилетия экспоненциально возрастает за счет широко рекламируемой их эффективности, безвредности и экономичности,

осуществляется Роспотребнадзором. При этом обеспечивается минимальный контроль их состава (отсутствие радиоактивных изотопов и тяжелых металлов) и свойств (микробиологическая безопасность), чего явно недостаточно. Наиболее типичные угрозы здоровью, возможные при приеме БАД, обусловлены использованием незадекларированных синтетических компонент, безосновательными медицинскими рекомендациями, несоответствием содержания биологически активных компонент заявленному лечебному эффекту, присутствием минорных токсичных соединений, отсутствием информации о побочных эффектах, обусловленных многокомпонентностью БАД.

Единственный путь уменьшения социальной опасности фальсифицированных ЛП и БАД — ужесточение уголовной ответственности за их распространение. Соответствующий законопроект ныне проходит рассмотрение в Государственной думе РФ. Реализация соответствующего закона, если она последует, потребует обеспечения надежной доказательной базы выявления фальсификатов методами фармацевтического и биомедицинского анализа. Хотя такая база для ЛП в принципе существует в форме Государственной фармакопеи РФ, ее методология и методы, обеспечивающие их широкодоступность, далеки от совершенства. Одна из причин этого состоит в том, что в подавляющем большинстве используемые методики основаны на многостадийных химических процедурах разделения ЛП с выделением действующей субстанции и ее количественным определением одним из хроматографических методов с использованием стандартных образцов. Например, метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) встречает затруднения при анализе содержания соединений с малой молекулярной массой или высокой полярностью, неуниверсален, так как слишком селективен. Методы ИК-спектроскопии дают лишь «отпечаток пальца» ЛП, сравнение которого с эталонным образцом обязательно. Оба они малоэффективны для выявления минорных токсичных примесей. Наиболее информативные современные методы в Госфармакопее РФ практически отсутствуют. В частности, рассматриваемый нами метод ядерного магнитного резонанса (ЯМР) хотя и представлен в ней общей фармстатьей, рекомендован для использования только в одной частной — при доказательстве подлинности и безопасности биотехнологического антикоагулянта гепарина. Такая ситуация не может не вызывать удивления. Она мотивировала нас к написанию этой статьи, задача которой — привлечь более широкое внимание к этому универсальному методу.

Знакомство с двумя наиболее авторитетными источниками — общей монографией «Спектроскопия ядерного магнитного резонанса» (ОФС 42-0046-07) в последнем официальном издании Государственной фармакопеи РФ [2] и главы «Применение метода ЯМР-спектроскопии в определении подлинности лекарственных препаратов» в изданном в 2014 г. Руководстве по инструментальным методам исследований при разработке и экспертизе качества лекарственных препаратов [4] позволяет признать несовременность представлений о возможностях этого метода в первом из них и весьма некорректным и малоинформативным содержанием во втором, хотя издание адресовано специалистам фармацевтической отрасли как руководство.

Спектроскопия ЯМР относится к инструментальным методам анализа, которые необходимы на всех стадиях жизненного цикла ЛП, как это показано на рис. 1.



Рис. 1. Методы анализа

Спектроскопия ЯМР — общепризнанный лидер среди инструментальных методов установления структурных формул, пространственного и электронного строения впервые синтезированных или выделяемых из смесей природных и синтетических органических соединений. В качестве дескрипторов молекулярного строения в этом методе используются значения химических сдвигов и интегральных интенсивностей сигналов отдельных ядер ^1H , ^{13}C , ^{19}F , ^{31}P , входящих в молекулярные фрагменты. Константы спинового взаимодействия между ядрами дают однозначную информацию об относительном расположении атомов в молекуле. Первый пример использования КС ЯМР для фармацевтических задач имеет полувековую историю и относится к 1963 г., когда был количественно проанализирован состав анальгетика с определением в нем аспирина, фенацетина и кодеина с погрешностью около 3% [17]. Уже в 1980 г. метод ЯМР был включен в Фармакопею Германии [30]. Ныне он входит в фармакопеи всех развитых стран. В соответствии с международными протоколами около 15 лет назад метод КС ЯМР официально утвержден прямым первичным методом количественных измерений [20]. Это единственный инструментальный метод, в котором интегральные интенсивности сигналов компонентов смеси прямо пропорциональны их количеству, т.е. мольной доле. В системе единиц SI он является определителем понятия «моль». Опубликованные в последнее десятилетие обзоры, посвященные КС ЯМР, свидетельствуют, что метод одинаково эффективен при детальном количественном анализе лекарственных субстанций и препаратов [18], вспомогательных веществ [14], вакцин [22], природных препаратов [27; 28], пептидов [24], агрохимикатов [25; 34], компонентов пищи [26; 13; 8], экстрактов растений и спиртово-эфирных настоек лекарственных препаратов [29], для получения «метаболических профилей» (т.е. состава) биологических жидкостей человека и животных с целью диагностики заболеваний и контроля действия лекарств [9; 12; 10; 16; 23].

Все вышеперечисленные объекты, в том числе ЛП и БАД, объединяет то, что они, как правило, являются многокомпонентными композициями. Наряду с КС ЯМР ^1H и ^{13}C для их анализа успешно используются методы с регистрацией спектров других ядер, в первую очередь ^{19}F и ^{31}P , а также ^2H , ^{14}N , ^{15}N , ^{17}O , и ^{33}S . Стремительный прорыв КС ЯМР в анализе многокомпонентных систем в наступившем тысячелетии убедительно показывают наиболее свежие обзоры, содержащие детальное описание методологии эксперимента, обработки и интерпретации результатов, содержащие сотни библиографических ссылок [19; 31; 33; 15; 11; 21]. В целом, количество статей, в которых используется КС ЯМР, превышает на конец 2014 г. 15 тыс., из которых более 20% относятся к области интересов этой работы.

Основные направления применения КС ЯМР для анализа ЛП и БАД (здесь и далее именуемых препаратами) представлены на рис. 2.



Рис. 2. Основные направления применения КС ЯМР

Такое разнообразие решаемых задач методом КС ЯМР обеспечено сочетанием принципиальных достоинств самого метода ЯМР и широкодоступных, а также новых технологий его использования. Среди основных достоинств необходимо перечислить те, которые отличают спектроскопию ЯМР от любых иных методов анализа многокомпонентных систем:

- 1) мольная доля аналита в сложной матрице определяется непосредственно по интенсивности его сигналов в спектре независимо от химической природы аналита, сложности и состава матрицы;
- 2) высочайшая точность (правильность) и прецизионность (до 1‰);
- 3) количественный анализ не требует использования стандартных или референтных образцов;
- 4) отсутствие пробоподготовки, в частности, хроматографических или иных методов разделения образца, благодаря чему препарат анализируется в нативной форме или растворе;

5) одновременное получение информации о строении и содержании основных и минорных компонент (остаточные растворители, примеси, изомеры и энантиомеры);

6) высочайшая экспрессность единичного измерения (секунды, сотни секунд);

7) информативность, которая многократно увеличивается путем возможности широкой вариации условий количественного эксперимента (температура, полярность и ароматичность растворителей, pH среды, рабочие частоты регистрации спектров);

8) возможность независимой верификации результатов анализа, выполненного на одном из ядер (обычно ^1H или ^{19}F), количественным результатом из спектра ЯМР иных ядер;

9) «ортогональность», т.е. независимость результатов анализа от таковых, полученных иными методами, поскольку КС ЯМР имеет принципиально другую основу, чем любые химические, хроматографические и иные методы выявления компонент, благодаря чему достигается наивысшая его доказательность.

При выявлении фальсифицированных препаратов, особенно БАД, когда для их создания широко используются синтетические субстанции, отличающиеся разнообразием заместителей при сохранении базового скелета молекул, селективные методы (химические, хроматографические, электрофоретические) в отсутствие стандартов неэффективны. Поскольку соответствующие стандартные образцы, как правило, или отсутствуют или труднодоступны, с учетом сочетания вышеперечисленных достоинств метод ЯМР — единственно возможный надежный путь выявления химического строения и определения количественного содержания биологически активной компоненты на фоне других компонент композиции.

Если основополагающие принципы метода ЯМР и его рутинные применения представлены в последнем издании Государственной фармакопеи РФ, то более широкие возможности КС ЯМР для ЛП и БАД содержат вышеупомянутые обзорные статьи по этой теме, в которых содержатся рекомендации по регистрации спектров ЯМР. Рассмотрены методы повышения чувствительности путем использования высокопольных магнитов, криодатчиков, увеличения размеров образца, минимизацией экзогенных добавок для стабилизации резонансных условий и эталонирования. Для обеспечения правильности результатов регистрации спектров очень важны выбор импульсных процедур, частот, соотношений сигнал/шум. На стадии обработки спектра, полученного во временной шкале спектра и его количественного представления в частотной шкале путем Фурье-преобразования также возможны некоторые улучшения характеристик разрешения и интенсивности сигналов. Очень важный этап — перевод спектральной информации для компонент смеси с выявленным химическим строением из сочетания специальных методик ЯМР на язык количественных соотношений, осуществляемый путем измерения интегральных интенсивностей отдельных сигналов. Погрешности этого этапа обработки спектров, умноженные на погрешности предшествующих этапов, дают итоговую прецизионность измерений. Этот вопрос уже рассматривался нами ранее [5], было показано, что основные факторы, определяющие погрешность, — отношение сигнал/шум, частотные диапазоны интегрирования, линейность базовой линии.

В настоящее время в литературе предлагаются различные стандартные протоколы проведения регистрации количественных спектров ЯМР ^1H различных препаратов, которые в значительной степени могут быть использованы как для ЛП, содержащих до десятка компонент, так и для БАД, являющихся обычно гораздо более многокомпонентными смесями, если они действительно получены из природного органического сырья. Последние наряду с метаболомом, т.е. биофлюидами человека или животных — наиболее сложный объект для анализа КС ЯМР. Поэтому при их исследовании необходимо изыскивать дополнительные методологические возможности как в рамках самого метода КС ЯМР, так и путем его сочетания с некоторыми иными приемами и подходами, повышающими доказательность заключений, но не имеющими значительную трудоемкость.

В практике нашей работы с композициями различной сложности (различные формы лекарственных препаратов, жиры, БАД, растительные экстракты, пептиды) наряду с общепринятыми методиками корреляционной спектроскопии хорошо зарекомендовали себя методы дробной экстракции, т.е. использования совокупности существенно разных дейтерированных растворителей (CDCl_3 , $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, CF_3COOD и D_2O) и их смесей для перераспределения состава компонент аналита в растворе и выявления в спектрах ЯМР ^1H маркерных сигналов интересующих компонент. Дейтерорастворители при этом выполняют обычно три функции: 1) сигналы ядер ^2H используются для стабилизации резонансных условий при регистрации спектров; 2) не дают интенсивных сигналов ^1H , затрудняющих интерпретацию спектров препаратов; 3) остаточные ядра ^1H растворителя используются для калибровки как шкалы химических сдвигов, так и интенсивностей сигналов ЛП и БАД.

В качестве наиболее эффективного и быстрого гибридного подхода к анализу подлинности и количественного состава препаратов мы рекомендуем наряду с методом ЯМР использовать один из методов десорбционной масс-спектрометрии (DART, MALDI, DESI), которые дают информацию о молекулярных массах доминирующих компонент.

Из достаточно эффективных дополнительных методик собственно ЯМР наиболее перспективными представляются DOSY и спектры J-разрешения. Первую из них можно назвать «виртуальной ЯМР-хроматографией» [32]. Ее суть в том, что компоненты препарата, имеющие различные молекулярные массы и свойства, имеют различную диффузионную подвижность в растворе. Варьируя некоторые характеристики импульсных процедур при регистрации спектров ^1H , можно получать последовательно информацию об отдельных компонентах смеси. Методика апробирована нами для выявления синтетических компонент в некоторых БАД, позиционируемых производителями как препараты растительного происхождения. Методика J-разрешения позволяет существенно упрощать спектры ЯМР ^1H путем устранения из них эффектов, обусловленных спин-спиновым взаимодействием этих ядер [7]. Это очень важно как для идентификации отдельных компонент, так и их количественного определения. Наши результаты по использованию этих

и иных подходов КС ЯМР для задач анализа некоторых препаратов опубликованы в специализированных журналах [6; 3; 1]

Представленная информация позволяет сделать вывод о том, что КС ЯМР является наиболее перспективным методом идентификации и контроля качества как ЛП, так и БАД. Для последних невозможны многие референтные стандартные образцы, что делает для них методы хроматографической идентификации неэффективными, что существенно повышает для них информативность методов КС ЯМР.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] *Абрамович Р.А., Ковалева С.А., Горяинов С.В., Калабин Г.А.* Экспресс-анализ суппозиториев методом количественной спектроскопии ЯМР ^1H // *Антибиотики и химиотерапия.* — 2012. — Т. 57. — № 5—6. — С. 3—6.
- [2] Государственная фармакопея РФ XII «Спектроскопия ядерного магнитного резонанса» (ОФС 42-0046-07).
- [3] *Горяинов С.В., Суслина С.Н., Вандышев В.В., Калабин Г.А.* и др. Сравнительное исследование образцов масла семян *Argania spinosa*, полученных разными способами, методами ЯМР ^1H спектроскопии и масс-спектрометрии // *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии.* — 2013. — № 4. — С. 10—15.
- [4] Руководство по инструментальным методам исследований при разработке и экспертизе качества лекарственных препаратов. — М.: Фармконтракт, 2014.
- [5] *Калабин Г.А., Каницкая Л.В., Кушнарев Д.Ф.* Количественная спектроскопия ЯМР природного органического сырья и продуктов его переработки. — М.: Химия, 2000.
- [6] *Калабин Г.А., Горяинов С.В., Ивлев В.А.* и др. Идентификация и количественное определение лекарственных субстанций в суппозиториях комбинацией методов спектроскопии ЯМР ^1H и десорбционной масс-спектрометрии // *Известия Академии наук. Серия химическая.* — 2014. — № 8. — С. 1848—1855.
- [7] *Anrew J. Pell, James Keeler.* Two-dimensional J-spectra with absorption-mode lineshapes // *Journal of Magnetic Resonance* 189 — 2007 — pp. 293—299.
- [8] *Almeida C., Duarte I.F., Barros A.* Composition of beer by ^1H NMR spectroscopy: effects of brewing site and date of production // *J Agric Food Chem* 54 — 2006 — pp. 700—706.
- [9] *Assfalg M., Bertini I., Colangiuli D., etc.* *Proc. Natl. Acad. Sci.* 105USA — 2008 — pp. 1420—1424.
- [10] *Beckonert O., Keun H.C., Ebbels T.M., etc.* *Nat. Protoc.* 2 — 2007 — pp. 2692—2703.
- [11] *Charlotte Simmler, Jose G. Napolitano, James B McAlpine, etc.* Universal quantitative NMR analysis of complex natural samples // *Current Opinion in Biotechnology* 25 — 2014 — pp. 51—59.
- [12] *Coen M., Holmes E., Lindon J.C., Nicholson J.K.* *Chem. Res. Toxicol.* 21 — 2008 — pp. 9—27.
- [13] *Consonni R., Cagliani L.R., Benevelli F., etc.* *Anal. Chim. Acta* 611 — 2008 — pp. 31—40.
- [14] *Diehl B., Holzgrabe U., Wawer I.* NMR applications for polymer characterization // *NMR Spectroscopy in Pharmaceutical Analysis*, Elsevier, Amsterdam — 2008 — pp. 157—180.
- [15] *Guido F. Pauli, Tanja Godecke, Birgit U. Jaki, David C. Lankin.* Quantitative ^1H NMR. Development and Potential of an Analytical Method: An Update // *Journal of Natural Products* 75 — 2012 — pp. 834—851.
- [16] *Himmelreich U., Malik R., Kühn T., etc.* *PLoS One* 4 — 2009 — pp. 5328.
- [17] *Hollis D.P.* Quantitative determination and validation of Carvedilol in pharmaceuticals using quantitative nuclear magnetic resonance spectroscopy // *Anal. chem.* 35 — 1963 — pp. 1682—1684.

- [18] Holzgrabe U., Deubner R., Schollmayer C., Waibel B. Quantitative NMR spectroscopy — applications in drug analysis // *J. Pharm. Biomed. Anal.* 38 — 2005 — pp. 806—812.
- [19] Holzgrabe Ulrike. Quantitative NMR spectroscopy in pharmaceutical applications // *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy* 57 — 2010 — pp. 229—240.
- [20] Jancke H. NMR Spectroscopy as a Primary Analytical Method, Document 98/02 to the 4th Session of the CCQM, Sèvres 1998.
- [21] John van Duynhoven, Ewoud van Velzen, Doris M. Jacobs. Quantification of Complex Mixtures by NMR // *Annual Reports on NMR Spectroscopy* 80 — 2013 — pp. 181—236.
- [22] Jones C. NMR assays for carbohydrate-based vaccines // *J. Pharm. Biomed. Anal.* 38 — 2005 — pp. 840—850.
- [23] Kaiser K.A., Merrywell C.E., Fang F., Larive C.K. Metabolic profiling. In: Holzgrabe U., Wawer I., Diehl B. editor. *NMR Spectroscopy in Pharmaceutical Analysis*. Amsterdam: Elsevier — 2008 — pp. 233—267.
- [24] Kellenbach E., Sanders K., Zomer G., P.L. Overbeeke A. *Pharmaceutica Science, Notes* 2008-1, pp. 1—7.
- [25] Maniara G., Rajamoorthi K., Rajan S., Stockton G.W. *Anal. Chem.* 70 — 1998 — pp. 4921—4928.
- [26] Nord L.I., Vaag P., Duus J. Quantification of organic and amino acids in beer by ¹H NMR spectroscopy // *Anal Chem* 76 — 2004 — pp. 4790—4798.
- [27] Pauli G.F., Jaki B.U., Lankin D.C. Quantitative ¹H NMR: development and potential of a method for natural products analysis // *J Nat Prod* 68 — 2005 — pp. 133—49.
- [28] Pauli G.F., Jaki B.U., Lankin D.C. A routine experimental protocol for qHNMR illustrated with Taxol // *J Nat Prod* 70 — 2007 — pp. 589—595.
- [29] Politi M., Zloh M., Pintado M.E., etc. *Phytochem. Anal.* 20 — 2009 — pp. 328—334.
- [30] Reuter N.P., Haneke A.C., Lewis E., Alexander T.G. , etc. *Assoc. Off. Anal. Chem* 65 — 1982 — pp. 1413—1416.
- [31] Santosh Kumar Bharti, Raja Roy. Quantitative ¹H NMR spectroscopy // *Trends in Analytical Chemistry* 35 — 2012 — pp. 5—26.
- [32] Saleh Trefi, Veronique Gilard, Myriam Malet-Martino, Robert Martino. Generic ciprofloxacin tablets contain the stated amount of drug and different impurity profiles: A ¹⁹F, ¹H and DOSY NMR analysis // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 44 — 2007 — pp. 743—754.
- [33] Tanja Beyer, Bernd Diehl, Ulrike Holzgrabe. Quantitative NMR spectroscopy of biologically active substances and excipients // *Bioanal Rev* 2 — 2010 — pp. 1—22.
- [34] Wells R.J., Cheung J., Hook J.M. The use of qNMR for the analysis of agrochemicals. In: Holzgrabe U., Wawer I., Diehl B. editor. // *NMR Spectroscopy in Pharmaceutical Analysis*. Amsterdam: Elsevier — 2008 — pp. 291—315.

LITERATURA

- [1] Abramovich R.A., Kovaleva S.A., Gorjainov S.V., Kalabin G.A. Jekspress-analiz suppozitoriev metodom kolichestvennoj spektroskopii JaMR ¹H // *Antibiotiki i himioterapija*. — 2012. — Т. 57. — № 5—6. — С. 3—6.
- [2] Gosudarstvennaja Farmakopeja RF XII «Spektroskopija jadernogo magnitnogo rezonansa» (OFS 42-0046-07).
- [3] Gorjainov S.V., Suslina S.N., Vandyshev V.V., Kalabin G.A., i dr. Sravnitel'noe issledovanie obrazcov masla semjan *Argania spinosa*, poluchennyh raznymi sposobami, metodami JaMR ¹H spektroskopii i mass-spektrometrii // *Voprosy biologicheskoi, medicinskoj i farmacevitcheskoj himii* — 2013 — № 4 — С. 10—15.
- [4] Rukovodstvo po instrumental'nym metodam issledovanij pri razrabotke i jekspertize kachestva lekarstvennyh preparatov. — М.: Farmkontrakt, 2014.

- [5] *Kalabin G.A., Kanickaja L.V., Kushnarev D.F.* Kolichestvennaja spektroskopija JaMR prirodnogo organicheskogo syr'ja i produktov ego pererabotki. — M.: Himija, 2000.
- [6] *Kalabin G.A., Gorjainov S.V., Ivlev V.A., i dr.* Identifikacija i kolichestvennoe opredelenie lekarstvennyh substancij v suppozitorijah kombinaciej metodov spektroskopii JaMR 1N i desorbcionnoj mass-spektrometrii // *Izvestija Akademii nauk. Serija himicheskaja* — 2014 — № 8 — С. 1848—1855.
- [7] *Anrew J. Pell, James Keeler.* Two-dimensional J-spectra with absorption-mode lineshapes // *Journal of Magnetic Resonance* 189 — 2007 — pp. 293—299.
- [8] *Almeida C., Duarte I.F., Barros A.* Composition of beer by 1H NMR spectroscopy: effects of brewing site and date of production // *J Agric Food Chem* 54 — 2006 — pp. 700—706.
- [9] *Assfalg M., Bertini I., Colangiuli D., etc.* Proc. Natl. Acad. Sci. 105 USA — 2008 — pp. 1420—1424.
- [10] *Beckonert O., Keun H.C., Ebbels T.M., etc.* Nat. Protoc. 2 — 2007 — pp. 2692—2703.
- [11] *Charlotte Simmler, Jose G. Napolitano, James B McAlpine, etc.* Universal quantitative NMR analysis of complex natural samples // *Current Opinion in Biotechnology* 25 — 2014 — pp. 51—59.
- [12] *Coen M., Holmes E., Lindon J.C., Nicholson J.K.* Chem. Res. Toxicol. 21 — 2008 — pp. 9—27.
- [13] *Consonni R., Cagliani L.R., Benevelli F., etc.* Anal. Chim. Acta 611 — 2008 — pp. 31—40.
- [14] *Diehl B., Holzgrabe U., Wawer I.* NMR applications for polymer characterization // *NMR Spectroscopy in Pharmaceutical Analysis*, Elsevier, Amsterdam — 2008 — pp. 157—180.
- [15] *Guido F. Pauli, Tanja Godecke, Birgit U. Jaki, David C. Lankin.* Quantitative 1H NMR. Development and Potential of an Analytical Method: An Update // *Journal of Natyral Products* 75 — 2012 — pp. 834—851.
- [16] *Himmelreich U., Malik R., Kühn T., etc.* PLoS One 4 — 2009 — pp. 5328.
- [17] *D.P. Hollis* Quantitative determination and validation of Carvedilol in pharmaceuticals using quantitative nuclear magnetic resonance spectroscopy // *Anal. chem.* 35 — 1963 — pp. 1682—1684.
- [18] *Holzgrabe U., Deubner R., Schollmayer C., Waibel B.* Quantitative NMR spectroscopy — applications in drug analysis // *J. Pharm. Biomed. Anal.* 38 — 2005 — pp. 806—812.
- [19] *Holzgrabe Ulrike.* Quantitative NMR spectroscopy in pharmaceutical applications // *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy* 57 — 2010 — pp. 229—240.
- [20] *Jancke H.* NMR Spectroscopy as a Primary Analytical Method, Document 98/02 to the 4th Session of the CCQM, Sèvres 1998.
- [21] *John van Duynhoven, Ewoud van Velzen, Doris M. Jacobs.* Quantification of Complex Mixtures by NMR // *Annual Reports on NMR Spectroscopy* 80 — 2013 — pp. 181—236.
- [22] *Jones C.* NMR assays for carbohydrate-based vaccines // *J. Pharm. Biomed. Anal.* 38 — 2005 — pp. 840—850.
- [23] *Kaiser K.A., Merrywell C.E., Fang F., Larive C.K.* Metabolic profiling. In: Holzgrabe U., Wawer I., Diehl B. editor. *NMR Spectroscopy in Pharmaceutical Analysis*. Amsterdam: Elsevier, 2008 — pp. 233—267.
- [24] *Kellenbach E., Sanders K., Zomer G., Overbeeke A. P.L.* Pharmaeuropa Science, Notes 2008 — 1, pp. 1—7.
- [25] *Maniara G., Rajamoorthi K., Rajan S., Stockton G.W.* Anal. Chem. 70 — 1998 — pp. 4921—4928.
- [26] *Nord L.I., Vaag P., Duus J.Ø.* Quantification of organic and amino acids in beer by 1H NMR spectroscopy // *Anal Chem* 76 — 2004 — pp. 4790—4798.
- [27] *Pauli G.F., Jaki B.U., Lankin D.C.* Quantitative 1H NMR: development and potential of a method for natural products analysis // *J Nat Prod* 68 — 2005 — pp. 133—49.
- [28] *Pauli G.F., Jaki B.U., Lankin D.C.* A routine experimental protocol for qHNMR illustrated with Taxol // *J Nat Prod* 70 — 2007 — pp. 589—595.

- [29] *Politi M., Zloh M., Pintado M.E., etc.* *Phytochem. Anal.* 20 — 2009 — pp. 328—334.
- [30] *Reuter N.P., Haneke A.C., Lewis E., Alexander T.G., etc.* *Assoc. Off. Anal. Chem.* 65 — 1982 — pp. 1413—1416.
- [31] *Santosh Kumar Bharti, Raja Roy.* *Quantitative 1H NMR spectroscopy // Trends in Analytical Chemistry* 35 — 2012 — pp. 5—26.
- [32] *Saleh Trefi, Veronique Gilard, Myriam Malet-Martino, Robert Martino.* *Generic ciprofloxacin tablets contain the stated amount of drug and different impurity profiles: A 19F, 1H and DOSY NMR analysis // Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 44 — 2007 — pp. 743—754.
- [33] *Tanja Beyer, Bernd Diehl, Ulrike Holzgrabe.* *Quantitative NMR spectroscopy of biologically active substances and excipients // Bioanal Rev* 2 — 2010 — pp. 1—22.
- [34] *Wells R.J., Cheung J., Hook J.M.* *The use of qNMR for the analysis of agrochemicals.* In: *Holzgrabe U., Wawer I., Diehl B. editor. // NMR Spectroscopy in Pharmaceutical Analysis.* Amsterdam: Elsevier — 2008 — pp. 291—315.

QUANTITATIVE NMR SPECTROSCOPY IN IDENTIFICATION AND QUALITY CONTROL OF DRUGS AND HERBAL BIOLOGICALLY ACTIVE COMPOSITIONS

**V. A.Ivlev, A.S. Prokop'ev,
G.A. Kalabin**

Ecological Department
Peoples' Friendship University of Russia
Podolskoe shosse, 8/5, Moscow, Russia, 113093

The article demonstrates the unique capabilities and prospects of quantitative nuclear magnetic resonance spectroscopy in the control of the authenticity and quality of drugs and herbal biologically active compositions.

Key words: quantitative nuclear magnetic resonance spectroscopy, identification, quality control, drugs, biologically active compositions.