

---

---

## НОВАЯ МЕТОДОЛОГИЯ ЭКСПЕРТИЗЫ БЕЗОПАСНОСТИ И КАЧЕСТВА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ И БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ДОБАВОК

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

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

Показаны возможности использования новой методологии, основанной на комбинации методов спектроскопии ядерного магнитного резонанса, масс-спектрометрии и спектроскопии в ближней инфракрасной области для качественного и количественного анализа лекарственных средств и биологически активных добавок.

**Ключевые слова:** спектроскопия ядерного магнитного резонанса, масс-спектрометрия, спектроскопия в ближней инфракрасной области, идентификация, контроль качества, лекарственные препараты, биологически активные композиции

Безопасность жизнедеятельности в значительной степени определяется состоянием медицины. Успехи медицинской помощи наряду с профессионализмом врачей в значительной степени определяются тремя составляющими: адекватной диагностикой заболевания, эффективной технологией лечения, наличием и качеством необходимых лекарственных средств (ЛС). Уровень доказательной диагностики в России в последние два десятилетия существенно вырос и соответствует в крупных городах мировому за счет массированного внедрения зарубежного оборудования для исследований. Благодаря этому технологии лечения также в значительной степени персонифицируются, т.е. учитываются факторы сопутствующих заболеваний и противопоказаний. Наиболее слабым звеном представляется наличие и качество ЛС. Проблема эффективности и полезности широко регламентируемых отдельных групп препаратов в последние годы значительно обострилась. Исходя из материалов Лиги защиты пациентов, представленных авторитетными специалистами — медиками и фармацевтами, следует, что многие популярные в России отечественные ЛС, прошедшие регистрацию, не проходили соответствующих широкомасштабных предклинических и клинических испытаний. Поэтому большинство из них не рекомендовано к использованию в развитых странах. Только в последней редакции Федерального закона «Об обращении лекарственных средств» (№ 61-ФЗ от 12.04.2010 с изменениями от 22.12.2014 № 429-ФЗ), обязательного для исполнения с 01.07.2015, этот недостаток в значительной степени устранен. Эта проблема и пути ее решения врачам известны.

Гораздо более сложной и масштабной в РФ является проблема, обусловленная фальсифицированными ЛС, доля которых весьма велика. Поскольку исчерпывающих исследований этого вопроса в РФ не проводилось, можно предполагать,

что это значение превосходит известное для стран ЕС ( $\approx 20\%$ ), в которых контроль подлинности ЛС находится на существенно более высоком уровне.

В 2015 году помимо вступления в силу последней редакции ФЗ «Об обращении лекарственных средств» в отечественной фармацевтике произошло еще два знаковых события. Первое, наиболее важное по значимости событие — вступление в действие в январе Федерального закона от 31.12.2014 № 532-ФЗ «О внесении изменений в отдельные законодательные акты Российской Федерации, в частности противодействия обороту фальсифицированных лекарственных средств, медицинских изделий и фальсифицированных биологически активных добавок». Второе событие — публикация после семилетнего перерыва нового текста Государственной фармакопеи РФ, издание 13 (ГФ—13), вступившей в действие с 01.01.2016. Обеспечение исполнения Федерального закона и возможность введения в ГФ—13 ряда новых общих фармакопейных статей (ОФС) по методам контроля ЛС мотивирует разработку новых концепций экспертизы подлинности и качества как лекарственных средств, так и парафармацевтиков — группы БАД, наиболее близкой к медицинским препаратам по регламентируемой или доказанной лечебно-профилактической эффективности. Многие методики, представленные в ФС новой фармакопеи РФ имеют ряд неудобств и недостатков, наиболее важный из которых — необходимость наличия стандартных образцов при доказательстве подлинности лекарственных субстанций. Кроме того, некоторые методики весьма многооперационны, т.е. требуют больших временных затрат, использования совокупности различных методов химического и физико-химического анализа. Унифицированный метод ИК-спектроскопии имеет ряд ограничений при контроле подлинности лекарственных препаратов. Для БАД как второго объекта фальсификации в упомянутом ФЗ официальных критериев подлинности и качества практически не содержится. Поэтому представляемая ниже методология является попыткой совершенствования доказательного фармацевтического анализа как одной из важнейших частей доказательной медицины в целом. Не подвергая сомнению уровень доказательности подлинности лекарственных субстанций, препаратов и сырья по методикам, изложенным в ГФ—13 можно отметить, что использование в ней ядерного магнитного резонанса (ЯМР) и масс-спектрометрии (МС), как наиболее информативных из представленных в ней дифференциальных физических и физико-химических методов, ничтожно. Поскольку МС впервые введена в арсенал физико-химических методов в ГФ—13, то вполне естественно, что в ней отсутствуют соответствующие методики. Метод ЯМР, введенный в ГФ—11 более 17 лет назад и представленный в ГФ—13 статьей ОФС 1.2.1.1.0007.15, используется только для двух классов аналитов — гепарина и полисахаридных вакцин. Фармакопеи США и ЕС содержат десятки методик ЯМР. Подобная ситуация характерна и для метода спектроскопии в ближней инфракрасной области (БИК), для которого пробоподготовка минимальна и не требует использования растворителей. Этот метод впервые представлен в ГФ—13 в ОФС 1.2.1.1.000.1.15. Следует обратить внимание на высочайшую информативность и универсальность каждого из этих методов, а также уникальность их сочетания, не требующую использования стандартных образцов. Последние принципиально необходимы в экспертной практике для других ме-

тодов, в первую очередь хроматографических и оптических. Комплементарность методов МС+ЯМР+БИК позволяет для многокомпонентных органических объектов быстро (минуты) и надежно установить элементный состав, точную молекулярную массу, структурные формулы и количественное содержание отдельных компонент ЛС, примесей и остаточных растворителей в них. Следует вновь отметить, что такой анализ осуществляется без использования труднодоступных и дорогостоящих стандартных образцов, особенно для новых зарубежных препаратов. В случае с биологически активными добавками (БАД), из которых парафармацевтики широко используются их пользователями для целей профилактической медицины, стандартные образцы практически отсутствуют, как и общепринятые и утвержденные методики доказательства их подлинности. Хотя они и не являются ЛС официальной медицины, такое широкое использование БАД требует их экспертизы.

Использование тандема методов МС+ЯМР показало его уникальные возможности для анализа некоторых биофлюидов человека, ЛС и БАД [13; 15—17]. Сочетание этих методов дает ортогональную (независимую) информацию об анализируемом объекте, обеспечивая доказательность экспертизы, в том числе для задач правоприменительного обеспечения требований Федерального закона № 532.

Создание методологической концепции и ее унифицированная экспериментальная реализация в выполненном нами проекте базируются на сочетании методов количественной спектроскопии ЯМР, МС и БИК как информативных методов получения количественных независимых «отпечатков пальцев» сложных систем, какими являются ЛС и БАД.

Каждый из предлагаемых методов — спектроскопия ЯМР, МС и БИК, имеет уникальные возможности и широко используется в Центре контроля качества лекарственных средств ЦКП (НОЦ) РУДН.

Спектроскопия ЯМР на ядрах  $^1\text{H}$ ,  $^2\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{19}\text{F}$  и  $^{31}\text{P}$  — прямой метод установления молекулярной формулы веществ и их последующего количественного анализа; входит в фармакопеи развитых стран, имеет официально признанный статус прямого первичного метода количественных измерений. Это единственный инструментальный метод, в котором интегральные интенсивности сигналов ядер атомов отдельных компонентов смеси веществ прямо пропорциональны их мольной доле [9]. Метод фактически является определителем понятия «моль» в системе единиц СИ. Опубликованные в последнее десятилетие обзоры, посвященные количественной спектроскопии ЯМР (КС ЯМР), демонстрируют высокую экспрессность и прецизионность метода при изучении лекарственных субстанций [6], вспомогательных веществ [10], вакцин [11], природных [12; 7] и биофармацевтических препаратов [5]. Идентификация и количественное определение компонент ЛС, выявление и оценка содержания в них нерегламентированных примесей и остаточных растворителей осуществляется методом КС ЯМР  $^1\text{H}$  без использования стандартных образцов и пробоподготовки (исключение — необходимость перевода твердых форм в раствор). Независимость информации имеет большое значение, например, для экспертизы валидированных методик, ве-

рификации состава стандартных образцов и референтных материалов. Последние достоинства метода обретают особую ценность в условиях возрастающей в последнее десятилетие доли контрафактных и фальсифицированных ЛС, которые содержат пониженное количество лекарственной субстанции, ее подмену или отсутствие, ненадлежащее качество препарата в целом. Все это обеспечивает доказательную платформу аутентификации лекарств и создает основу для привлечения недобросовестных участников фармацевтического рынка к административной и уголовной ответственности в соответствии с ФЗ № 532. На ядрах  $^1\text{H}$  метод позволяет обнаружить примеси с содержанием на уровне 0,01—0,1%. С некоторой потерей чувствительности большинство методик ЯМР может быть адаптировано к настольным спектрометрам ЯМР с рабочими частотами для протонов 80—100 МГц [8].

Масс-спектрометрия является самым высокочувствительным методом анализа, способным легко выявлять пикограммовые количества примесей. В последнее десятилетие для анализа сложных многокомпонентных смесей все большую популярность приобретают «мягкие» методы ионизации, к которым, в частности, относятся масс-спектрометрия MALDI (матрично-активированная лазерная десорбция/ионизация) и ESI (ионизация электрораспылением). Характеристики масс-спектров — точная молекулярная масса и элементный состав отдельных искоемых соединений — важнейшие дескрипторы при проведении качественного и количественного анализа. Появление новых десорбционных методов ионизации, в частности, масс-спектрометрии DART, на порядок повысило экспрессность проведения анализов, а в сочетании с масс-анализатором высокого разрешения позволяет измерять молекулярные массы с погрешностью порядка 5 ppm, а также брутто-формулы соединений и их отдельных фрагментов [14].

Метод ИК-спектроскопии широко и успешно используется в фарманализе в формате «отпечатка пальца» для сличения аналита со стандартом без необходимости наличия последнего, т.е. на основании сравнения со спектром из базы данных. Метод получения «отпечатка пальцев» анализируемого объекта, дополненный данными БИК, очень эффективен для создания совместных с ЯМР и МС баз данных наиболее важных с позиций однозначного распознавания ЛС и парафармацевтиков, представленных на фармацевтическом рынке РФ. Исключительная ценность внутри используемой триады методов — ортогональность (независимость) каждого из них. Полная независимость их от классических фармакопейных методов — хроматографических и химических — существенно повышает их экспертный потенциал.

Анализ объектов каждым из методов осуществляется для их водных или органических растворов или экстрактов при минимальной унифицированной пробоподготовке, сочетающей растворение с ультразвуковым воздействием, центрифугированием и количественным добавлением стандарта, если это целесообразно. В отдельных случаях возможна простейшая дериватизация (гидролиз, введение некоторых функциональных групп). Аналитический процесс осуществляется в уже апробированной последовательности «пробоподготовка» — МС + ЯМР + ИК — идентификация компонент — количественное содержание ком-

понент (лекарственная субстанция, вспомогательные вещества, примеси) — заключение о подлинности и качестве. В случае задач по выявлению фальсификатов БАД возможны упрощенные алгоритмы анализа.

Апробация элементов и разрабатываемого подхода в целом успешно реализована в ЦКП (НОЦ) РУДН при исследовании большой группы жиров и масел, суппозиториях, мазей, лекарственных субстанций, новых биофармацевтических препаратов [1—4].

В качестве примера определения содержания лекарственной субстанции в препарате рассмотрим олигопептидный препарат «седатин», производимый в форме трансбуккального пластыря. Количественная методика его определения методами спектроскопии ЯМР и МС нами разработана и принята в ФСП. «Седатин» — адаптоген, синтетический пентапептид, содержащий пять аминокислот, Arg-Tyr-D-Ala-Phe-Gly. Находится в виде соли с двумя ацетат ионами. Эмпирическая формула  $C_{29}H_{40}N_8O_7$ ,  $M = 612,6$  г/моль.

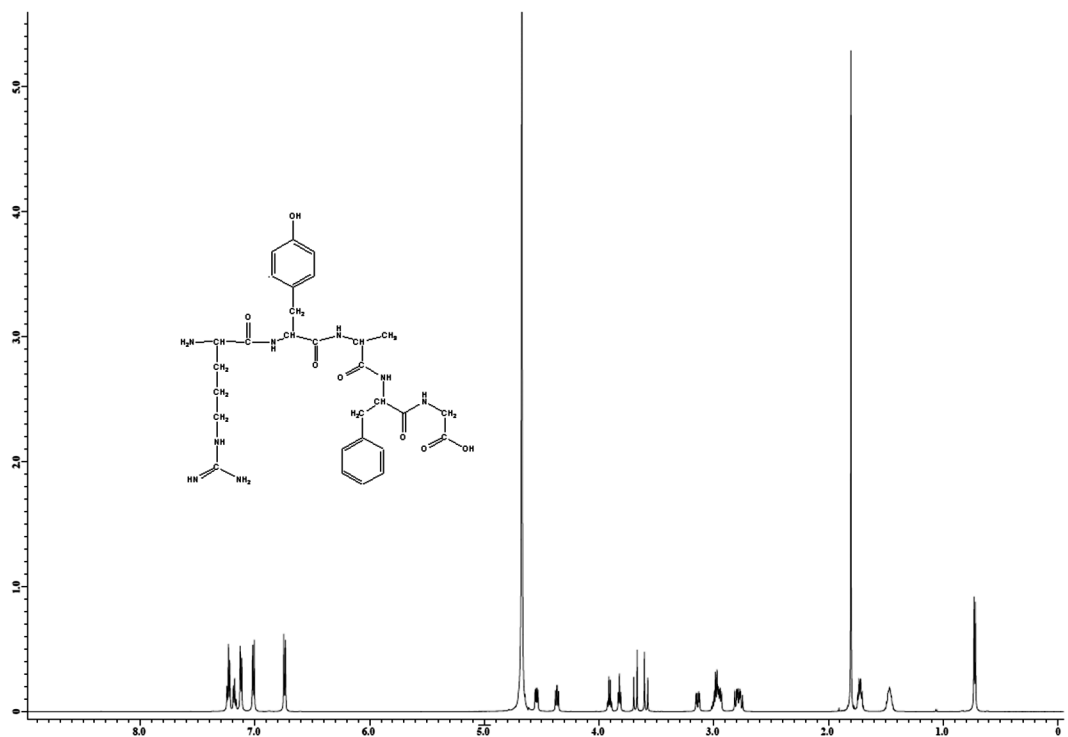


Рис. 1. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  и формула «седатина»

Для идентификации всех сигналов в спектре ЯМР  $^1\text{H}$  и выбора референтных сигналов для количественного определения «седатина» в лекарственном препарате выполнена регистрация спектра ЯМР  $^1\text{H}$  в  $\text{D}_2\text{O}$  (30 мг в 700 мкл) на рабочей частоте 600 МГц (развертка 15 м.д., импульс  $90^\circ$ , центр спектра 5 м.д., 32 К точек на спектр, число накоплений спектра 16, задержка между импульсами 15 с). Спектр и химическая формула представлены на рис. 1. Поскольку в растворителе  $\text{D}_2\text{O}$  происходит дейтерообмен амидных, аминных, гидроксильных и карбоксильных протонов, соответствующие сигналы в спектре не наблюдаются. Спектр полно-

стью соответствует молекулярной формуле и содержит характеристические сигналы, в том числе девяти протонов при ароматических атомах углерода, в области 6.7—7.3 м.д., которые могут быть использованы как идентификационные в количественном анализе.

Пленкообразующий раствор для производства трансбуккальной формы имеет следующий состав (г на 100 г): «седатин» — 0.07, сорбит — 12.0, твин-80 — 0.5, натрия сахаринат — 0.5, раствор кармина (0.3%) — 0.15, крахмал Luscoat RS 780 — 36.5, вода — 50.28, т.е. на 1 молекулу «седатина» приходится около 25 000 молекул воды.

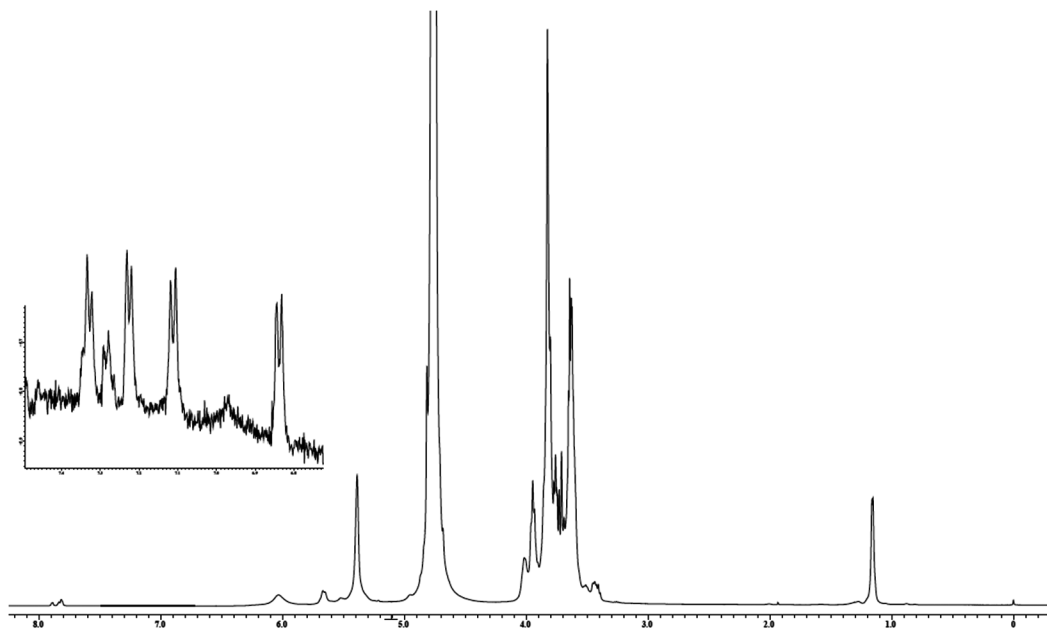


Рис. 2. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  пленкообразующего раствора ЛС «седатина»

Для количественного определения субстанции «седатина» в его пленкообразующем растворе 1 г препарата растворяют при небольшом нагревании (50—60 °С) в 2,5 мл  $\text{D}_2\text{O}$ , и в качестве внутреннего стандарта добавляют 0,25 мг ТСП (натриевая соль триметилсилилпропионовой кислоты D-4). 1 мл полученного раствора переносят в ампулу диаметром 5 мм и регистрируют спектр ЯМР  $^1\text{H}$  при следующих условиях: импульс  $90^\circ$ , задержка между импульсами 15 сек., количество накоплений 800, ширина развертки 15 м.д. с установкой частоты возбуждения на 5 м.д., число точек на спектр 32 К. Спектр препарата представлен на рис. 2. Его сравнение со спектром индивидуального Седатина позволяет в качестве сигналов, не перекрывающихся с сигналами других компонентов препарата, выбрать, как и предполагалось, сигналы девяти ароматических протонов в области спектра от 6.7 до 7.3 м.д. Поскольку эти сигналы расположены достаточно близко друг к другу, т.е. частично перекрываются, использование какого-то одного из них приведет к росту погрешности интегрирования, особенно при использовании спектрометров ЯМР с более низкими частотами для  $^1\text{H}$ . Поэтому измеряются интегральные интенсивности сигнала группы  $(\text{CH}_3)_3\text{Si}$  ТСП и совокупности всех аро-

матических протонов «седатина». На их основе рассчитывают массу «седатина» (С) в навеске:

$$m(C) = m(\text{ТСП})/M(\text{ТСП}) \cdot (I(C)/N(C))/(I(\text{ТСП})/N(\text{ТСП})) \cdot M(C),$$

где  $m$  — масса,  $M$  — молярная масса,  $I$  — интегральная интенсивность сигналов,  $N$  — количество протонов, их обуславливающее.

Расчет массы «седатина» в 100 г лекарственной субстанции выполняется по уравнению

$$m(C)_{\text{в } 100\text{г}} = m(C)/m_{\text{навески}} \cdot 100.$$

Для представленного на анализ образца найдено, что в 100 г препарата содержится  $0,070 \pm 0,002$  г «седатина», что хорошо согласуется со значением загрузочного листа (0,070 г). Кроме действующего вещества, из спектра ЯМР  $^1\text{H}$  можно оценить количественное содержание крахмала по дублету при 1.08 м.д., и натрия сахарината по сигналам в области 7.70—7.83 м.д., соизмеримого с сигналами как ароматических протонов «седатина», так и сигналом метильной группы крахмала.

Наилучшие результаты в масс-спектрах МАЛДИ (матрично-активированная лазерная десорбция/ионизация) пептидов достигаются при использовании в качестве матрицы SA (sinapic acid) и ДНВ (dihydroxybenzoic acid). Основными продуктами десорбции/ионизации, регистрируемыми в масс-спектрах МАЛДИ, были следующие ионы:  $[M + H]^+$  (протонированная молекула) и ионы-аддукты с катионами натрия и калия  $[M + Na]^+$  и  $[M + K]^+$  (менее интенсивные). В случае «седатина» наличие двух интенсивных пиков  $[M + H]^+$  и  $[M + Na]^+$  с массами  $m/z$  613 и 635 в сочетании с разрешением времяпролетного масс-детектора позволяет надежно установить брутто-формулу искомого соединения.

Масс-спектр ИЭР (ионизация электрораспылением) «седатина» (рис. 3) содержит эти же два интенсивных пика  $[M + H]^+$  и  $[M + Na]^+$  с массами  $m/z$  613 и 635. С помощью масс-спектрометрии ИЭР осуществлена валидация методики количественного определения «седатина» в пленкообразующем растворе. Серию калибровочных растворов готовили методом последовательного разбавления и регистрировали масс-хроматограммы в MRM (multiple reaction monitoring) режиме (614 → 391). Результаты хорошо согласуются с таковыми из спектров ЯМР  $^1\text{H}$  ( $0,068 \pm 0,002$  г) и подтверждают пригодность разработанной методики ЯМР для количественных измерений. Спектры ИК и БИК при доказательстве не используются, но вносятся в базу данных, как «отпечатки» лекарственной субстанции и препарата «седатин».

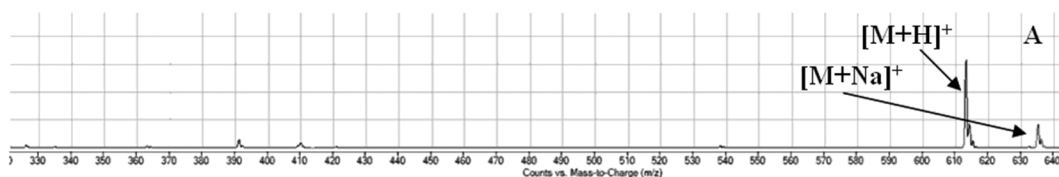


Рис. 3. Масс-спектр ИЭР «седатина»

Для доказательства фальсификации препарата наряду с представленным алгоритмом анализа может быть использован упрощенный, т.е. на основе только полуколичественного спектра ЯМР без использования ТСП. Спектр должен содержать вышерассмотренные сигналы с соотношением интенсивностей иным, чем для подлинного лекарственного препарата.

Развитие представленной методологии путем создания валидированных методик доказательства подлинности (выявления фальсификации) ЛС и парафармацевтиков, их тиражирование в аккредитованных лабораториях, располагающих соответствующим оборудованием и сертифицированными специалистами-экспертами, представляется весьма перспективным для решения наиболее сложных задач экспертной фармацевтики и выявления фальсифицированных парафармацевтиков.

## ЛИТЕРАТУРА

- [1] *Абрамович Р.А., Ковалева С.А., Горяинов С.В., Воробьев А.Н., Калабин Г.А.* Экспресс-анализ суппозиторий методом количественной спектроскопии ЯМР  $^1\text{H}$  // Антибиотики и химиотерапия. 2012. 57. № 5-6. С. 3—6.
- [2] *Горяинов С.В., Лабзиуи З., Алиев А.М., Суслина С.Н., Вандышев В.В., Калабин Г.А.* Сравнительное исследование образцов масла семян ARGANIA SPINOSA, полученных разными способами, методами ЯМР  $^1\text{H}$  спектроскопии и масс-спектрометрии // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2013. Т. 11. № 4. С. 010—015.
- [3] *Ивлев В.А., Обидченко Ю.А., Прокопьев А.С., Абрамович Р.А., Горяинов С.В., Калабин Г.А.* Идентификация и контроль качества синтетических олигопептидных фармпрепаратов методом количественной спектроскопии ЯМР  $^1\text{H}$  и масс-спектрометрии // Биофармацевтический журнал. 2015. Т. 7. № 3. С. 36—44.
- [4] *Калабин Г.А., Горяинов С.В., Ивлев В.А., Нифтуллаев Ф.Ю., Абрамович Р.А.* Идентификация и количественное определение лекарственных субстанций в суппозиториях комбинацией методов спектроскопии ЯМР  $^1\text{H}$  и десорбционной масс-спектрометрии // Известия Академии наук. Серия химическая. 2014. № 8. С. 1848—1855.
- [5] *Charlotte Simmler, José G. Napolitano, James B. McAlpine, Shao-Nong Chen and Guido F. Pauli.* Universal quantitative NMR analysis of complex natural samples // Current Opinion in Biotechnology. 2014. 25. P. 51—59.
- [6] *Holzgrabe Ulrike.* Quantitative NMR spectroscopy in pharmaceutical applications // Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. 2010. 57. P. 229—240.
- [7] *Guido F. Pauli, Tanja Gödecke, Birgit U. Jaki and David C. Lankin.* Quantitative  $^1\text{H}$  NMR. Development and Potential of an Analytical Method: An Update // Journal of Natural Products. 2012. 75. P. 834—851.
- [8] *Guilhem Pagès, Anna Gerdova, David Williamson, Véronique Gilard, Robert Martino, and Myriam Malet-Martino.* Evaluation of a Benchtop Cryogen-Free Low-Field  $^1\text{H}$  NMR Spectrometer for the Analysis of Sexual Enhancement and Weight Loss Dietary Supplements Adulterated with Pharmaceutical Substances // Anal. Chem. 2014. 86. P. 1897—1904.
- [9] *Jancke H.* NMR Spectroscopy as a Primary Analytical Method, Document 98/02 to the 4th Session of the CCQM, Sèvres 1998.
- [10] *John van Duynhoven, Ewoud van Velzen, Doris M. Jacobs.* Quantification of Complex Mixtures by NMR // Annual Reports on NMR Spectroscopy. 2013. 80. P. 181—236.
- [11] *Jones C.* NMR assays for carbohydrate-based vaccines // J. Pharm. Biomed. Anal. 2005. 38. P. 840—850.
- [12] *Kaiser K.A.* Metabolic profiling. In: Holzgrabe U., Wawer I., Diehl B. editor. NMR Spectroscopy in Pharmaceutical Analysis. Amsterdam: Elsevier. 2008. P. 233—267.



- [13] *Kerem Bingol, Lei Bruschiweiler-Li, Cao Yu, Arpad Somogyi, Fengli Zhang and Rafael Bruschweiler.* Metabolomics Beyond Spectroscopic Databases: A Combined MS/NMR Strategy for the Rapid Identification of New Metabolites in Complex Mixtures // *Anal. Chem.* 2015. 87. P. 3864—3870.
- [14] *Klampf C.W., Himmelsbach M.* Direct spray methods in mass-spectrometry: an overview. *Anal. Chim. Acta.* 2015. 890. P. 44—59.
- [15] *Ranga Rao Ravu, Melissa R. Jacob, Cynthia Jeffries, Ying Tu, Shabana I. Khan, Ameeta K. Agarwal, R. Kiplin Guy, Larry A. Walker, Alice M. Clark and Xing-Cong Li.* LC-MS- and <sup>1</sup>H NMR Spectroscopy-Guided Identification of Antifungal Diterpenoids from *Sagittaria latifolia* // *J. Nat. Prod.* 2015. 78 (9). P. 2255—2259.
- [16] *Robert Brkljača and Sylvia Urban.* HPLC-NMR and HPLC-MS Profiling and Bioassay-Guided Identification of Secondary Metabolites from the Australian Plant *Haemodorum spicatum* // *J. Nat. Prod.* 2015. 78 (7). P. 1486—1494.
- [17] *Sileshi G. Wubshet, Schmidt J.S, Wiese S., Staerk D.* High-Resolution Screening Combined with HPLC-HRMS-SPE-NMR for Identification of Potential Health-Promoting Constituents in Sea Aster and Searocket New Nordic Food Ingredients // *J. Agric. Food Chem.* 2013. 61. P. 8616—8623.

## A NEW METHODOLOGY FOR THE EXAMINATION OF SAFETY AND QUALITY OF PHARMACEUTICALS AND DIETARY SUPPLEMENTS

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

Ecology Faculty  
Peoples' Friendship University of Russia  
*Podolskoye shosse, 8/5, Moscow, Russia, 113093*

The aim of the article is a new methodology based on a combination of nuclear magnetic resonance spectroscopy, mass spectrometry and spectroscopy in the near infrared region for the analysis of quality of medicines and dietary supplements and identifying of their counterfeits.

**Key words:** nuclear magnetic resonance spectroscopy, mass spectrometry, spectroscopy in the near infrared region, identification, quality control, drugs, biologically active compositions

### REFERENCES

- [1] Abramovich R.A., Kovaleva S.A., Goryainov S.V., Vorob'ev A.N., Kalabin G.A. Ekspress-analiz suppozitoriev metodom kolichestvennoj spektroskopii NMR 1H [Rapid analysis of suppositories NMR spectroscopy quantitative 1H]. *Antibiotiki i himioterapiya [Antibiotics and Chemotherapy]*. 2012. 57. No 5-6. P. 3—6.
- [2] Goryainov S.V., Labziui Z., Aliev A.M., Suslina S.N., Vandyshev V.V., Kalabin G.A. Sravnitel'noe issledovanie obrazcov masla semjan ARGANIA SPINOSA, poluchennyh raznymi sposobami, metodami JaMR 1H spektroskopii i mass-spektrometrii [Comparative study seed oil samples *Argania spinosa*, obtained by different methods, methods of 1H NMR spectroscopy and mass spectrometry]. *Voprosy biologicheskoy, meditsinskoj i farmatsevticheskoy khimii [Problems of Biological, Medical and Pharmaceutical Chemistry]*. 2013. V. 11. No 4. P. 010—015.
- [3] Ivlev V.A., Obidchenko Yu.A., Prokop'ev A.S., Abramovich R.A., Goryainov S.V., Kalabin G.A. Identifikatsiya i kontrol' kachestva sinteticheskikh oligopeptidnykh farmpreparatov metodom kolichestvennoj spektroskopii YAMR 1H i mass-spektrometrii. [Identification and quality control

- of synthetic oligopeptide pharmaceuticals by quantitative  $^1\text{H}$  NMR spectroscopy and mass spectrometry]. *Biofarmatsevticheskij zhurnal [Russian Journal of Biopharmaceutical]*. 2015. V. 7. No 3. P. 36–44.
- [4] Kalabin G.A., Goryainov S.V., Ivlev V.A., Niftullaev F.Yu., Abramovich R.A. Identifikatsiya i kolichestvennoe opredelenie lekarstvennykh substansij v suppozitoriyakh kombinatsiej metodov spektroskopii YAMR  $^1\text{H}$  i desorbtsionnoj mass-spektrometrii. [Identification and quantitative determination of active pharmaceutical ingredients in suppositories by a combination of  $^1\text{H}$  NMR spectroscopy and desorption mass spectrometry]. *Izvestiya Akademii nauk. Seriya khimicheskaya. [Russian Chemical Bulletin, International Edition]*. Vol. 63. No. 8. Pp. 1848–1855.
- [5] Charlotte Simmler, José G. Napolitano, James B. McAlpine, Shao-Nong Chen and Guido F. Pauli. Universal quantitative NMR analysis of complex natural samples. *Current Opinion in Biotechnology*. 2014. 25. P. 51–59.
- [6] Holzgrabe Ulrike. Quantitative NMR spectroscopy in pharmaceutical applications // *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*. 2010. 57. P. 229–240.
- [7] Guido F. Pauli, Tanja Gödecke, Birgit U. Jaki and David C. Lankin. Quantitative  $^1\text{H}$  NMR. Development and Potential of an Analytical Method: An Update. *Journal of Natural Products*. 2012. 75. P. 834–851.
- [8] Guilhem Pagès, Anna Gerdova, David Williamson, Véronique Gilard, Robert Martino and Myriam Malet-Martino. Evaluation of a Benchtop Cryogen-Free Low-Field  $^1\text{H}$  NMR Spectrometer for the Analysis of Sexual Enhancement and Weight Loss Dietary Supplements Adulterated with Pharmaceutical Substances. *Anal. Chem.* 2014. 86. P. 1897–1904.
- [9] Jancke H. NMR Spectroscopy as a Primary Analytical Method, Document 98/02 to the 4th Session of the CCQM, Sèvres 1998.
- [10] John van Duynhoven, Ewoud van Velzen, Doris M. Jacobs. Quantification of Complex Mixtures by NMR. *Annual Reports on NMR Spectroscopy*. 2013. 80. P. 181–236.
- [11] Jones C. NMR assays for carbohydrate-based vaccines // *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2005. 38. P. 840–850.
- [12] Kaiser K.A. Metabolic profiling. In: Holzgrabe U., Wawer I., Diehl B. editor. *NMR Spectroscopy in Pharmaceutical Analysis*. Amsterdam: Elsevier. 2008. P. 233–267.
- [13] Kerem Bingol, Lei Bruschiweiler-Li, Cao Yu, Arpad Somogyi, Fengli Zhang and Rafael Bruschweiler. Metabolomics Beyond Spectroscopic Databases: A Combined MS/NMR Strategy for the Rapid Identification of New Metabolites in Complex Mixtures // *Anal. Chem.* 2015. 87. P. 3864–3870.
- [14] Klampf C.W., Himmelsbach M. Direct spray methods in mass-spectrometry: an overview. *Anal. Chim. Acta.* 2015. 890. P. 44–59.
- [15] Ranga Rao Ravu, Melissa R. Jacob, Cynthia Jeffries, Ying Tu, Shabana I. Khan, Ameeta K. Agarwal, R. Kiplin Guy, Larry A. Walker, Alice M. Clark and Xing-Cong Li. LC-MS- and  $^1\text{H}$  NMR Spectroscopy-Guided Identification of Antifungal Diterpenoids from *Sagittaria latifolia*. *J. Nat. Prod.* 2015. 78 (9). P. 2255–2259.
- [16] Robert Brkljača and Sylvia Urban. HPLC-NMR and HPLC-MS Profiling and Bioassay-Guided Identification of Secondary Metabolites from the Australian Plant *Haemodorum spicatum*. *J. Nat. Prod.* 2015. 78 (7). P. 1486–1494.
- [17] Sileshi G. Wubshet, Schmidt J.S., Wiese S., Staerk D. High-Resolution Screening Combined with HPLC-HRMS-SPE-NMR for Identification of Potential Health-Promoting Constituents in Sea Aster and Searocket New Nordic Food Ingredients. *J. Agric. Food Chem.* 2013. 61. P. 8616–8623.