

Рекламный материал/Advertising material

Возможности низкочастотных спектрометров ЯМР в скрининге содержания лекарственных субстанций

Г. А. Калабин¹, В. Г. Васильев¹, В. А. Ивлев¹

¹ – ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (Российский университет дружбы народов, РУДН), 117198, Россия, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6

Possibilities of low-field NMR spectrometers in screening the content of medicinal substances

Gennadiy A. Kalabin¹, Vasily G. Vasil'ev¹, Vasily A. Ivlev¹

¹ – Peoples Friendship University of Russia (RUDN University), 6, Mikluho-Maklaya str., Moscow, 117198, Russia

АВРОРА
ТЕХНОЛОГИИ ИЗМЕРЕНИЙ

OXFORD
INSTRUMENTS

The Business of Science®

Предложено применение современных низкочастотных спектрометров ЯМР ¹H на рабочей частоте 60 МГц для контроля подлинности лекарственных средств. Проведена апробация фурье-спектрометра ЯМР Pulsar компании Oxford Instruments (Великобритания) в качестве инструмента для идентификации и количественного анализа ряда лекарственных средств (ЛС). Показано, что спектры ЯМР ¹H на рабочей частоте 60 МГц позволяют идентифицировать в ЛС лекарственные субстанции, а по выделенным обособленным индикаторным сигналам определять их количественное содержание без использования стандартных образцов. Для валидации и верификации разрабатываемых методик нестандартного скрининга рекомендовано использование тандема низкочастотной и высокопольной (более 300 МГц для ¹H) аппаратуры ЯМР.

Для защиты здоровья потребителей несомненна важность быстрого скрининга лекарственных средств (ЛС), поступающих в аптечную сеть и лечебные учреждения. Для доказательства подлинности и качества ЛС в фармакопейных статьях содержатся валидированные методики с применением стандартных образцов. В отличие от них скрининговые методы должны отвечать следующим требованиям: простота или отсутствие пробоподготовки, быстрая процедура измерения и идентификации интересующих компонентов (обычно лекарственных субстанций), оценка их содержания для оперативного принятия решения [1]. С позиций универсальности, информативности и фундаментальности такими возможностями среди известных методов анализа в наибольшей степени обладает единственный – количественная спектроскопия ядерного магнитного резонанса.

ПОДБОР ОБОРУДОВАНИЯ ДЛЯ СКРИНИНГА

В международной системе СИ спектроскопия ЯМР признана прямым методом определения мольной доли веществ в растворах. Сегодня это общеприня-

тый уникальный метод обнаружения, идентификации строения и определения содержания компонентов сложных смесей, какими являются ЛС. Он широко используется в фармакопеех развитых стран и входит в Государственную фармакопею РФ около 20 лет. Однако его применение в отечественной практике контроля ЛС по состоянию на 2019 год, помимо контроля подлинности стандартных образцов (СО), ограничивается всего двумя фармакопейными статьями, относящимися к анализу гепарина и углеводов вакцин. Такое отношение к методу ЯМР можно объяснить высокой стоимостью и жесткими условиями эксплуатации современных высокопольных исследовательских спектрометров ЯМР, которые требуют, в частности, бесперебойного снабжения их криожид-



ЯМР-спектрометр Pulsar компании Oxford Instruments (Великобритания)

В 2019 году Компания Oxford Inst. выпустила усовершенствованную модель ЯМР-спектрометра – X-Pulse

NMR spectrometer Pulsar from Oxford Instruments (UK)

In 2019, Oxford Inst. released an improved model of the NMR spectrometer - X-Pulse

костями (гелий, азот)¹. Немаловажен и человеческий фактор: из-за недостатков профессиональной подготовки отечественных специалистов-фармацевтов среди них распространены ошибочные представления о сложности регистрации и интерпретации ЯМР-спектров.

После появления в 1960-х первой генерации коммерческих спектрометров ЯМР с резонансными частотами для протонов 40–100 МГц на базе электромагнитов весом несколько тонн и без фурье-преобразования потребовалось около 50 лет для технического ренессанса в производстве нового поколения низкочастотного аналитического оборудования ЯМР. Сегодня предлагается несколько серийных моделей фурье-спектрометров с рабочей частотой для ядер ¹H 60 МГц, особенность которых – новые компактные и легкие постоянные магниты вместо электромагнитов. Преимущества таких приборов перед высокопольными системами с криомагнитами: отсутствие необходимости в криожидкостях, малые энергопотребление, размер и вес, предельная простота использования, совершенное программное обеспечение и, как следствие, сниженная на порядок и более стоимость. Однако уменьшение резонансной частоты влечет за собой неизбежные последствия: чувствительность уменьшается в несколько десятков раз, а спектры усложняются, поскольку мультиплетные сигналы отдельных протонов перекрываются значительно сильнее. Тем не менее широкие возможности, очевидную эффективность и перспективность нового поколения низкочастотного оборудования уже показали примеры их использования для решения учебно-образовательных, научно-прикладных и промышленных задач в химическом анализе [2–5], мониторинге реакций [6], оценке качества [7], хеометрике на основе корреляций «строение – свойства» и непрерывного контроля процессов в промышленности [8, 9]. В фармацевтической химии также появились единичные публикации, посвященные идентификации наиболее простых по составу лекарственных субстанций [10], выявлению фальсификаций синтетическими компонентами некоторых парафармацевтиков – ингибиторов ФДЭ-5 и средств снижения веса [11], выявлению природы и строения используемых в фармацевтике растительных масел [12]. Во всех случаях использовали методики быстрого скрининга со временами регистрации спектров ЯМР ¹H (зависит от концентрации аналита, характера задачи, уровня выявляемых примесей), не превышающими нескольких десятков минут.

Наша научная группа разрабатывает новую методологию фармакопейного анализа на основе сочетания методов спектроскопии ЯМР и масс-спектрометрии (см., например, [13] и ссылки в ней). С начала 2017 года проходит апробацию фурье-спектрометр ЯМР Pulsar компании Oxford Instruments (Великобри-

тания) с рабочей частотой 60 МГц для ¹H, обладающий среди приборов такого класса наиболее высокой чувствительностью (S/N > 200 для раствора 1 % этилбензола в хлороформе) и разрешением (лучше 0,5 Гц). Близкие характеристики имеет настольный ЯМР-спектрометр Spinsolve компании Magritek, характеристики которого подробно описаны в [14]. Спектрометр Pulsar укомплектован мультядерным датчиком ¹H, ¹⁹F, ¹³C, может работать в режиме двумерных гомо- и гетероядерных экспериментов, использует стандартные ампулы для ЯМР диаметром 5 мм, имеет пакет программного обеспечения Mnova NMR от Mestrelab. Проведена оценка его возможностей по идентификации и количественному анализу различных гипертонических ЛС, антибиотиков, олигопептидных препаратов, флавоногликозидов, исследованных ранее на высокопольном исследовательском оборудовании с рабочими частотами 400 и 600 МГц. В представленной работе в качестве объектов быстрого скрининга рассмотрено несколько популярных коммерческих антибиотиков.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Все анализируемые ЛС приобретены в аптечных сетях.

Левифлоксацин (I) – синтетический антибактериальный препарат широкого спектра действия из группы фторхинолонов, левовращающий изомер. Химическое название: (±)-9-фтор-2,3-дигидро-3-метил-10-(4-метил-1-пиперазинил)-7-оксо-7H-пиридо[1,2,3-de]1,4-бензоксазин-6-карбоновая кислота, гемигидрат. Брутто-формула: C₁₈H₂₀FN₃O₄, M = 361,4 г/моль. Структурная формула представлена на рисунке 1. Изучены таблетки дженерика «Таваник», (производитель Санофи Винтроп Индустрия, серия 4CF5C, годен до 31.03.19) с указанным содержанием лекарственной субстанции 500 мг на таблетку. Вспомогательные вещества: кросповидон, гипромеллоза, целлюлоза микрокристаллическая, натрия стеарилфумарат.

Тетрациклин (II) – бактериостатический антибиотик группы тетрациклинов. Химическое название: [4S-(4альфа,4а альфа,5а альфа,6бета,12а альфа)]-4-(диметиламино)-1,4,4а,5,5а,6,11,12а-октагидро-3,6,10,12,12а-пентагидрокси-6-метил-1,11-диоксо-2-нафтаценкарбоксамид (в виде гидрохлорида или тригидрата). Брутто-формула: C₂₂H₂₄N₂O₈, M = 444,35 г/моль. Структурная формула представлена на рисунке 2. Изучены таблетки дженерика «Тетрациклин» (производитель РУП «Белмедпрепараты», серия 030116, годен до 02.19), содержащие тетрациклин в количестве 100 мг на таблетку. Вспомогательные вещества: сахароза, краситель арбутин Е-122 и другие, указанные в спецификации.

Комбинация сульфаметоксазола (III) и триметоприма (IV) – бактерицидные препараты широкого спектра действия. Химические названия: 4-амино-N-(5-метилизоксазол-3-ил)-бензолсульфонамид и 5-(3,4,5-триметоксибензил)пиримидин-2,4-диамин соответственно. Брутто-формулы и молекулярные массы: C₁₀H₁₁N₃O₃S, M = 253 г/моль и C₁₄H₁₈N₄O₃, M = 290 г/моль соответ-

¹ Высокопольными принято называть спектрометры ЯМР, использующие в качестве источника магнитного поля сверхпроводящие магниты с криогенным охлаждением.

венно. Изучены таблетки препарата «Бисептол» (производитель «Польфа» (Польша), номер серии 41611062, годен до 01.07.2019), содержащие на одну таблетку специфицированное содержание 400 мг сульфаметоксазола и 80 мг триметоприма соответственно. Вспомогательные вещества: картофельный крахмал, тальк, магния стеарат, поливиниловый спирт, пропиленгликоль, метил-п-гидроксibenзоат, пропилен-п-гидроксibenзоат.

В работе использованы следующие растворители и стандарты: хлороформ- d_4 (99,8 %, Sigma-Aldrich), метанол- d_4 (99,9 %, Sigma-Aldrich), гексаметилдисилоксан (ГМДС) (99,8 %, Sigma-Aldrich), трифторуксусная кислота (ХЧ), диметилсульфон (ДМСО₂) (ХЧ).

Стандартная пробоподготовка: измельчение таблеток в ступке, отбор точной навески, рассчитанной на 30 мг лекарственной субстанции и 1 мл растворителя, растворение в выбранном растворителе, встряхивание, обработка в УЗ-бане, отделение нерастворимых веществ центрифугированием, перенесение надосадочной жидкости в ампулы для ЯМР, добавление точной навески калибровочного соединения (если в качестве него не используется сигнал точно измеренных остаточных протонов дейтерированного растворителя). Доказательство полноты экстракции лекарственной субстанции из ЛС всегда контролировали по отсутствию ее сигналов в спектре ЯМР 1H раствора переработанного осадка.

Для подтверждения отнесения сигналов в спектре ЯМР на 60 МГц и верификации количественных результатов использовали ЯМР-спектрометр JNM ECA 600 (Jeol, Япония), с рабочей частотой для ядер 1H 600 МГц.

Общие условия регистрации спектров ЯМР на 60 и 600 МГц: ширина фильтра 18 м.д. с установкой несущей частоты 7,0 м.д., импульс 90°, задержка между импульсами 30 с, 32 К точек на спектр, автоматическая настройка фазы и базовой линии. Спектры регистрировали при температуре 23 °С на частоте 600 МГц и 36 °С на частоте 60 МГц. Обработку спектров проводили с помощью программного обеспечения Mnova NMR (Mestrelab, Испания). Другие условия регистрации спектров для разных объектов могут определяться используемым растворителем, его концентрацией, выбором калибровочного сигнала для количественного определения интересующих соединений.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Левифлоксацин. Спектры ЯМР 1H левифлоксацина в ДМСО- d_6 [15] и D₂O [16] опубликованы ранее, хотя отнесение сигналов в обоих случаях содержало ошибки. Так, для группы COOH в ДМСО- d_6 указано положение сигнала в области 4,5–5,0 м.д., что не соответствует реальному спектру (15,03 м.д.). Обнаружено, что в качестве растворителя для левифлоксацина лучше подходит CDCl₃, в растворе которого разрешаются все сигналы 1H на 600 МГц и их большинство на 60 МГц. Использовали CDCl₃ с точно измеренным содержанием остаточных протонов 0,2 %, т. е. 0,125 моль/мл.

Спектр ЯМР 1H ЛС «Таваник» на частоте 600 МГц (рисунок 1а) содержит следующие сигналы (CDCl₃, δ , м.д., J/Гц): 1,58 (3H, д, J = 7,0 Гц, C₃H–CH₃); 2,34 (3H, с, N–CH₃); 2,46–2,58 (4H, м, H-13', H-14'); 3,30–3,44 (4H, м, H-11', H-12'); 4,34 (1H, д, J = 11,1 Гц, H-2); 4,43 (1H, д, J = 11,1 Гц, H-2); 4,52–4,59 (1H, м, 3-H); 7,63 (1H, д, J = 12,3 Гц, H-8); 8,62 (1H, с, H-5); 15,03 (1H, уш.с., COOH).

Спектр полностью соответствует структурной формуле субстанции, сигналов вспомогательных веществ не содержит. Расчет содержания субстанции выполнен по соотношению интегральных интенсивностей ее сигналов и протонов остаточных молекул CHCl₃ в растворителе по уравнению, рекомендованному в Государственной фармакопее РФ XIII издания (ОФС.1.2.1.1.0007.15) и учитывающему массы компонентов (m), их молярные массы (M), интенсивность отдельных сигналов, нормированных по числу эквивалентных протонов (I):

$$m(C) = [m(CHCl_3)/M(CHCl_3)] \times [I(C)/I(CHCl_3)] \times M(C).$$

Средний результат трех независимых измерений содержания субстанции в таблетках – 497,7 ± 2,9 мг на таблетку. Для левифлоксацина в качестве индикаторных использованы сигналы протонов у C₅ и C₈ при 8,62 м.д. и 7,63 м.д. соответственно. Для количественного определения субстанции при 600 МГц также удобно использовать сигнал метильной группы C–CH₃, имеющий химический сдвиг 1,58 м.д.

Спектр ЯМР 1H на частоте 60 МГц (рисунок 1, б) содержит те же группы пиков и с теми же химическими сдвигами, однако некоторые (протоны у C₂ и C₃ в области около 4,5 м.д. и группы CH₂ и CH₃ в области около 2,5 м.д.) перекрываются из-за возросшего влияния спин-спинового взаимодействия на вид спектра. Наиболее очевидно это проявляется для сигналов протонов у C₈, являющегося дублетом с константой J = 12,3 Гц за счет вицинального взаимодействия с ядром ^{19}F , и C–CH₃ группы. Над каждым пиком в спектре ЯМР 1H на частоте 60 МГц указано число протонов, ответственных за него. Число и положение пиков в спектре на частоте 60 МГц, как и стехиометрическое соответствие их интенсивностей строению молекулы обеспечивают однозначную идентификацию левифлоксацина.

Количественное определение содержания субстанции в таблетке по спектру 60 МГц сделано путем усреднения трех независимых измерений с использованием в каждом случае трех отдельных сигналов протонов у C₅ и C₈ и C–CH₃-группы. Результаты: (484,8 ± 5,0), (485,3 ± 5,0) и (486,5 ± 5,0) мг на таблетку соответственно, т.е. отклонение не более 3 % от заявленного производителем.

Тетрациклин. ЯМР-спектр на 600 МГц ЛС в растворителе CD₃OD (рисунок 2, а) содержит следующие сигналы (δ , м.д., J/Гц): 1,62 (с, 3H, –CH₃); 1,93 (дд, 1H, H-5); 2,10 (ддд, 1H, H-5'); 2,66 (ддд, 1H, H-4a); 2,72 (с, 6H, N(CH₃)₂); 2,97 (дд, 1H, H-5a); 3,44–3,52 (уш. сигнал, 1H, H-4); 6,90 (д, 1H, J = 8,2; H-9); 7,14 (д, 1H, J = 7,7; H-7); 7,49 (т, 1H, J = 8,1; H-8). Его характеристики полностью совпадают с известными данными [17]. Помимо сигнала

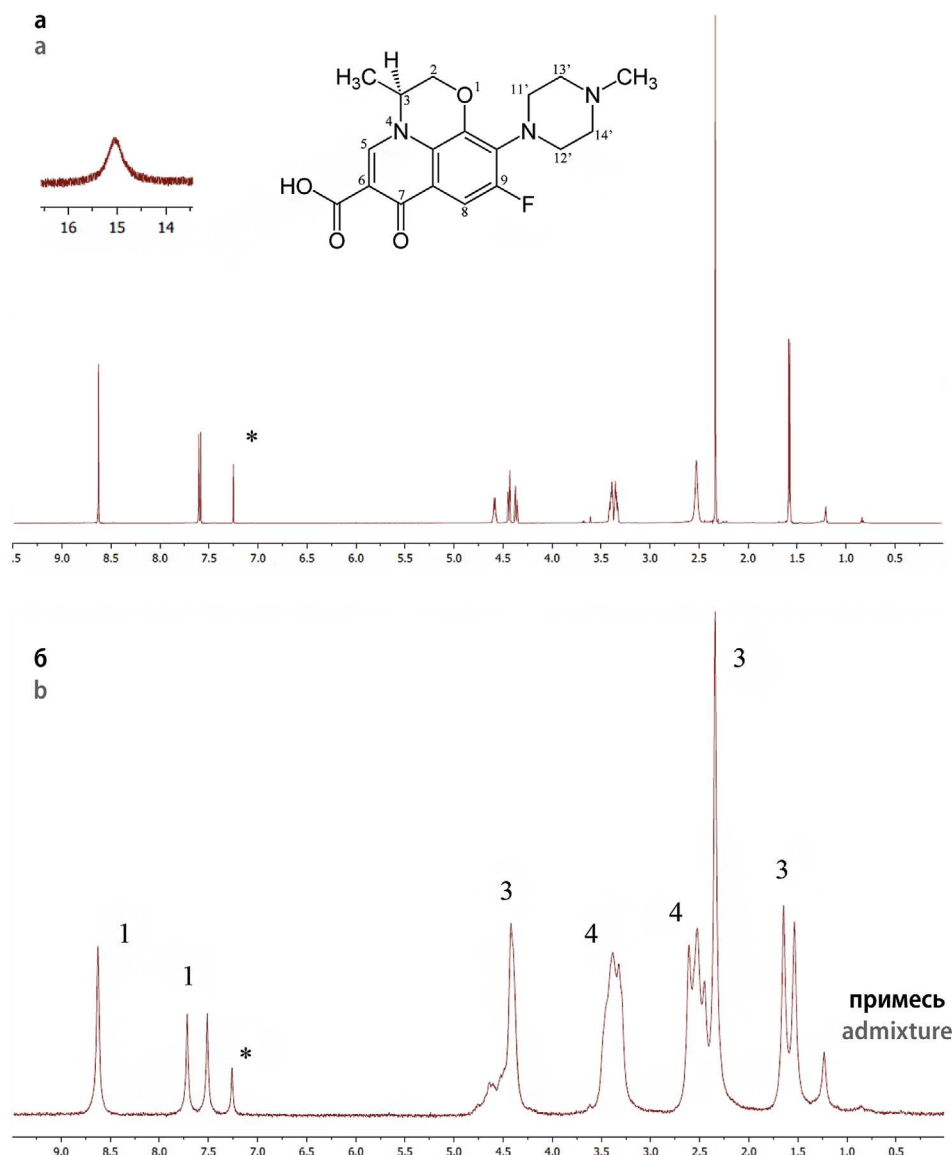


Рисунок 1. Спектр ЯМР ¹Н ЛС «Таваник» в CDCl₃:

а – на частоте 600 МГц (отдельно показан сигнал протона карбоксильной группы); **б** – на частоте 60 МГц; * – сигнал калибровочного соединения CHCl₃

Figure 1. ¹H NMR spectrum of drug "Tavanic" in CDCl₃:

а – at a frequency of 600 MHz (the signal of the proton of the carboxyl group is shown separately); **б** – at a frequency of 60 MHz; * – signal of the calibration compound CHCl₃

лов субстанции спектр ЯМР ¹Н содержит ряд минорных пиков вспомогательных веществ в областях от 0,8 до 5,4 м.д. Для их устранения регистрацию спектра на 60 МГц выполнили также для экстракта из ЛС растворителем ДМСО-*d*₆, в котором положение сигналов протонов незначительно изменилось, но появились сигналы отсутствующих в растворителе CD₃OD протонов ОН-групп, дополнительно подтверждающие формулу и согласующиеся с литературными данными [18].

Спектр в CD₃OD на 60 МГц выглядит существенно сложнее из-за перекрывания мультиплетов отдельных протонов, за исключением сигнала группы C₆–CH₃. Подтверждение строения субстанции в серии

проб удобно выполнять путем сравнения профилей их спектров и уже подтвержденного (см. рисунок 2, б) образца. Этот прием аналогичен широко используемому в Фармакопеях различных стран для ИК-спектров. Т. е. представленный на рисунке 2, б спектр в CD₃OD может быть рекомендован как вторичный стандарт при идентификации других препаратов тетрациклина.

Количественное определение содержания субстанции в растворе в CD₃OD выполнено путем сравнения интенсивности сигнала добавленной навески гексаметилдисилоксана с суммарной интегральной интенсивностью трех ароматических протонов H₇, H₈ и H₉ в области 6,5–7,7 м.д. При измерении на 600 МГц

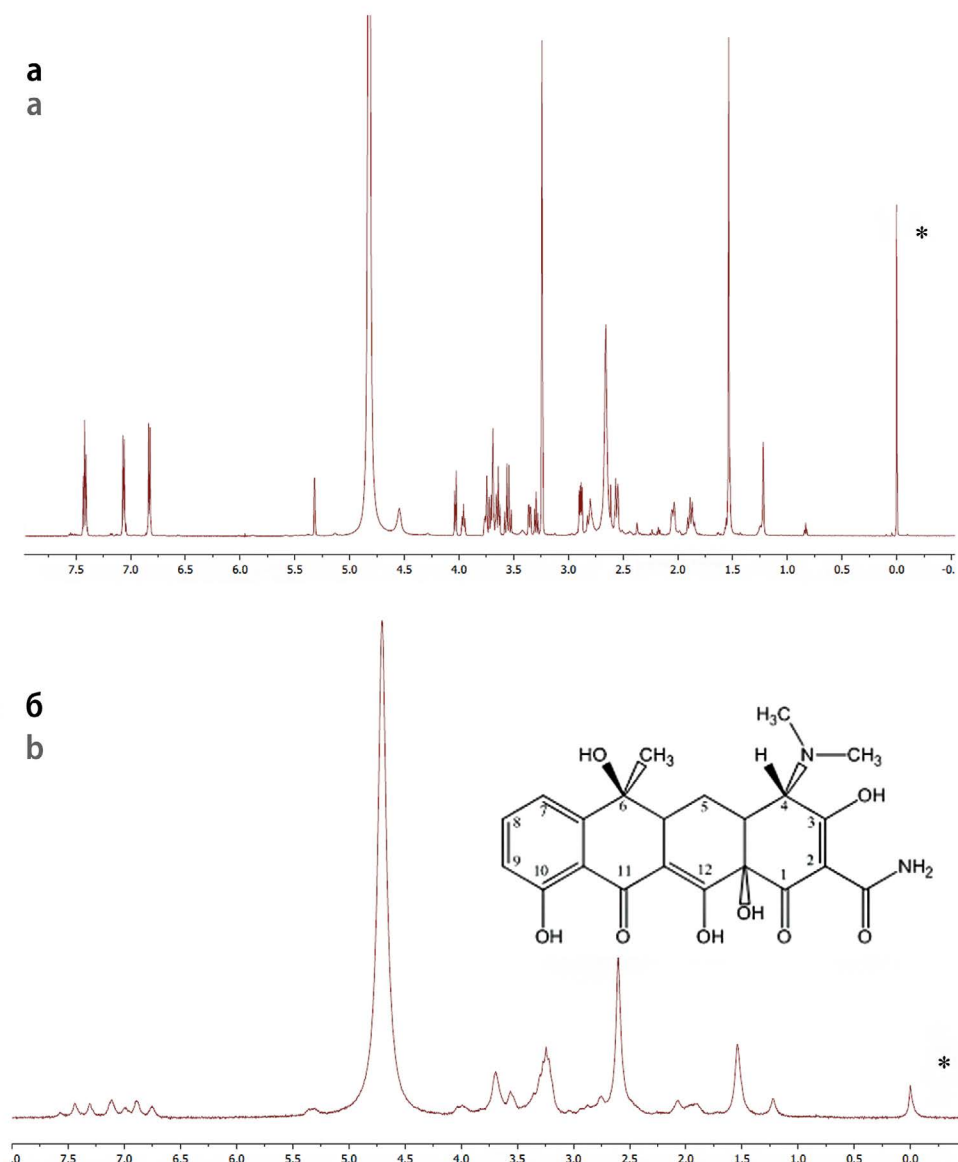


Рисунок 2. Спектры ЯМР ^1H ЛС «Тетрациклин» в CD_3OD :

a – на частоте 600 МГц; **б** – на частоте 60 МГц; * – сигнал калибровочного соединения $(\text{CH}_3)_3\text{SiOSi}(\text{CH}_3)_3$

Figure 2. ^1H NMR spectra of medicines Tetracycline in CD_3OD :

a – at a frequency of 600 MHz; **b** – at a frequency of 60 MHz; * – signal of calibration connection $(\text{CH}_3)_3\text{SiOSi}(\text{CH}_3)_3$

содержание субстанции рассчитано ($101,4 \pm 1,6$) мг на таблетку, а для 60 МГц – ($96,8 \pm 3,5$) мг на таблетку, что соответствует декларированному значению. В обоих случаях результаты являются усредненными значениями для трех независимых образцов.

Композиция сульфаметоксазол – триметоприм.

Выполнен скрининг подлинности таблеток комбинированного антимикробного препарата «Бисептол», содержащего на одну таблетку (~660 мг) специфицированное содержание 400 мг сульфаметоксазола (III) и 80 мг триметоприма (IV).

Интерпретация спектра ЯМР ^1H раствора ЛС «Бисептол» в $\text{DMSO}-d_6$ на частоте 600 МГц и вопрос количественного определения компонент обсуждались нами ранее [13].

Содержание лекарственных субстанций по спектру на 600 МГц в $\text{DMSO}-d_6$ легко определять сравнением интегральных интенсивностей сигнала трех протонов CH_3 -группы III при 2,27 м.д. и шести протонов двух эквивалентных групп IV при 3,72 м.д. с сигналом остаточных протонов молекул растворителя $\text{DMSO}-d_5$ (2,50 м.д.) по приведенной выше формуле. В частности, в навеске массой 52,6 мг (масса таблетки «Бисептол» 666,4 мг) обнаружено сульфаметоксазола 32,2 мг и триметоприма 6,3 мг, что при пересчете на целую таблетку составило содержание сульфаметоксазола и триметоприма ($408,7 \pm 4,1$) и ($79,9 \pm 0,8$) мг соответственно, что согласуется с указанными производителем значениями. Полученные результаты для двух других навесок отличались от представленной не более чем на 2 %.

В спектре ЯМР ^1H на частоте 60 МГц в растворе ДМСО- d_6 разрешение некоторых сигналов оказалось существенно хуже из-за близости отдельных групп и мультиплетности, а использование сигнала остаточных протонов молекул ДМСО- d_6 для количественного определения субстанций в ЛС оказалось невозможным из-за его перекрывания с сигналом протонов CH_3 -группы III при 2,27 м.д. Поэтому выполнена регистрация спектра раствора ЛС в трифторуксусной кислоте с добавкой $(\text{CH}_3)_2\text{SO}_2$ (3,0 м.д.) в качестве калибровочного пика, с сигналом которого сравнивали нормированные интегральные интенсивности трех протонов CH_3 -группы III при 2,27 м.д. и совокупности одиннадцати протонов IV в области 3,5–4,0 м.д. (рисунок 3). Расчет – $(401,2 \pm 8,0)$ мг на таблетку III и $(77,6 \pm 2,0)$ мг на таблетку IV – хорошо согласуется

как с результатом для 600 МГц, так и с заявленными значениями.

Обобщенные результаты количественного определения содержания рассмотренных лекарственных субстанций в ЛС представлены в таблице 1.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представлено три примера быстрого скрининга ЛС с использованием спектроскопии ЯМР ^1H на рабочей частоте 60 МГц для идентификации и определения содержания лекарственных субстанций. В первом (левофлоксацин) характер спектра позволяет полностью его интерпретировать и количественно измерить содержание лекарственных субстанций. Во втором (тетрациклин) усложненная спектральная картина требует для однозначной идентификации стро-

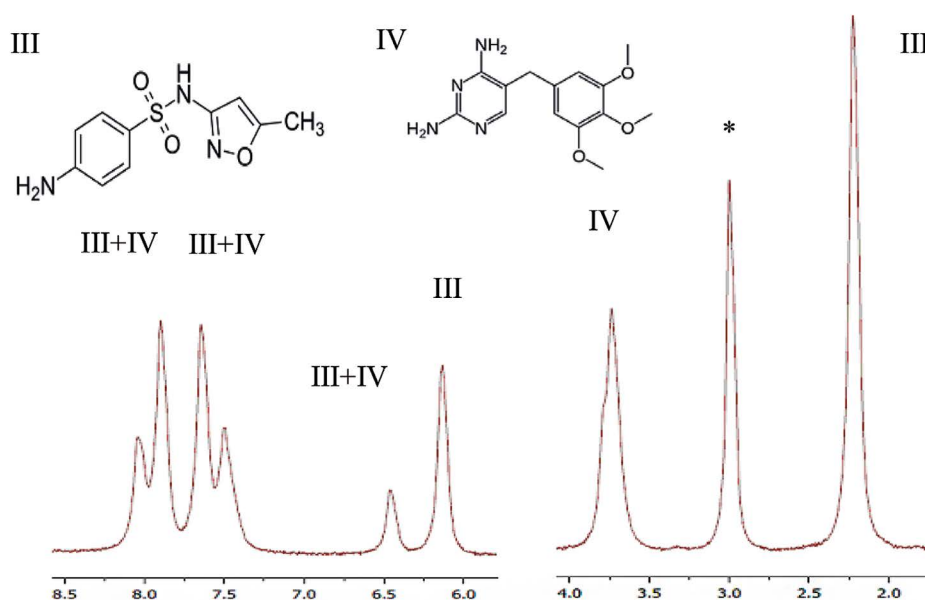


Рисунок 3. Спектр ЯМР ^1H препарата «Бисептол» на частоте 60 МГц в трифторуксусной кислоте.

* – сигнал $(\text{CH}_3)_2\text{SO}_2$

Figure 3. ^1H NMR spectrum of the drug "Biseptol" at a frequency of 60 MHz in trifluoroacetic acid.

* – signal $(\text{CH}_3)_2\text{SO}_2$

Таблица 1. Результаты определения содержания лекарственных субстанций в ЛС

Table 1. Results of determining the content of medicinal substances in drugs

№	Название ЛС Drug name	Лекарственная субстанция Medicinal substance	Содержание, мг на таблетку Content, mg per tablet		
			Заявленное производителем Declared by the manufacturer	Измерено на спектрометре 600 МГц Measured on a 600 MHz spectrometer	Измерено на спектрометре 60 МГц Measured on a 60 MHz spectrometer
I	Таваник Tavanik	Левифлоксацин Levofloxacin	500	$497,7 \pm 2,9$	$485,3 \pm 5,0$
II	Тетрациклин Tetracycline	Тетрациклин Tetracycline	100	$101,4 \pm 1,0$	$96,8 \pm 1,5$
III	Бисептол Biseptol	Сульфаметоксазол Sulfamethoxazole	400	$408,7 \pm 4,1$	$401,2 \pm 8,0$
IV	Бисептол Biseptol	Триметоприм Trimethoprim	80	$79,9 \pm 0,8$	$77,6 \pm 2,0$

ения предварительного анализа спектра ^1H на более высоких частотах, а спектр на 60 МГц используется в формате «отпечатка пальцев» с количественным определением субстанции путем сравнения интенсивностей совокупности выделенных индикаторных и калибровочного сигналов. Для отдельных ЛС, содержащих композицию лекарственных субстанций (сульфаметоксазол + триметоприм), усложнение количественной интерпретации спектра на 60 МГц может быть преодолено сменой растворителя и калибратора.

Представленные результаты демонстрируют возможности спектрометра ЯМР ^1H 60 МГц для быстрой идентификации и измерения в ЛС содержания лекарственных субстанций без применения стандартных образцов. По экономичности, скорости и информативности методики на основе спектров ЯМР на рабочей частоте 60 МГц могут заметно превосходить применяемые ныне хроматографические и оптические. Приготовление трех независимых проб, регистрация их спектров и расчет результатов без использования стандартных образцов занимает менее часа.

ЛИТЕРАТУРА

1. Varcarel M., Caerdenas S., Gallego M. Sample screening systems in analytical chemistry. *Trends in Anal. Chem.* 1999;18(11):685–694.
2. Danieli E., Mauler J., Perlo J., Blumich B., Casanova F. Mobile sensor for high resolution NMR spectroscopy and imaging. *J. Mag. Res.* 2009;198(1):80–87.
3. Danieli E., Perlo J., Blumich B., Casanova F. Small magnets for portable NMR spectrometers. *Angewandte Chemie.* 2010;49(24):4133–4135.
4. Jacobsen N. E. NMR Spectroscopy Explained: Simplified Theory, Applications and Examples for Organic Chemistry and Structural Biology. New Jersey: John Wiley & Sons; 2007.
5. Friebolin H. Basic One – and Two-Dimensional NMR Spectroscopy. 5th edition. Weinheim: Wiley-VCH; 2011.
6. Berger S., Braun S. 200 and more NMR Experiments A Practical Course. Weinheim: Wiley-VCH; 2004.
7. Dalitz F., Cudaj M., Maiwald M., Guthausen G. Process and reaction monitoring by low-field NMR spectroscopy. *Prog. Nuc. Mag. Res. Spec.* 2012;60:52–70.
8. Edwards J. C., Giammatteo P. J. Progress NMR Spectroscopy: Technology and On-line Applications. Chapter 10 in Process Analytical Technology: Spectroscopic tools and Implementation Strategies for the Chemical and Pharmaceutical Industries, 2nd ed. Hoboken: Blackwell-Wiley; 2010.
9. Edwards J. C., A Review of Applications of NMR Spectroscopy in Petroleum Chemistry. Chapter 16 in Monograph 9 on Spectroscopic Analysis of Petroleum Products and Lubricants. West Conshohocken: ASTM Books; 2011.
10. Gonilleux B., Cherrie B. Ultrafast 2D NMR on a benchtop spectrometer: Application and perspectives. *Trends in Anal. Chem.* 2016;83:65–75.
11. Pages G., Gerdova A., Williamson D., Gilard V., Martino R., Malet-Martino M. Evaluation of a Benchtop Cryogen-Free Low-Field ^1H NMR Spectrometer for the analysis of sexual enhancement and weight loss dietary supplements adulterated with pharmaceutical substances. *Anal. Chem.* 2014;86:11897–11904.
12. Parker T., Limer E., Watson A. D., Defernez M., Williamson D., Kamsley E. K. 60 MHz ^1H NMR Spectroscopy for the analysis of edible oils. *Trends in Anal. Chem.* 2014;57:147–158.
13. Калабин Г., Васильев В., Чернецова Е., Прокопьев А., Абрамович Р., Ивлев В., Митео И. Экспертиза качества лекарственных средств без стандартных образцов. *Аналитика.* 2017;2(33):106–112.
14. Кудякова В., Чазов А. Полноценный ЯМР-анализ на лабораторном столе: ЯМР-спектрометры Spinsolve компании Magritek. *Аналитика.* 2017;2(33):80–83.
15. Salem A. A., Mossa H. A., Barsoum B. N. Quantitative determination of levofloxacin and rifampicin in pharmaceutical and urine samples using nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Spectrochimica Acta Part A.* 2005;62:466–472.
16. Salem A. A., Mossa H. A. Method validation and determinations of levofloxacin, metronidazole and sulfamethoxazole in an aqueous pharmaceutical, urine and blood plasma samples using quantitative nuclear magnetic resonance spectrometry. *Talanta.* 2012;88:104–114.
17. Othersen O. G., Waibel R., Lanig H., Gmeiner P., Clark T. SCRF-DFT and NMR Comparison of Tetracycline and 5a,6-Anhydrotetracycline in Solution. *J. Phys. Chem. B.* 2006;110:24766–24774.
18. Casy A. F., Yasin A. Stereochemical studies of tetracycline antibiotics and their common impurities by 400 MHz ^1H NMR spectroscopy. *Mag. Res. in Chem.* 1985;23(9):767–770.

REFERENCES

1. Varcarel M., Caerdenas S., Gallego M. Sample screening systems in analytical chemistry. *Trends in Anal. Chem.* 1999;18(11):685–694.
2. Danieli E., Mauler J., Perlo J., Blumich B., Casanova F. Mobile sensor for high resolution NMR spectroscopy and imaging. *J. Mag. Res.* 2009;198(1):80–87.
3. Danieli E., Perlo J., Blumich B., Casanova F. Small magnets for portable NMR spectrometers. *Angewandte Chemie.* 2010;49(24):4133–4135.
4. Jacobsen N. E. NMR Spectroscopy Explained: Simplified Theory, Applications and Examples for Organic Chemistry and Structural Biology. New Jersey: John Wiley & Sons; 2007.
5. Friebolin H. Basic One – and Two-Dimensional NMR Spectroscopy. 5th edition. Weinheim: Wiley-VCH; 2011.
6. Berger S., Braun S. 200 and more NMR Experiments A Practical Course. Weinheim: Wiley-VCH; 2004.
7. Dalitz F., Cudaj M., Maiwald M., Guthausen G. Process and reaction monitoring by low-field NMR spectroscopy. *Prog. Nuc. Mag. Res. Spec.* 2012;60:52–70.
8. Edwards J. C., Giammatteo P. J. Progress NMR Spectroscopy: Technology and On-line Applications. Chapter 10 in Process Analytical Technology: Spectroscopic tools and Implementation Strategies for the Chemical and Pharmaceutical Industries, 2nd ed. Hoboken: Blackwell-Wiley; 2010.
9. Edwards J. C., A Review of Applications of NMR Spectroscopy in Petroleum Chemistry. Chapter 16 in Monograph 9 on Spectroscopic Analysis of Petroleum Products and Lubricants. West Conshohocken: ASTM Books; 2011.
10. Gonilleux B., Cherrie B. Ultrafast 2D NMR on a benchtop spectrometer: Application and perspectives. *Trends in Anal. Chem.* 2016;83:65–75.
11. Pages G., Gerdova A., Williamson D., Gilard V., Martino R., Malet-Martino M. Evaluation of a Benchtop Cryogen-Free Low-Field ^1H NMR Spectrometer for the analysis of sexual enhancement and weight loss dietary supplements adulterated with pharmaceutical substances. *Anal. Chem.* 2014;86:11897–11904.
12. Parker T., Limer E., Watson A. D., Defernez M., Williamson D., Kamsley E. K. 60 MHz ^1H NMR Spectroscopy for the analysis of edible oils. *Trends in Anal. Chem.* 2014;57:147–158.
13. Kalabin G., Vasil'ev V., Chernetsova E., Prokop'ev A., Abramovich R., Ivlev V., Miteo I. *Ekspertiza kachestva lekarstvennykh sredstv bez standartnykh obraztsov* [Examination of the quality of medicines without standard samples]. *Analitika = Analytics.* 2017;2(33):106–112. (In Russ.).
14. Kudyakova V., Chazov A. *Polnotsennyy YaMR-analiz na laboratornom stole: YaMR-spektrometry Spinsolve kompanii Magritek* [Complete NMR Analysis on the Bench: Magritek Spinsolve NMR Spectrometers]. *Analitika = Analytics.* 2017;2(33):80–83. (In Russ.).
15. Salem A. A., Mossa H. A., Barsoum B. N. Quantitative determination of levofloxacin and rifampicin in pharmaceutical and urine samples using nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Spectrochimica Acta Part A.* 2005;62:466–472.
16. Salem A. A., Mossa H. A. Method validation and determinations of levofloxacin, metronidazole and sulfamethoxazole in an aqueous pharmaceutical, urine and blood plasma samples using quantitative nuclear magnetic resonance spectrometry. *Talanta.* 2012;88:104–114.
17. Othersen O. G., Waibel R., Lanig H., Gmeiner P., Clark T. SCRF-DFT and NMR Comparison of Tetracycline and 5a,6-Anhydrotetracycline in Solution. *J. Phys. Chem. B.* 2006;110:24766–24774.
18. Casy A. F., Yasin A. Stereochemical studies of tetracycline antibiotics and their common impurities by 400 MHz ^1H NMR spectroscopy. *Mag. Res. in Chem.* 1985;23(9):767–770.