

УДК 615.072:615.074

DOI: 10.18413/2313-8955-2016-2-4-84-88

Новиков О.О.  
Писарев Д.И.  
Жилиякова Е.Т.  
Малютина А.Ю.  
Новикова М.Ю.  
Васильев Г.В.

**К ВОПРОСУ РАСШИРЕНИЯ ВОЗМОЖНОСТЕЙ  
АНАЛИТИЧЕСКОГО ОБОРУДОВАНИЯ**

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», ул. Победы, д. 85, г. Белгород, 308015, Россия  
E-mail: novikov@bsu.edu.ru

**Аннотация**

Только использование эффективной материально-технической аналитической базы позволяет обеспечить надлежащий уровень качества лекарственных средств, биологически активных соединений и, как результат, их эффективность и безопасность. Это определяет необходимость систематического совершенствования существующих методов фармацевтического анализа. В этой связи актуальной является проблема дефицита инструментальной базы, сложившаяся в нашей стране в постсоветский период, что препятствует обеспечению системы контроля качества лекарственных средств на уровне, отвечающем международным правилам надлежащей лабораторной практики (GMP). Данное обстоятельство определяет необходимость внедрения новых и модифицированных методов анализа. Одним из путей решения данной проблемы является использование современных масс-спектрометрических методов. Наряду с такими методами анализа как ОФ ВЭЖХ, ТСХ, УФ-, ИК-спектроскопия в статье подчеркивается перспективность использования в анализе лекарственных препаратов и лекарственного растительного сырья метода MALDI/TOF/MS и капиллярного электрофореза.

**Ключевые слова:** масс-спектрометрические методы анализа; MALDI/TOF/MS; капиллярный электрофорез.

Novikov O.O.  
Pisarev D.I.  
Zhilyakova E.T.  
Malyutina A.Yu.  
Novikova M.Yu.  
Vasilyev G.V.

**THE PROBLEM OF EMPOWERING THE ANALYTICAL EQUIPMENT**

Belgorod State National Research University, 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia. E-mail: novikov@bsu.edu.ru

**Abstract**

Only the use of an effective logistical analytical framework allows for an adequate level of quality of medicines, biologically active compounds and, as a result, their effectiveness and safety. It determines the need for systematic improvement of existing methods of pharmaceutical analysis. In this regard, urgent is the problem of instrumentation deficit prevailing in our country in the post-Soviet period, which prevents the quality control of medicinal products at a level corresponding to international Good Manufacturing Practices (GMP). This fact determines the need for new and modified methods of analysis. One solution to this problem is the use of modern mass spectrometric methods. Along with such methods of analysis as the RP HPLC, TLC, UV, IR spectroscopy in the article emphasizes the prospects of use in the analysis of drugs and medicinal plant raw materials by MALDI/TOF/MS and capillary electrophoresis.

**Keywords:** mass-spectrometric analysis methods; MALDI/TOF/MS; capillary electrophoresis.

## Введение

Конкуренция в области качества лабораторных исследований связана, с одной стороны, с получением, а с другой стороны – с предоставлением информации о том, что требования, предъявляемые к продукции, выполнены в полном объеме, и продукция соответствует зафиксированным нормам. Источником гарантии соответствия продукции предъявляемым требованиям является информация о результатах лабораторных испытаний, которые должны быть достоверными.

Для обеспечения достоверности результатов лабораторных испытаний необходимо решить следующие проблемы современных лабораторий:

- соответствие результатов испытаний нормам и требованиям;
- участие в выполнении испытаний соответствующего квалифицированного персонала;
- использование при проведении испытаний адекватного аналитического оборудования;
- соблюдение требований к качеству самих испытаний [1].

Высокий уровень качества лекарственных препаратов, биологически активных веществ и, как следствие, их безопасность и эффективность можно обеспечить только посредством использования эффективной материально-технической аналитической базы. Это обуславливает необходимость постоянного совершенствования уже существующих и разработки новых методов фармацевтического анализа.

Таким образом, в нашей стране по-прежнему актуальной остается сложившаяся еще в постсоветский период проблема дефицита инструментальной базы, что препятствует обеспечению контроля качества лекарственных средств на уровне, отвечающем требованиям GMP. Отсюда возникает необходимость внедрения новых и модификации уже существующих методов анализа. Одним из путей решения настоящей проблемы мы видим использование современных масс-спектрометрических методов.

## Основная часть

Анализ литературы свидетельствует о многообразии условий хроматографического разделения веществ в сочетании с селективными и неселективными детектирующими системами. В совокупности с разнообразием способов ввода проб это обуславливает возможность проведения анализа простых и сложных смесей различного происхождения в широком диапазоне молекулярных масс и различного агрегатного

состояния. Значимость хроматографических методов для фармацевтического анализа подчеркивают 14 Нобелевских премий, присвоенных за разработку вариаций методов и проведенные с их применением исследования в области физиологии, химии и медицины. Сегодня развитие гибридных методов идет в направлении миниатюризации разделительной системы, приближения к конкретным объектам, а также совершенствования аппаратного оформления. По результатам «PITCON 2004» - крупнейшей конференции по аналитической химии – в тройку лидеров устойчивых научных направлений вошел метод жидкостной хроматографии, в том числе с масс-спектрометрическим селективным детектором, и природная среда как объект анализа [9].

**Цель работы:** рассмотреть возможности современной материально-технической аналитической базы для обеспечения надлежащего уровня качества лекарственных средств и биологически активных соединений.

## Материалы и методы исследования

Исследование проводили посредством контент-анализа литературных данных с элементами структурного анализа. Объектом служили данные о современном аналитическом оборудовании и возможностях его использования в анализе лекарственных средств и биологически активных соединений.

## Результаты исследования и их обсуждение

С 80-х годов XX века в связи с открытием мягких десорбционных способов ионизации было создано значительное количество масс-спектрометрических методов анализа. Однако, из всего многообразия методов, лишь некоторые способны реально обеспечить возможность эффективного анализа биологически-активных соединений. К ним относятся химическая ионизация при атмосферном давлении, электроспрейная ионизация, ионизация электронным ударом и матрично-активированная лазерная десорбционная ионизация. Однако первые три метода используются как удобные детекторы в хроматографии, поэтому имеют исключительно подчиненный характер и самостоятельного применения не приобрели [5].

Среди наиболее интенсивно развивающихся в последние годы аналитических методов важное место принадлежит газовой хроматографии [7]. Она типичный гибридный метод. Здесь слиты воедино способ разделения (хроматографическая колонка) и способ неселективного определения разделенных компонентов (детектор). Это объединение – не просто последовательное использование двух приемов. Появляется новое

качество; методы разделения и определения образуют не «механическую смесь», а новое «химическое соединение» [3].

Масс-спектрометрический селективный детектор существенно расширяет возможности метода. В этом случае получается еще более сложный гибрид: система газовый хроматограф – масс-спектрометр. Эта комбинация получила широкое распространение за рубежом, причем в качестве третьего элемента устройства выступает ЭВМ. Такое сочетание обеспечивает экспрессность определений, низкий предел обнаружения. Эта комбинация выбрана, например, в США для оснащения государственных лабораторий контроля качества природных вод. Другая система из тех же компонентов используется для идентификации лекарственных веществ и их метаболитов, содержащихся в организме человека, например в крови. Установка позволяет быстро идентифицировать более 400 ксенобиотиков, их метаболитов, естественных веществ, содержащихся в организме, и различных примесей.

Распространены и другие гибридные методы. Нельзя не назвать экстракционно-фотометрическое определение элементов и соединений – фотометрирование окрашенного соединения, экстрагированного из водной фазы или образованного в экстракте путем добавления какого-либо реагента после экстракции.

Отдельно следует отметить капиллярный электрофорез – физический метод анализа, который обеспечивает очень высокую эффективность разделения, сравнимую с высокоэффективной жидкостной хроматографией. Поэтому метод нашел широкое применение как для выявления близких по строению веществ (белков, пептидов, аминокислот, витаминов, наркотических веществ, красителей, ионов металлов, анионов), так и для контроля качества, технологического контроля и идентификации лекарственных препаратов и пищевых продуктов [4, 10].

Общие принципы и виды капиллярного электрофореза подробно описаны в ряде зарубежных фармакопей (европейской, британской, американской). Он является одним из основных инструментальных способов анализа таких фармацевтических соединений, как апротинин, галантантин, левокабастин, соматропин, ропивакаин, эритропоэтин, иммуноглобулин и его фрагменты, а также многие другие. Системы капиллярного электрофореза весьма востребованы в работе фармацевтических аналитических лабораторий.

Следует отметить, что, к сожалению, многие из перечисленных методов анализа не получили достаточного распространения в практике отечественных фармацевтических лабораторий. А их обоснованные сочетание и выбор еще большая редкость. Кроме того, они далеко не всегда представлены в аннотированных методиках.

Сегодня одной из реальных экономических и национальных проблем Российской Федерации можно считать недостаток оригинальных отечественных лекарственных препаратов. Лекарственная безопасность страны напрямую зависит от поставок импортных субстанций, что является недопустимым. Кроме того, негативное влияние на российскую фармацевтическую отрасль оказывают такие факторы как технологическое отставание от зарубежных производителей и существенные различия в номенклатуре производимой продукции. Самым слабым сегментом с наиболее выраженными масштабами отставания являются новейшие лекарственные препараты, трудоемкое производство которых сопряжено с использованием сложных технологий и оборудования. В последние годы государство демонстрирует высокую заинтересованность в отношении перспективных рынков. Вне всяких сомнений, фармацевтический рынок входит в их число. Национальная программа «Стратегия Фарма 2020» служит ярким примером государственной заинтересованности в этом вопросе.

Таким образом, в связи с переходом на инновационную модель обеспечение надлежащего контроля качества лекарственных средств становится одной из приоритетных задач действующей государственной программы развития фармацевтической промышленности Российской Федерации.

Идея расширения возможностей гибридных методов анализа для данной отрасли знаний бесконечна в своей реализации. Только использование эффективной современной материально-технической аналитической базы позволит обеспечить надлежащий уровень контроля качества биологически активных соединений и лекарственных препаратов и, как следствие, их безопасность и эффективность.

В основу данной идеи легли ранее реализованные идеи и проведенные исследования, которые можно выразить в нижеследующем.

Впервые посредством комплекса традиционных методов анализа – ОФ ВЭЖХ, ТСХ, УФ-, ИК-спектроскопии, – химических реакций, а также MALDI/TOF/MS нами

идентифицированы субстанции лоратадина, карнозина и *транс*-резвератрола. Было показано, что использование метода MALDI/TOF/MS имеет существенные преимущества на фоне традиционных методов анализа, в первую очередь – высокую чувствительность и экспрессность.

Использование метода активированной матрицей лазерной десорбции ионизации с времяпролетным анализатором масс (MALDI/TOF/MS) позволяло исключить этап предварительного разделения комплекса соединений, подвергаемых анализу. Это позволило нам разработать новый способ идентификации комплексов растительных полифенолов [6, 7].

Также впервые с использованием метода MALDI/TOF/MS охарактеризован состав фенольных соединений следующих растительных объектов: *Glechoma hederacea* L., *Agrimonia eupatoria* L., *Trifolium pratense* L., *Lophantus anisatus* Benth., *Juniperus oblonga* Bieb., *Rosa spinosissima* L., *Sorbus aucuparia* L., *Amelanchier alnifolia* Nutt., *Padus avium* Mill., *Ribes nigrum* L., *Vitis vinifera* L. Правильность полученных результатов подтверждена методом ОФ ВЭЖХ. Проведена количественная оценка биологически активных соединений *G. hederacea* L., *A. eupatoria* L., *T. pratense* L., *L. anisatus* Benth. методом абсолютной градуировки по доминирующим компонентам в условиях ОФ ВЭЖХ [6].

С помощью метода MALDI/TOF/MS установлен состав триацилглицеридов жирных масел энотеры двулетней, ореха грецкого. Правильность полученных результатов подтверждена методом газожидкостной хроматографии [7].

В результате проведенных исследований подтверждена целесообразность использования метода MALDI/TOF/MS для идентификации индивидуальных компонентов и суммарных растительных комплексов, в связи с чем, впервые сформулировано понятие «масс-спектрометрический профиль».

В результате использования метода ОФ ВЭЖХ для анализа растительных объектов установлены закономерности между строением и подвижностью фенольных соединений [8].

Впервые теоретически обоснована и доказана в эксперименте возможность количественного определения биологически активных соединений различной природы методом MALDI/TOF/MS с использованием принципа внутренней стандартизации.

На основании проведенных исследований разработан ряд проектов общих и частных фармакопейных статей, часть из которых вошла в последнее издание Государственной фармакопеи Российской Федерации. Например, общая статья «Масс-спектрометрические методы анализа» [2].

#### **Заключение**

В ходе дальнейших исследований планируется разработка набора оригинальных методик анализа тест-соединений природного происхождения. При этом будут исследованы различные объекты и использованы такие гибридные методы анализа, как ОФ ВЭЖХ, хромато-масс-спектрометрия и др., выявлены дополнительные аналитические возможности предоставляемые используемыми методами.

#### **Список литературы**

1. АВРОРА-ИТ. Информационные технологии в управлении качеством. URL: <http://www.avroga-it.ru/content/articles/> (дата обращения 30.08.2016).
2. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII изд., Т. 1. М., 2015. URL: <http://femb.ru/feml>, (дата обращения 30.08.2016).
3. Київський національний університет імені Тараса Шевченка. URL: <http://www.achem.univ.kiev.ua> (дата обращения 30.08.2016).
4. Eijkel J. Chip-based capillary electrophoresis platforms: toward point-of-care applications // *Bioanalysis*. Vol. 7, No. 11. 2015. Pp. 1385-1387.
5. Novikov O.O., Pisarev D.I., Zhilyakova E.T. Phytochemical study of the north caucasian *Rosa spinosissima* L. fruit // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. Vol. 152, Is. 2. 2011. Pp. 216-218.
6. Novikov O.O. Using the matrix-assisted laser desorption ionization for the analysis of flavonoid glycosides in objects of plant origin / O.O. Novikov, D.I. Pisarev, E.T. Zhilyakova et al. // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. Vol. 154, Is. 3. 2013. Pp. 399-402.
7. Pisarev D.I. Perspective of use of MALDI/TOF/MS for identification of some natural bioactive compounds / D.I. Pisarev, O.O. Novikov, E.T. Zhilyakova et al. // *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. Vol. 5, Is. 6. 2014. Pp. 1429-1433.
8. Pisarev D.I. Polyphenolic compounds composition study in *Ocimum basilicum* L. herb and the development of their quantification assessment // D.I. Pisarev, O.O. Novikov, E.T. Zhilyakova et al. // *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. Vol. 6, Is. 4. 2015. Pp. 155-160.
9. Pittcon. Conference & Expo. URL: <http://pittcon.org> (дата обращения 30.08.2016).
10. Turkia H. Capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence detection for studying amino acid uptake by yeast during beer fermentation / H. Turkia, H. Siren, M. Penttilä, J.-P. Pitkänen // *Talanta*. Vol. 131. 2015. Pp. 366–371.

### References

1. AURORA-IT. Information Technology in Quality Management URL: <http://www.avrora-it.ru/content/articles/> (date of access: August 30, 2016).
2. The State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIII ed., Т. 1. М., 2015. URL: <http://femb.ru/feml> (date of access: August 30, 2016).
3. Kyiv Taras Shevchenko National University. URL: <http://www.achem.univ.kiev.ua> (date of access: August 30, 2016).
4. Eijkel J. Chip-based capillary electrophoresis platforms: toward point-of-care applications. *Bioanalysis*. Vol. 7, No. 11. 2015. Pp. 1385-1387.
5. Novikov O.O., Pisarev D.I., Zhilyakova E.T. Phytochemical study of the north caucasian *Rosa spinosissima* L. fruit. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. Vol. 152, Is. 2. 2011. Pp. 216-218.
6. Novikov O.O. Using the matrix-assisted laser desorption ionization for the analysis of flavonoid glycosides in objects of plant origin / O.O. Novikov, D.I. Pisarev, E.T. Zhilyakova et al. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. Vol. 154, Is. 3. 2013. Pp. 399-402.
7. Pisarev D.I. Perspective of use of MALDI/TOF/MS for identification of some natural bioactive compounds / D.I. Pisarev, O.O. Novikov, E.T. Zhilyakova et al. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. Vol. 5, Is. 6. 2014. Pp. 1429-1433.
8. Pisarev D.I. Polyphenolic compounds composition study in *Ocimum basilicum* L. herb and the development of their quantification assessment // D.I. Pisarev, O.O. Novikov, E.T. Zhilyakova et al. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. Vol. 6, Is. 4. 2015. Pp. 155-160.
9. Pittcon. Conference & Expo URL: <http://pittcon.org> (date of access: August 30, 2016).
10. Turkia H. Capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence detection for studying amino acid uptake by yeast during beer fermentation / H. Turkia, H. Siren, M. Penttilä, J.-P. Pitkänen. *Talanta*. Vol. 131. 2015. Pp. 366-371.

**Новиков Олег Олегович** заведующий кафедрой фармацевтической химии и фармакогнозии, доктор фармацевтических наук, профессор

**Писарев Дмитрий Иванович** профессор кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии, доктор фармацевтических наук, доцент

**Жилиякова Елена Теодоровна** заведующая кафедрой фармацевтической технологии, доктор фармацевтических наук, профессор

**Малютина Анастасия Юрьевна** старший преподаватель кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии, кандидат фармацевтических наук

**Новикова Марина Юрьевна** доцент кафедры фармацевтической технологии, кандидат фармацевтических наук, доцент

**Васильев Георгий Владимирович** старший преподаватель кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии, кандидат фармацевтических наук

**Novikov Oleg Olegovich** Doctor of Pharmacy, Professor, Head of Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy,

**Pisarev Dmitri Ivanovich** Doctor of Pharmacy, Professor, Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy,

**Zhilyakova Elena Teodorovna**, Doctor of Pharmacy, Professor, Head of Department of Pharmaceutical Technology,

**Malyutina Anastasiya Yurievna** PhD in Pharmacy, Senior Lecturer, Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy,

**Novikova Marina Yurievna**, PhD in Pharmacy, Associate Professor, Department of Pharmaceutical Technology,

**Vasiliev Georgy Vladimirovich**, PhD in Pharmacy, Senior Lecturer, Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy