

Б. О. Варинський

ОПТИМІЗАЦІЯ УМОВ ДЕТЕКТУВАННЯ РЯДУ 1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ІЛ-ТІОАЦЕТАТНИХ КИСЛОТ І ЇХ СОЛЕЙ МЕТОДОМ ВЕРХ-ЕСІ-МС

Запорізький державний медичний університет, Запоріжжя, Україна

УДК 543.51:547.792:543.544.5.068.7-048.34

Б. А. Варинский

ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ ДЕТЕКТИРОВАНИЯ РЯДА 1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ИЛ-ТІОАЦЕТАТ- НЫХ КИСЛОТ И ИХ СОЛЕЙ МЕТОДОМ ВЭЖХ-ЭСИ-МС

Запорожский государственный медицинский университет, Запорожье, Украина

Целью нашего исследования явилась оптимизация масс-спектрометрического детектирования с ионизацией в электроспрее в ВЭЖХ-МС 2-((4-(2-метоксифенил)-5-(пиридин-4-ил)4H-1,2,4-триазол-3-ил)тио)ацетатной кислоты; 2-((5-(фуран-2-ил)-4-фенил-4H-1,2,4-триазол-3-ил)тио)ацетатной кислоты; 2-((5-(пиридин-4-ил)4H-1,2,4-триазол-3-ил)тио)ацетатной кислоты; 2-((5-(морфолинometил)-4-фенил-4H-1,2,4-триазол-3-ил)тио)ацетатной кислоты; 2-((4-метил-5-(морфолинometил)4H-1,2,4-триазол-3-ил)тио)ацетатной кислоты; 2-((4-этил-5-(морфолинometил)4H-1,2,4-триазол-3-ил)тио)ацетатной кислоты; 2-((5-(морфолинometил)4H-1,2,4-триазол-3-ил)тио)ацетатной кислоты; 2-((5-(2-метоксифенил)4H-1,2,4-триазол-3-ил)тио)ацетатной кислоты и их солей.

Предложены уравнения полиномиальной регрессии зависимости интенсивности сигнала масс-детектора от температуры газа-осушителя, напряжения на фрагментаторе, давления на небулайзере. На основании нахождения максимумов функций получены оптимальные значения этих факторов.

Ключевые слова: высокоэффективная жидкостная хроматография, масс-спектрометрическая детекция, ионизация в электроспрее, 1,2,4-триазол-3-ил-тиоацетатные кислоты и их соли, оптимизация.

UDC 543.51:547.792:543.544.5.068.7-048.34

B. O. Varynskyi

OPTIMIZATION OF THE DETECTION CONDITIONS 1,2,4-TRIAZOL-3-YL-THIOACETATE ACIDS SERIES AND THEIR SALTS BY HPLC-ESI-MS

The Zaporizhzhya State Medical University, Zaporizhzhya, Ukraine

Development of control methods of production steps of 1,2,4-triazol-3-yl-thioacetate acids and salts, potential drugs, on the research and production stage is an important task. Determination of absorption, distribution, metabolism and excretion approaches require the creation analysis. The most universal and selective methods used in these cases is the HPLC-MS.

Purpose of this study was to optimize the mass spectrometric detection for HPLC-MS with the electrospray ionization of 2-((4-(2-methoxyphenyl)-5-(pyridin-4-yl)-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio)acetic acid; 2-((5-(furan-2-yl)-4-phenyl-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio)acetic acid; 2-((5-(pyridin-4-yl)-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio)acetic acid; 2-((5-(morpholinomethyl)-4-phenyl-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio)acetic acid; 2-((4-methyl-5-(morpholinomethyl)-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio)acetic acid; 2-((4-ethyl-5-(morpholinomethyl)-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio)acetic acid; 2-((5-(morpholinomethyl)-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio)acetic acid; 2-((5-(2-methoxyphenyl)-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio)acetic acid; morpholin-4-ium 2-((4-(2-methoxyphenyl)-5-(pyridin-4-yl)-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio)acetate; piperidin-1-ium 2-((5-(furan-2-yl)-4-phenyl-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio)acetate; morpholin-4-ium 2-((5-(pyridin-4-yl)-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio)acetate; morpholin-4-ium 2-((5-(morpholinomethyl)-4-phenyl-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio)acetate; morpholin-4-ium 2-((4-ethyl-5-(morpholinomethyl)-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio)acetate; morpholin-4-ium 2-((4-methyl-5-(morpholinomethyl)-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio)acetate; zinc 2-((5-(2-methoxyphenyl)-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio)acetate by the three factors full factorial design and polynomial regression equations.

Materials and methods. The work was carried out using the technique of direct sample introduction into the ion source on a liquid chromatograph Agilent 1260 Infinity HPLC System with a single quadrupole mass spectrometer Agilent 6120.

Results and discussion. The equations of polynomial regression dependence of the signal intensity mass detector on three important factors: the drying gas temperature, the fragmentation voltage, nebulizer gas pressure for the investigated substances. Based on the location of the maxima of the functions optimal values of these factors were obtained.

Conclusions. Selection of optimal conditions of mass spectrometric detection allows to maximize the signal of the detector and thus to increase the sensitivity and selectivity of determinations.

Key words: HPLC, MS, detection, electrospray ionization, 1,2,4-triazol-3-yl-thioacetate acids and salts, optimization.

Вступ

Сьогодні відомо багато похідних 1,2,4-тріазолу, що мають високі показники біологіч-

ної дії або є потенційними чи вже широко застосовуваними лікарськими засобами. Розробка методик контролю стадій синтезу сполук даного класу

на дослідницькому та виробничому етапі — важливе завдання сучасної фармацевтичної науки. Визначення здатності речовин до адсорбції, а



також процесів розподілу, метаболізму й екскреції також потребують створення підходів до аналізу сполук даного ряду. Метод високоефективної рідинної хроматографії з мас-спектрометричною детекцією, зокрема з іонізацією в електроспреї (ВЕРХ-ЕСІ-МС), без сумніву, є одним з універсальних і селективних методів, що забезпечує підтвердження структури, визначення молекулярної маси, проведення кількісного визначення речовин.

Використанню методу ВЕРХ-МС присвячено чимало робіт, у яких наведено умови мас-спектрометричного детектування [1–5], але кислоти та солі 1,2,4-тріазол-3-тіоацетатних кислот є тими об'єктами, що вперше підлягають вивченню і визначають безсумнівну актуальність, наукову новизну та практичну значущість. У багатьох роботах використовуються математичні методи оптимізації хроматографічних умов [6], проте у галузі вибору умов мас-спектрометричного детектування такі методи застосовуються недостатньо. Саме тому вивчення можливості використання поліноміальних рівнянь регресії для опису залежності інтенсивності сигналу від факторів іонізації в мас-детекції є актуальним.

Мета роботи — оптимізація мас-спектрометричного детектування для ВЕРХ-МС ряду 1,2,4-тріазол-3-тіоацетатних кислот і їх солей, деякі з яких уже зареєстровані, деякі є потенційними лікарськими засобами, а саме: температури газу-осушувача, напруги на фрагментаторі та тиску на небулайзері.

Матеріали та методи дослідження

Прилад LC MS: Agilent 1260 Infinity HPLC System (дегазатор, бінарний насос, автосамплер; одноквадрупольний мас-спектрометр Agilent 6120 з іонізацією в електроспреї (ESI); OpenLAB CDS Software.

Умови проведення ВЕРХ-МС дослідження:

1) ізократичний режим з використанням буферного розчину: А — $\text{H}_2\text{O}(\text{HCOOH } 0,1 \%)$ і розчину органічного модифікатора: В — $\text{CH}_3\text{CN}(\text{HCOOH } 0,1 \%)$; 50:50;

2) джерело іонів: API-ES;

3) режим селективного моніторингу іонів залежно від молекулярної маси, SIM;

4) позитивна полярність;

5) швидкість газу-осушувача (азоту) — 10 л/хв.

Використовували субстанції сполук, синтезованих у Запорізькому державному медичному університеті, склад яких було доведено за допомогою ГМР, ІЧ, хромато-мас-спектрометричного аналізу [7–10]: 2-((4-(2-метоксифеніл)-5-(піридин-4-іл)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)оцтова кислота (1); 2-((5-(фуран-2-іл)-4-феніл-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)оцтова кислота (2); 2-((5-(піридин-4-іл)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)оцтова кислота (3); 2-((5-(морфолінометил)-4-феніл-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)оцтова кислота (4); 2-((4-метил-5-(морфолінометил)4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)оцтова кислота (5); 2-((4-етил-5-(морфолінометил)4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)оцтової кислоти (6); 2-((5-(морфолінометил)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)оцтової кислоти (7); 2-((5-(2-метоксифеніл)4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)оцтової кислоти (8); морфолін-4-ий 2-((4-(2-метоксифеніл)-5-(піридин-4-іл)4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)оцтової кислоти (9); піперидин-1-ий 2-((5-(фуран-2-іл)-4-феніл-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)оцтової кислоти (10); морфолін-4-ий 2-((5-(піридин-4-іл)4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)оцтової кислоти (11); морфолін-4-ий 2-((5-(морфолінометил)-4-феніл-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)оцтової кислоти (12); морфолін-4-ий 2-((4-етил-5-(морфолінометил)4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)оцтової кислоти (13); морфолін-4-ий 2-((4-метил-5-(морфолінометил)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)оц-

тової кислоти (14); цинку 2-((5-(2-метоксифеніл)4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)оцтової кислоти (15).

Наважку речовини масою 1 мг розчиняли в 1 мл 50 % ацетонітрилу. Сполуки 3 та 15 розчиняли в диметилсульфоксиді. Дослідження проводили шляхом прямого введення зразка в камеру іонізації без хроматографічної колонки.

Статистичний аналіз одержаних результатів проведено за допомогою програмного пакета Statistica 8 на підставі значень факторів повного факторного плану та відповідних площ піків. За розрахованими рівняннями з використанням надбудови «Пошук рішення» програми Excel знайдені оптимальні значення факторів.

Результати дослідження та обговорення

З урахуванням рекомендацій дослідницького сектора розробників обладнання і програмного забезпечення (компанії Agilent Technologies), що відображені у рекомендаціях програмного комплексу OpenLAB CDS, деякі фактори іонізації на мас-детекторі були вибрані без оптимізації. Перед плануванням експерименту нами, згідно з цими даними, вибрано: швидкість елюенту на рівні 400 мкл/хв, швидкість газу-осушувача — 10 л/хв, напругу на капілярі — 4000 В.

З урахуванням новизни об'єктів — похідних 1,2,4-тріазолу, а саме їх будови, що характеризується елементним складом, стійкістю хімічних зв'язків, нами вирішено оптимізувати параметри, що впливають на інтенсивність сигналу на мас-детекторі.

Для реалізації поставленої мети була використана схема повного факторного експерименту за трьома факторами. Інтервал для кожного з факторів оптимізації обрано також із урахуванням програмного комплексу OpenLAB CDS. Так, температуру газу-осушувача реко-



мендовано програмним комплексом — 300 °С, але вона залежить від швидкості та температури кипіння елюенту, швидкості газу-осушувача, терmostабільності зразка. Елюент містить воду, отже, ми щонайменше обрали значення температури — 100 °С. Тиск на небулайзері пропонується програмою від 20 до 60 psi, залежно від швидкості елюенту. Ми вибрали нижче значення для дослідження — 10 psi, щоб вивчити дещо більший інтервал і визначити найкраще значення. Напруга на фрагментаторі може змінюватися залежно від природи хімічних зв'язків, тому ми варіювали її від 0 до 300 В. Нами застосовувався режим проточно-інжекційного аналізу (техніка прямого введення зразка). План повного факторного експерименту наведено в табл. 1.

Параметром, за яким умови вважали оптимальними, є площа піків сигналу мас-детектора. Для кожного об'єкта — нової сполуки з ряду 1,2,4-тріазол-3-тіоацетатних кислот і їх солей проведено дослідження 27 комбінацій факторів (3³). Крім того, кожна комбінація була повторена тричі для підвищення достовірності. Усього при вивченні цих речовин проведено 1215 вимірювань. Для сполуки 7 солі не досліджувалися, тому що отримані солі були дуже гігроскопчні.

Розраховані рівняння поліноміальної регресії зв'язують інтенсивність сигналу мас-детектора від трьох важливих факторів: температури газу-осушувача, напруги на фрагментаторі, тиску на небулайзері (табл. 2). Адекватність одержаних моделей була перевірена за допомогою критерію Фішера. Розраховані значення F статистики Фішера для більшості сполук більше табличного значення F_{крит} для f₁=3, f₂=23, α=0,05, що дорівнює 3,03. Це свідчить про значущість рівняння поліноміальної регресії. Винятком є тільки сполука 13. Коефіцієнти детермі-

нації (R²) для більшості сполук знаходяться в інтервалі 0,50–0,95, теж за винятком сполуки 13, для якої він дорівнює 0,45.

При проведенні розрахунків за допомогою надбудови «Пошук рішення» програми Excel оптимальних значень факторів при визначенні максимумів одержаних функцій залежності інтенсивності сигналу детектора від факторів, що оптимізувалися, пошук зійшовся по ймовірності до глобального рішення.

Вплив температури газу-осушувача на інтенсивність сигналу мас-детектора взагалі описується так: вища температура приводить до відділення аналітів від рухомої фази, тому що вона більш летка, а також до більш ефективного утворення іонів, але за відповідної температури буде зростати температурний розпад молекул та іонів досліджуваної речовини [11]. Тому ймовірно, що спостерігатиметься максимум інтенсивності при відповідній температурі.

Дослідники із компанії Agilent technologies ретельно вивчили взаємозв'язок напруги на фрагментаторі й інтенсивності сигналу мас-детектора [12]. Можна припустити, що зі збільшенням напруги на фрагментаторі сигнал повинен зменшуватися, тому що іони розпадаються на фрагменти більш активно. Але, як ми бачимо з одержаних авторами [12] даних, інтенсивність сигналу спочатку зростає, проходить через максимум, а потім зменшується. Напруга на капілярі та на фрагментаторі, прикладена до входу та виходу з капіляра, значно впливає на трансмісію іонів. Напруга на капілярі також впливає на фрагментацію іонів зразка. Взагалі, більш висока напруга на фрагментаторі допомагає трансмісії іонів через ділянку відносно високого тиску між виходом із капіляра та входом у скімер. Висока напруга на фрагментаторі може викликати фрагментацію, яка надає структурну інформацію.

Таблиця 1
План повного факторного експерименту

№ експерименту	T, °C	U, В	P, psi
1	100	0	10
2	100	0	30
3	100	0	60
4	100	150	10
5	100	150	30
6	100	150	60
7	100	300	10
8	100	300	30
9	100	300	60
10	200	0	10
11	200	0	30
12	200	0	60
13	200	150	10
14	200	150	30
15	200	150	60
16	200	300	10
17	200	300	30
18	200	300	60
19	300	0	10
20	300	0	30
21	300	0	60
22	300	150	10
23	300	150	30
24	300	150	60
25	300	300	10
26	300	300	30
27	300	300	60

Примітка. T — температура газу-осушувача; U — напруга на фрагменті; P — тиск газу небулайзера.

Для сполук, які важко фрагментуються, підвищення напруги звичайно приводить до кращої трансмісії іонів.

Згідно з даними табл. 3, для деяких кислот і відповідних солей спостерігаються практично однакові оптимальні умови: сполуки 1, 9; 3, 11; 4, 12; 5, 14. Це можна пояснити тим, що речовини у цих парах визначаються в однакових умовах, тобто в однакових формах (протонованих за допомогою форміатної кислоти). Решта сполук, можливо, відрізняються тим, що при аналізі солей додаються матричні ефекти, у тому числі іонної супресії або посилення сигналу (сполука 15 — цинкова сіль, імовірно, катіон цинку посилює сигнал).



Рівняння регресії взаємозв'язку площини піків (S) і факторів (Т, U, Р) мас-спектрометричного визначення досліджуваних речовин

Речовина	SIM, m/z	Рівняння регресії	R, R ²	F	F _{f1,f2,α, крит}
1	343	$S = -2\,033\,328,8 + 13\,691,0792 \cdot T - 13,601927 \cdot T^2 + 113\,801,755 \cdot U - 400,90302 \cdot U^2 + 123\,623,645 \cdot P - 1291,4057 \cdot P^2$	0,973240 0,947196	59,8	3,03
2	302	$S = 58\,601\,313,1 - 467\,216,83 \cdot T + 1154,51478 \cdot T^2 + 285\,655,023 \cdot U - 1033,2363 \cdot U^2 - 630\,372,71 \cdot P + 6441,58952 \cdot P^2$	0,758216 0,574892	4,5	3,03
3	237	$S = -7\,561\,879,1 + 33\,553,9460 \cdot T + ,064750463 \cdot T^2 + 508\,002,162 \cdot U - 1761,9178 \cdot U^2 + 471\,048,290 \cdot P - 4585,2630 \cdot P^2$	0,975930 0,952440	66,8	3,03
4	335	$S = -40\,1859,28 + 9457,40885 \cdot T - 1,3223246 \cdot T^2 + 165\,588,516 \cdot U - 595,01746 \cdot U^2 + 164\,446,908 \cdot P - 1598,6500 \cdot P^2$	0,975707 0,952004	66,1	3,03
5	273	$S = 3548,33531 + 9962,46906 \cdot T - 22,283962 \cdot T^2 + 67\,260,2246 \cdot U - 249,53586 \cdot U^2 + 95\,210,0721 \cdot P - 980,56583 \cdot P^2$	0,968959 0,938882	51,2	3,03
6	287	$S = -3\,914\,849,8 + 37\,003,7706 \cdot T - 78,950305 \cdot T^2 + 53\,936,3280 \cdot U - 196,61331 \cdot U^2 + 101\,675,253 \cdot P - 1033,4969 \cdot P^2$	0,901469 0,812646	14,4	3,03
7	259	$S = -244\,817,48 + 2793,70354 \cdot T - 1,0298427 \cdot T^2 + 43\,443,8036 \cdot U - 154,76270 \cdot U^2 + 46297,6634 \cdot P - 435,99774 \cdot P^2$	0,968314 0,937632	50,1	3,03
8	266	$S = -1\,326\,083,3 + 20\,152,8835 \cdot T - 50,026447 \cdot T^2 - 56,958434 \cdot U - 7,3087150 \cdot U^2 + 15541,7886 \cdot P - 137,69629 \cdot P^2$	0,709898 0,503955	3,38	3,03
9	343	$S = 319\,136,51 + 2701,25916 \cdot T + ,857299703 \cdot T^2 + 42\,105,7735 \cdot U - 148,24495 \cdot U^2 + 34\,785,9777 \cdot P - 329,67453 \cdot P^2$	0,962989 0,927348	42,5	3,03
10	302	$S = -7\,305\,050,2 + 40\,744,2051 \cdot T - 82,415167 \cdot T^2 + 131\,396,434 \cdot U - 441,69636 \cdot U^2 + 255\,250,839 \cdot P - 2780,4523 \cdot P^2$	0,842855 0,710405	8,18	3,03
11	237	$S = -164\,069,55 - 7427,0254 \cdot T + 45,7666537 \cdot T^2 + 166\,762,123 \cdot U - 580,78803 \cdot U^2 + 163\,313,967 \cdot P - 1642,6807 \cdot P^2$	0,963527 0,928384	43,2	3,03
12	335	$S = -779\,571,60 + 5115,34730 \cdot T - 2,9339936 \cdot T^2 + 42\,049,4183 \cdot U - 149,33848 \cdot U^2 + 43\,466,8170 \cdot P - 419,86482 \cdot P^2$	0,957643 0,917081	36,9	3,03
13	287	$S = 3\,894\,188,88 - 24\,131,175 \cdot T + 94,1571901 \cdot T^2 + 68\,198,3003 \cdot U - 236,07386 \cdot U^2 - 162\,335,79 \cdot P + 1863,02117 \cdot P^2$	0,672335 0,452034	2,7	3,03
14	273	$S = -466\,992,94 + 5825,68051 \cdot T - 12,797054 \cdot T^2 + 17\,417,1220 \cdot U - 62,858538 \cdot U^2 + 17\,344,9692 \cdot P - 152,36381 \cdot P^2$	0,952132 0,906555	32,3	3,03
15	266	$S = 108\,393,884 + 782,733333 \cdot T + ,485792593 \cdot T^2 + 51\,706,2570 \cdot U - 178,48736 \cdot U^2 + 39\,826,8144 \cdot P - 297,47670 \cdot P^2$	0,969677 0,940273	52,5	3,03

Аналізуючи оптимальні температури газу-осушувача, можна побачити, що максимальну температуру 300 °С витримують більшість кислот і солей, але, наприклад, сполука 2 та відповідно 10 містять замісник фурил, тому вони менш стійкі, ніж інші.

Оптимальні умови фрагментації не значно відрізняються для всіх кислот і солей і перебувають у межах 135–149 В. Винятком є сполука 8, оптимальним значенням для неї є 0. Але відповідна цинкова сіль має оптимальне значення напруги фрагментації 145 В, що можна пояснити стабілізацією за допомогою цинку.

Висновки

1. Розраховані рівняння поліноміальної регресії, що зв'язують інтенсивність сигналу мас-детектора від трьох важли-

вих факторів: температури газу-осушувача, напруги на фрагментаторі, тиску на небулайзері — для 15 1,2,4-тріазол-3-тіоацетатних кислот і їх солей.

Таблиця 3

Порівняння оптимальних умов мас-спектрометричного визначення досліджуваних речовин у кислотах і їх солях

№ кислоти-	SIM, m/z	Оптимальні умови			№ солі	SIM, m/z	Оптимальні умови		
		T	U	P			T	U	P
1	343	300	142	48	9	343	300	142	53
2	302	100	138	10	10	302	247	149	46
3	237	300	144	51	11	237	300	144	50
4	335	300	139	51	12	335	300	141	52
5	273	224	135	48	14	273	228	138	57
6	287	234	137	49	13	287	300	144	10
7	259	300	140	53	—	—	—	—	—
8	266	201	0	56	15	266	300	145	60



2. На підставі рівнянь регресії розраховані оптимальні умови мас-спектрометричного детектування 15 сполук за трьома факторами.

3. Оптимальною температурою газу-осушувача для більшості кислот і солей є 300 °С. Замісник фурил потребує зниження температури газу-осушувача. Оптимальні умови фрагментації для більшості кислот і солей знаходяться в межах 135–149 В.

4. Визначення оптимальних умов мас-спектрометричного детектування дозволяє максимально збільшити корисний сигнал на детекторі і таким чином підвищити чутливість і вибірковість методик. Оскільки такі умови мають деяку специфічність, це може дозволити частково відділити сигнал досліджуваних речовин від сигналу домішок.

ЛІТЕРАТУРА

1. Mohrhaus A. S. Identification and Determination of Carisoprodol in Tablets by Liquid Chromatography-Mass Spectrometry / A. S. Mohrhaus, S. R. Gratz // *Microgram J.* – 2004. – Vol. 2, N 1/4. – P. 36–41.

2. High-Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry Analysis of Proanthocyanidins in Foods and Beverages / Sh. A. Lazarus, G. E. Adamson, J. F. Hammerstone [et al.] // *J. Agric. Food Chem.* – 1999. – Vol. 47. – P. 3693–3701.

3. High-Performance Liquid Chromatography-Electrospray Ionization-Mass Spectrometry Study of Ginkgolic Acid in the leaves and Fruits of the Ginkgo Tree (*Ginkgo biloba*) / X.-g. He, M. W. Bernart, G. S. Nolan, L.-ze Lin [et al.] // *J. Chromatogr. Sci.* – 2000. – Vol. 38. – P. 169–173.

4. Simultaneous determination of primaquine and carboxyprimaquine in plasma using solid phase extraction and LC-MS assay / M. Page-Sharpa, K. F. Ilett, I. Betuelac [et al.] // *J. Chromatogr. B.* – 2012. – Vol. 902. – P. 142–146.

5. Pharmacokinetic Study of Guanfu Base G in Rats by LC-ESI-MS / R. Wang, X. Li, B. Wan, Y. Chu // *J. Chromatogr. Sci.* – 2014. – Vol. 52. – P. 1016–1020.

6. Варинський Б. О. Застосування математичного планування експерименту для оптимізації умов ВЕРХ та ВЕРХ-МС / Б. О. Варинський //

Фармацевтичний журнал. – 2014. – № 5. – С. 54–62.

7. Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості 2-(5- R_1 -4- R_2 -1,2,4-тріазол-3-тіо)-ацетатних кислот / А. Г. Каплаушенко, О. І. Панасенко, Є. Г. Книш [та ін.] // Фармацевтичний журнал. – 2008. – № 2. – С. 67–72.

8. Каплаушенко А. Г. Синтез, будова і біологічна активність похідних 4-моно- та 4,5-дизаміщених 1,2,4-тріазол-3-тіону : автореф. дис. ... д-ра фарм. наук : 15.00.02 / А. Г. Каплаушенко. – К., 2012. – 43 с.

9. Синтез і фізико-хімічні властивості 2-((4- R -3-(морфолінометилен)-4Н-1,2,4-тріазол-5-іл)тіо)-ацетатних кислот / Р. О. Щербіна, О. І. Панасенко, Є. Г. Книш [та ін.] // Актуальні питання фармації та медичної науки та практики. – 2014. – № 3. – С. 18–21.

10. Самелюк Ю. Г. Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості 2-(5-(метоксифеніл)-1,2,4-тріазол-3-тіо)-ацетатних кислот та їх естерів / Ю. Г. Самелюк, А. Г. Каплаушенко // Актуальні питання фармації та медичної науки та практики. – 2013. – № 2. – С. 125–128.

11. Haverford college. Department of Chemistry. Resources. Instruments. Analysis by Direct Injection of the Agilent LC/MS. – Access mode : <http://www.haverford.edu/chem/Agilent%20Direct%20Inject.pdf>

12. Takino M. Determination of the metabolites of nitrofurantol antibiotic drugs in chicken tissue by LC-ESI-MS [Electronic resource] / M. Takino // Agilent Technologies. – 2003. – 10 p. Access mode : <http://www.chem.agilent.com/Library/applications/5988-8903EN.pdf>.

REFERENCES

1. Mohrhaus A.S., Gratz S.R. Identification and Determination of Carisoprodol in Tablets by Liquid Chromatography-Mass Spectrometry. *Microgram J* 2004; 2 (1/4): 36-41.

2. Lazarus Sh.A., Adamson G.E., Hammerstone J.F. et al. High-Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry Analysis of Proanthocyanidins in Foods and Beverages. *J. Agric. Food Chem.* 1999; 47: 3693-3701.

3. He X.-g., Bernart M.W., Nolan G.S., Lin L.-ze et al. High-Performance Liquid Chromatography-Electrospray Ionization-Mass Spectrometry Study of Ginkgolic Acid in the leaves and Fruits of the Ginkgo Tree (*Ginkgo biloba*). *J. Chromatogr. Sci* 2000; 38: 169-173.

4. Page-Sharpa M., Ilett K.F., Betuelac I. et al. Simultaneous determination of primaquine and carboxyprimaquine in plasma using solid phase ex-

traction and LC-MS assay. *J. Chromatogr. B* 2012; 902: 142-146.

5. Wang R., Li X., Wan B., Chu Y. Pharmacokinetic Study of Guanfu Base G in Rats by LC-ESI-MS. *J. Chromatogr. Sci* 2014; 52: 1016-1020.

6. Varyns'kyy B.O. Allocation of mathematic planning experiment for optimization of conditions HPLC and HPLC-MS. *Farmatsevychnyy zhurnal* 2014; 5: 54-62.

7. Kaplaushenko A.G., Panasenko O.I., Knysh Ye.G. et al. Synthesis, physico-chemical and biological properties of 2-(5- R_1 -4- R_2 -1,2,4-triazoles-3-thio)-acetate acids. *Pharm. Journ* 2008; 2: 67-72.

8. Kaplaushenko A.G. Synthesis, structure and biological activity of 4-mono- and 4,5-disubstituted 1,2,4-triazole-3-thione. Abstract of thesis for doctor of pharm. sci. Kyiv, 2012. 43 p.

9. Shcherbina R.O., Panasenko O.I., Knysh Ye.G. et al. Synthesis and physicochemical properties 2-((4- R -3-(morpholinomethylene)-4Н-1,2,4-тріазол-5-іл)тіо)-ацетатних кислот. *Aktual'ni pytannya farmatsevychnoi ta medychnoi nauky ta praktyky* 2014; 3: 18-21.

10. Samelyuk Yu.G., Kaplaushenko A.G. Synthesis, physico-chemical and biological properties of 2-(5-(methoxyphenyl)-1,2,4-triazoles-3-thio)-acetic acid and their esters. *Aktual'ni pytannya farmatsevychnoi ta medychnoi nauky ta praktyky* 2013; 2: 125-128.

11. Haverford college. Department of Chemistry. Resources. Instruments. Analysis by Direct Injection of the Agilent LC/MS. Access mode : <http://www.haverford.edu/chem/Agilent%20Direct%20Inject.pdf>

12. Takino M. Determination of the metabolites of nitrofurantol antibiotic drugs in chicken tissue by LC-ESI-MS, Agilent Technologies, 2003; 10 p. (application note). Access mode : <http://www.chem.agilent.com/Library/applications/5988-8903EN.pdf>.

Надійшла 27.01.2015

Рецензент
проф. В. О. Гельмбольдт

