

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

УДК 615.32:615.01]:543.544

DOI: <https://doi.org/10.52540/2074-9457.2023.1.33>А. А. Романюк¹, Д. В. Моисеев²

РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТРАЦЕНПРОИЗВОДНЫХ ЖОСТЕРА СЛАБИТЕЛЬНОГО ПЛОДОВ МЕТОДОМ ВЭЖХ

¹Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,
г. Витебск, Республика Беларусь

²ООО «Компания «ДЕКО», г. Москва, Российская Федерация

Статья посвящена разработке и валидации методики количественного определения антраценпроизводных жостера слабительного плодов с использованием метода высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Изучено влияние на экстракцию биологически активных веществ жостера слабительного плодов природы экстрагента, температуры и продолжительности экстракции, соотношения массы сырья и объема экстрагента, а также измельченности растительного сырья. Определено, что экстракцию гликозидов антраценпроизводных жостера слабительного плодов целесообразно проводить спиртом этиловым 50% в течение 30 минут на водяной бане при соотношении массы сырья и объема экстрагента 1 : 50.

В ходе исследования установлены оптимальные условия хроматографического определения антраценпроизводных жостера слабительного плодов. Хроматографический анализ осуществляется с помощью обращенно-фазовой колонки Zorbax SB-C18 (4,6 × 250 мм, 5 мкм), температура которой составляет 50 °С. Подвижная фаза состоит из ацетонитрила и воды высокоочищенной, доведенной кислотой ортофосфорной до значения рН 2. Используется градиентный режим элюирования подвижной фазы, скорость которой составляет 1 мл/мин.

Разработанная методика количественного определения антраценпроизводных жостера слабительного плодов валидирована по специфичности, линейности, правильности, точности, робастности. Определена стабильность раствора стандартного образца глюкофрангулина А и полученного экстракта.

Ключевые слова: жостера слабительного плоды, антраценпроизводные, высокоэффективная жидкостная хроматография, глюкофрангулин А, франгулин А.

ВВЕДЕНИЕ

Жостер слабительный (*Rhamnus cathartica* L.) является кустарником семейства крушиновых (*Rhamnaceae*), произрастающим в Европейской части СНГ, главным образом в Западной Сибири, Казахстане и на Кавказе. Плоды растения используют как слабительные средства, поскольку их химический состав представлен антраценпроизводными, по которым проводится контроль качества лекарственного растительного сырья [1].

В фармакопейной статье на жостера слабительного плоды Государственной фармакопеи Республики Беларусь отсутствует раздел «Количественное определение» [2].

В Государственной фармакопее Российской Федерации для проведения стандартизации жостера слабительного плодов предложена спектрофотометрическая методика количественного определения антраценпроизводных. Данной методикой определяют сумму антраценпроизводных, что является, на наш взгляд, ее недостатком, поскольку основной фармакологический эффект (слабительный) связан с действием только гликозидов антраценпроизводных. Помимо этого, спектрофотометрическая методика является продолжительной, а также недостаточно специфичной и точной [3].

Цель данного исследования – разработать и валидировать методику количе-

ственного определения антраценпроизводных жостера слабительного плодов с помощью метода высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В Республике Беларусь и Российской Федерации жостера слабительного плоды не выпускаются в виде лекарственного растительного сырья, поэтому объектом исследования являлись три серии биологически активной добавки жостера слабительного плодов производителя ООО «Русские корни» (серия 01102018, 20082018, 21012019).

Исследование проводили на жидкостном хроматографе Agilent 1100 («Agilent Technologies», США) в комплекте с системой подачи и дегазации на четыре растворителя G1311A, диодно-матричным детектором G1315B, термостатом колонок G1316A, а также устройством для автоматического ввода образцов G1313A. Сбор данных, обработку хроматограмм и спектров поглощения проводили с помощью программы Agilent ChemStation for LC 3D.

Работу выполняли на хроматографической колонке Zorbax SB-C18 (4,6 × 250 мм, 5 мкм, «Agilent Technologies», США). Для приготовления подвижной фазы применяли ацетонитрил для жидкостной хроматографии, воду высокоочищенную, а также кислоту ортофосфорную. Хроматографирование осуществляли в градиентном режиме элюирования подвижной фазы. Скорость подвижной фазы составляла 1,0 мл/мин, а температура колонки – 50 °С. Детектирование проводили при длине волны 435 нм.

При валидации разработанной нами методики количественного определения антраценпроизводных жостера слабительного плодов определяли параметры специфичности, линейности, правильности, точности и робастности. Помимо этого, изучали стабильность растворов стандартного образца глюкофрангулина А и полученных экстрактов [4–7].

При проведении исследований использовали мерную посуду класса А.

В работе использовали стандартные образцы антраценпроизводных: глюкофрангулин А (CAS [21133-53-9], «Phytolab», Германия), франгулин А (CAS [521-62-0], «Carl Roth», Германия), эмодин (CAS [518-82-1], «Cayman Chemical», США).

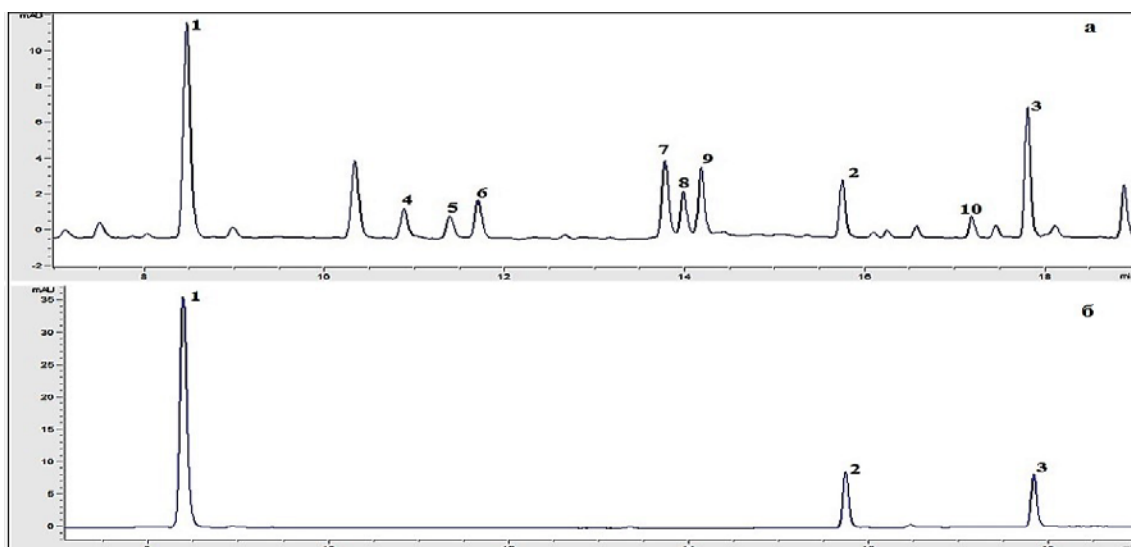
РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На первом этапе исследования методом ВЭЖХ изучен компонентный состав антраценпроизводных жостера слабительного плодов. Ранее нами в спиртовом извлечении из жостера слабительного плодов были идентифицированы антраценпроизводные франгулин А и эмодин [8]. Помимо этого, после сравнения времени удерживания, а также спектральных характеристик исследуемого пика и пика раствора стандартного образца, идентифицирован глюкофрангулин А. Хроматограмма экстракта из жостера слабительного плодов, а также хроматограмма смеси растворов стандартных образцов представлены на рисунке 1. Спектры поглощения в ультрафиолетовой области антраценпроизводных показаны на рисунке 2.

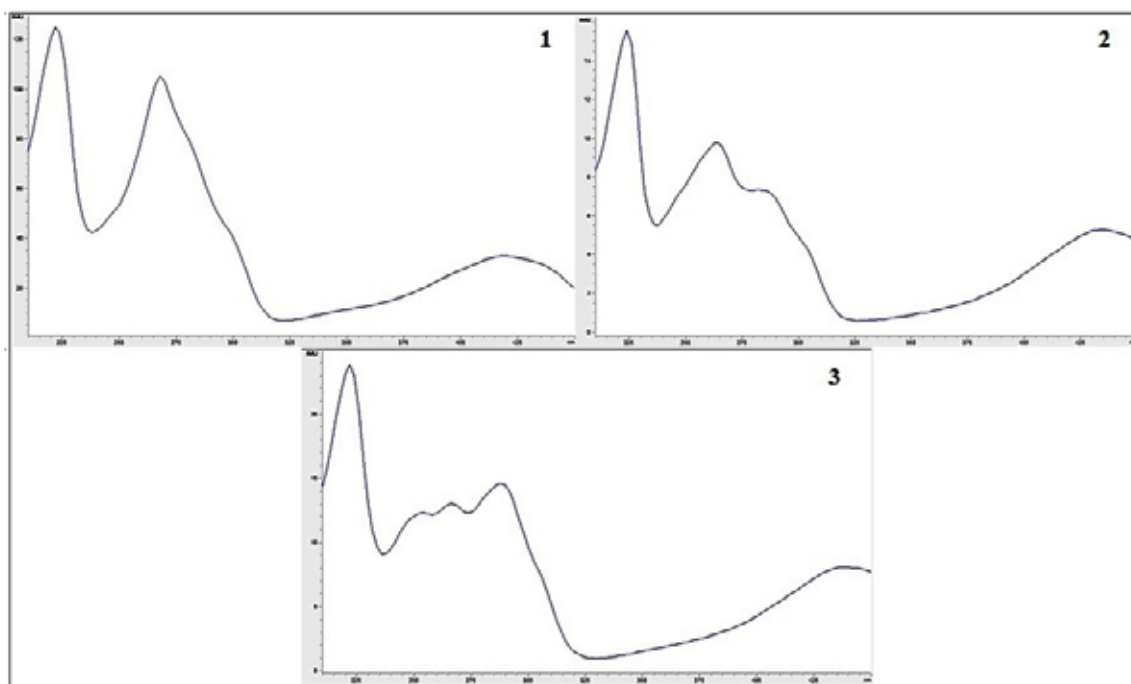
Вещества, которые соответствуют хроматографическим пикам 4–10, согласно спектральным характеристикам и с учетом порядка выхода из колонки раньше агликонов антраценпроизводных, отнесены к антрагликозидам. Таким образом, при количественном определении учитываются хроматографические пики 1, 2 и 4–10.

В методике количественного определения антраценпроизводных жостера слабительного плодов Государственной фармакопеи Российской Федерации определяется сумма антраценпроизводных в пересчете на франгулин А [3]. Однако нами определено, что доминирующим антраценпроизводным жостера слабительного плодов является глюкофрангулин А, поэтому при разработке аналитической методики пересчет количественного содержания антраценпроизводных проводили на глюкофрангулин А.

На втором этапе исследования подобраны условия хроматографического определения. Установлено, что антраценпроизводные обладают различными сорбционными свойствами, поэтому при использовании изократического элюирования подвижной фазы наблюдается недостаточное разделение их хроматографических пиков. В связи с этим разделение антраценпроизводных жостера слабительного плодов целесообразно проводить в градиентном режиме элюирования подвижной фазы. Подобран профиль градиента подвижной фазы, приведенный в таблице 1.



1 – глюкофрангулин А, 2 – франгулин А, 3 – эмодин, 4–10 – антрагликозиды
 Рисунок 1. – Хроматограмма извлечения из жостера слабительного плодов (а) и хроматограмма смеси растворов стандартных образцов антраценпроизводных (б) при длине волны 435 нм



1 – глюкофрангулин А, 2 – франгулин А, 3 – эмодин
 Рисунок 2. – Спектры поглощения в ультрафиолетовой области антраценпроизводных жостера слабительного плодов

Таблица 1. – Профиль градиента подвижной фазы при определении антраценпроизводных жостера слабительного плодов

Время (мин)	Подвижная фаза А (% , об/об)	Подвижная фаза В (% , об/об)
0	80	20
10	60	40
15	20	80
20	0	100

Изучали влияние значения рН подвижной фазы в диапазоне 1,5–3 на разделение хроматографических пиков определяемых веществ. Установлено, что использование подвижной фазы со значением рН 2 является наиболее оптимальным для разделения. Таким образом, подвижная фаза А – это вода высокоочищенная, доведенная кислотой ортофосфорной до значения рН 2, а подвижная фаза В – ацетонитрил.

Хроматографическое разделение антраценпроизводных жостера слабительного плодов осуществляется за 20 минут.

Также было установлено, что при температуре колонки 40 °С не достигается достаточное разделение хроматографических пиков определяемых веществ, поэтому определение проводили при температуре колонки 50 °С. Скорость потока подвижной фазы составляла 1 мл/мин, объем вводимой пробы – 10 мкл.

При использовании данных условий хроматографического определения наблюдается достаточное разделение хроматографических пиков определяемых веществ ($R_s > 1,5$), поэтому их использовали в дальнейших исследованиях.

Детектирование проводили при длинах волн 270 нм, 360 нм, 380 нм, 435 нм

и 515 нм. В результате было установлено, что наиболее избирательным является значение длины волны детектирования 435 нм, поскольку при этом значении на хроматограмме наблюдается меньшее количество примесей.

Важным этапом при разработке методики количественного определения биологически активных веществ лекарственного растительного сырья является определение оптимальных условий их экстракции. Для этого изучено влияние на полноту экстракции антраценпроизводных жостера слабительного плодов природы экстрагента, измельченности растительного сырья, температуры и продолжительности экстракции, а также соотношения массы сырья и объема экстрагента.

Для подбора оптимальных условий экстракции гликозидов антраценпроизводных жостера слабительного плодов изучена зависимость ее полноты от природы экстрагента. Для этого измельченное сырье подвергали экстрагированию водно-спиртовыми смесями с шагом 10%. Результаты определения полноты экстракции антраценпроизводных жостера слабительного плодов в зависимости от объемной доли спирта этилового представлены на рисунке 3.

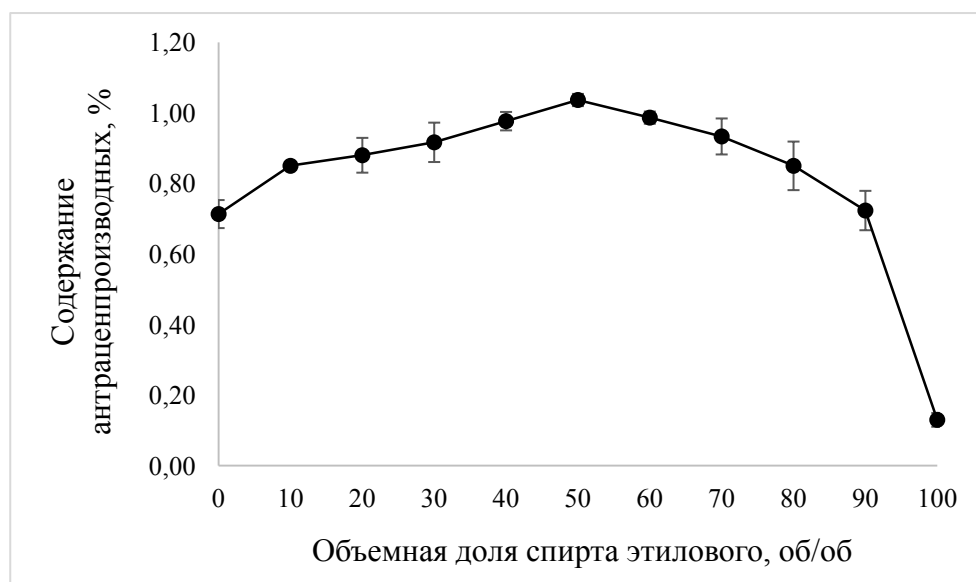


Рисунок 3. – Зависимость полноты экстракции антраценпроизводных жостера слабительного плодов от объемной доли спирта этилового ($n = 3$, $P = 95\%$)

Поскольку максимальная экстракция антраценпроизводных из жостера слабительного плодов достигается при применении в качестве экстрагента спирта эти-

лового 50%, его использовали в последующих исследованиях.

Также определено влияние температуры водяной бани (температуры экстрак-

ции) на полноту высвобождения действующих веществ жостера слабительного плодов, что представлено на рисунке 4.

Установлено, что максимальная экстракция антраценпроизводных жостера слабительного плодов наблюдается при

использовании кипящей водяной бани.

Далее изучено влияние продолжительности экстракции на степень высвобождения действующих веществ из жостера слабительного плодов. Результаты определения представлены на рисунке 5.

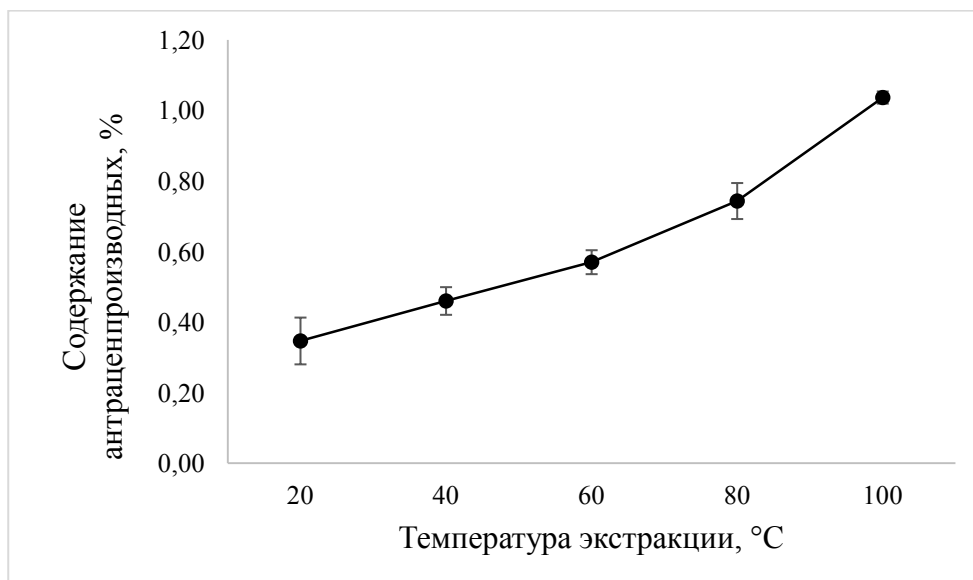


Рисунок 4. – Зависимость полноты экстракции антраценпроизводных жостера слабительного плодов от температуры экстракции (n = 3, P = 95%)

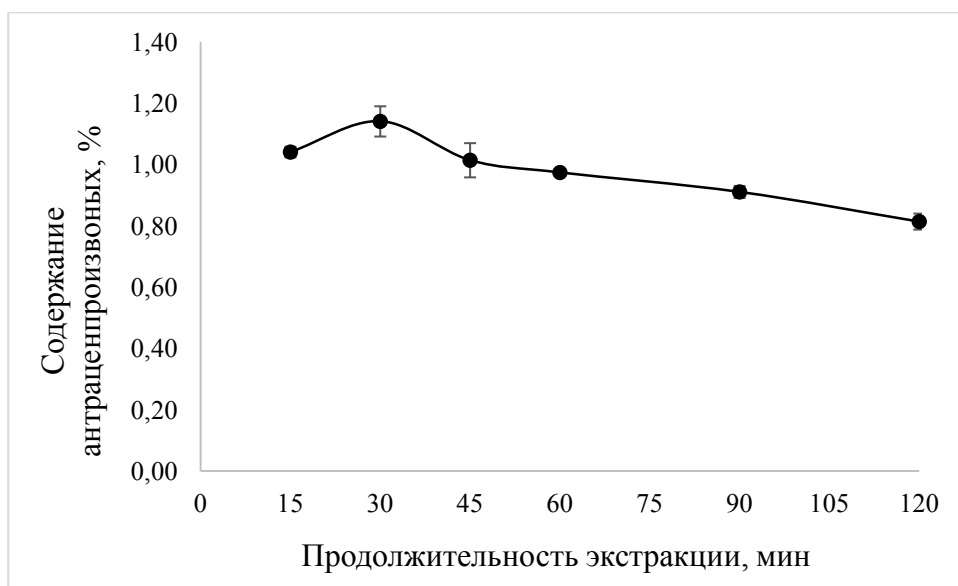


Рисунок 5. – Зависимость полноты экстракции антраценпроизводных жостера слабительного плодов от продолжительности экстракции (n = 3, P = 95%)

Таким образом, выявлено, что оптимальная продолжительность экстракции составляет 30 минут.

Еще одним фактором, влияющим на степень экстракции, является соотноше-

ние массы растительного сырья и объема экстрагента, поскольку его оптимальное значение обеспечивает разность концентраций в сырье и экстрагенте, что является движущей силой процесса экстракции.

Результаты определения оптимального соотношения массы сырья и объема экстрагента представлены на рисунке 6.

Как видно из рисунка 6, соотношение массы сырья и объема экстрагента 1 : 50 является наиболее оптимальным с позиции полноты экстракции.

Важным фактором, который влияет на извлечение биологически активных веществ из лекарственного растительного сырья, является степень его измель-

ченности. При использовании крупных частиц сырья поверхность раздела фаз и степень экстракции будут меньше, чем при использовании более мелких частиц. Однако при слишком тонком измельчении могут разрушаться перегородки растительных клеток, что может приводить к вымыванию сопутствующих веществ, которые загрязняют извлечение. Также при этом действующие вещества могут разрушаться [9].

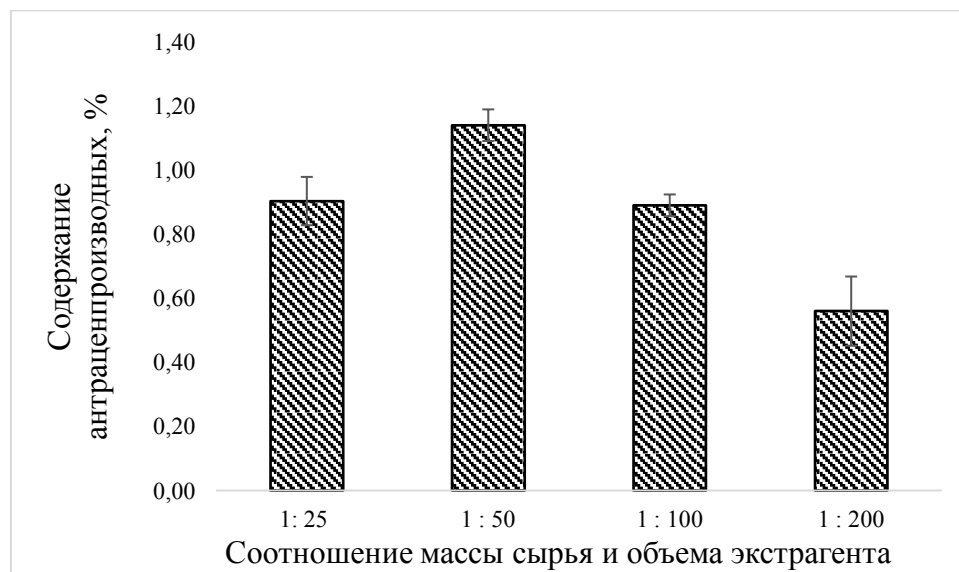


Рисунок 6. – Зависимость полноты экстракции антраценпроизводных жостера слабительного плодов от соотношения массы сырья и объема экстрагента (n = 3, P = 95%)

Для изучения влияния данного фактора растительное сырье жостера слабительного различной степени измельченности подвергали экстракции в установленных ранее условиях. Результаты представлены на рисунке 7.

Таким образом, использование растительного сырья измельченностью 250 мкм приводит к наибольшей экстракции антраценпроизводных жостера слабительного плодов.

При валидации разработанной нами методики количественного определения антраценпроизводных жостера слабительного плодов определяли параметры специфичности, линейности, правильности, точности и робастности. Помимо этого, изучали стабильность растворов стандартного образца глюкофрангулина А и полученных экстрактов [5–8].

Для подтверждения специфичности разработанной методики использовали со-

впадение времен удерживания и спектров поглощения пиков глюкофрангулина А и франгулина А на хроматограммах растворов их стандартных образцов и испытуемых образцов лекарственного растительного сырья. При этом на хроматограмме растворителя (спирт этиловый 50%) хроматографические пики отсутствовали. Также использовали параметр спектральной чистоты пиков в лекарственном растительном сырье (не менее 98%) и коэффициент разрешения пика глюкофрангулина А от других пиков ($R_s > 2,0$). Эффективность разделения по пику глюкофрангулина А и франгулина А составляет более 10 тысяч теоретических тарелок, коэффициенты асимметрии – около 0,86 и 0,87.

Оценку линейности методики проводили после трехкратного построения градуировочного графика в диапазоне концентраций раствора глюкофрангулина А 7,8–1000 мкг/мл (рисунок 8).



Рисунок 7. – Зависимость полноты экстракции антраценпроизводных жостера слабительного плодов от измельченности лекарственного растительного сырья (n = 3, P = 95%)

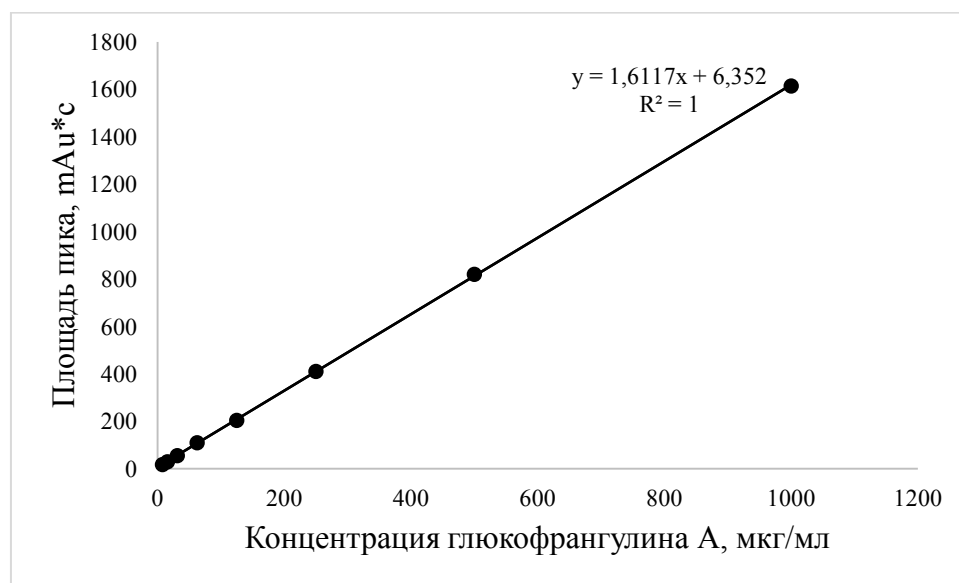


Рисунок 8. – Градуировочный график зависимости аналитического сигнала (площадь пика) от концентрации глюкофрангулина А (n = 3, P = 95%)

Как видно из рисунка 8, линейность разработанной методики является удовлетворительной. Коэффициент корреляции в уравнении линейной регрессии составляет 1,000 (критерий приемлемости – не менее 0,999).

Для подтверждения правильности разработанной методики проводили серию анализов испытуемых растворов с использованием метода стандартных добавок. Результаты определения правильности методики представлены в таблице 2.

Установлено, что методика обладает удовлетворительной правильностью, поскольку открываемость находится в диапазоне критерия приемлемости (90–110%). При этом в случае добавления стандартного образца глюкофрангулина А к испытуемому раствору наблюдается увеличение площади соответствующего ему хроматографического пика, а площадь остальных пиков остается неизменной.

Таблица 2. – Результаты определения правильности методики (n = 3, P = 95%)

Исходная концентрация антраценпроизводных (мкг/мл)	Добавлено глюкофрангулина А (мкг/мл)	Обнаружено суммы антраценпроизводных (мкг/мл)	Открываемость, %	Относительное стандартное отклонение (RSD, %)
105,7	150,0	263,0	102,8	0,5
105,7	100,0	221,0	101,1	2,6
105,7	50,0	155,2	99,7	3,4

Для определения точности аналитической методики использовали параметры сходимости и внутрилабораторной воспроизводимости. Сходимость методики устанавливали, многократно ее повторяя на одном сырье одним и тем же аналитиком в один и тот же день (n = 9, P = 95%).

Относительное стандартное отклонение при этом (3,7%) не превышает предельного значения критерия приемлемости (5,0%).

В ходе изучения внутрилабораторной воспроизводимости оценивали результаты анализов, которые проводили два аналитика в разные дни, что представлено в таблице 3.

Таблица 3. – Результаты определения внутрилабораторной воспроизводимости методики (n = 3, P = 95%)

Аналитик	День 1	День 2
1	RSD = 1,5%	RSD = 1,7%
2	RSD = 0,8%	RSD = 0,7%

Таким образом, максимальное относительное стандартное отклонение составляет 1,7%, поэтому аналитическая методика является точной (критерий приемлемости – не более 5,0%).

Робастность методики изучали в условиях проведения анализов при изменении температуры колонки (50 ± 3 °С) и наклона градиента ($\pm 2\%$). Значения площадей пиков, полученные при хроматографировании испытуемого раствора в заданных измененных условиях, отличаются от исходных не более чем на 4,5%, что не превышает критерия приемлемости (5,0%).

Для определения стабильности раствора стандартного образца глюкофрангулина А и полученного экстракта сравнивали площади пиков антраценпроизводных через равные промежутки времени при хранении в течение 24 часов при комнатной температуре. В результате установлена их стабильность в течение данного времени, поскольку уменьшение содержания анализируемых веществ составляет не более 2,7% (критерий приемлемости – не более 5,0%).

Таким образом, нами предлагается следующая методика количественного определения антраценпроизводных жостера слабительного плодов: 1,000 г испытуемого сырья (250 мкм) помещают в круглодонную колбу со шлифом вместимостью 100 мл и прибавляют 50,0 мл спирта этилового 50%. Взвешивают с точностью до 0,01 г, нагрева-

ют на водяной бане с обратным холодильником при температуре 100 °С в течение 30 минут. Колбу с содержимым охлаждают до комнатной температуры и доводят массу спиртом этиловым 50% до первоначальной. Извлечение центрифугируют при 5000 g в течение 5 мин, надосадочную жидкость фильтруют через мембранный фильтр с диаметром пор 0,45 мкм.

Приготовление раствора сравнения: 25,0 мг стандартного образца глюкофрангулина А растворяют в спирте этиловом 50% и доводят до объема 100,0 мл этим же растворителем.

Расчет количественного содержания антраценпроизводных (%) в пересчете на глюкофрангулин А проводят по формуле:

$$X = \frac{S_1 \times C \times 500}{S_2 \times m_1 \times (100 - W)},$$

где S_1 – сумма площадей пиков антраценпроизводных на хроматограмме испытуемого раствора;

S_2 – площадь пика глюкофрангулина А на хроматограмме раствора сравнения;

m_1 – масса навески испытуемого сырья, г;

C – содержание глюкофрангулина А в растворе сравнения, мг/мл;

W – потеря в массе при высушивании, %.

Результаты апробации методики количественного определения антраценпроизводных жостера слабительного плодов приведены в таблице 4.

Таблица 4. – Результаты апробации разработанной методики (n = 3, P = 95%)

Серия жостера слабительного плодов	Содержание антраценпроизводных, %
Серия 20082018	1,41 ± 0,02
Серия 01102018	2,26 ± 0,05
Серия 21012019	1,68 ± 0,05

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе проведенного исследования изучено влияние на экстракцию биологически активных веществ жостера слабительного плодов природы экстрагента, температуры и продолжительности экстракции, измельченности растительного сырья, соотношения массы сырья и объема экстрагента. Установлено, что оптимальными условиями экстракции антрагликозидов жостера слабительного плодов являются: экстрагент – спирт этиловый 50%, температура экстракции – 100 °С, ее продолжительность – 30 минут, соотношение массы сырья и объема экстрагента – 1 : 50, измельченность растительного сырья – 250 мкм.

Предложены следующие условия хроматографического анализа антраценпроизводных жостера слабительного плодов: колонка длиной 0,25 м и внутренним диаметром 4,6 мм, заполненная силикагелем октадецилсилильным для хроматографии с размером частиц 5 мкм, ее температура – 50 °С. Используется градиентный режим элюирования подвижной фазы, состоящей из ацетонитрила и воды высокоочищенной, доведенной кислотой ортофосфорной до значения pH 2. Длина волны детектирования – 435 нм.

Валидационные характеристики методики количественного определения антраценпроизводных жостера слабительного плодов доказывают ее специфичность, линейность, правильность, точность и робастность. Разработанная методика может быть использована при стандартизации данного вида лекарственного растительного сырья.

SUMMARY

A. A. Romanyuk, D. V. Moiseev
DEVELOPMENT AND VALIDATION
OF THE ASSAY METHOD
OF ANTHRACENE DERIVATIVES
OF COMMON BUCKTHORN FRUITS
BY HPLC METHOD

The article is devoted to the development and validation of the assay method of anthracene

derivatives of common buckthorn fruits using high performance liquid chromatography.

The effect on extraction of biologically active substances of common buckthorn fruits of the extractant character, temperature and duration of extraction, the ratio of the raw material weight and the extractant volume, as well as raw material granulation, was studied. It has been determined that it is reasonable to conduct glycosides extraction of anthracene derivatives of common buckthorn fruits with ethyl alcohol 50% for 30 minutes in a water bath at a ratio of raw materials weight and the extractant volume 1 : 50.

In the course of the study optimal conditions for the chromatographic determination of anthracene derivatives of common buckthorn fruits were established. A chromatographic analysis is carried out using a Zorbax SB-C18 reversed-phase column (4,6 x 250 mm, 5 μm) the temperature of which is 50 °C. The mobile phase consists of acetonitrile and highly purified water adjusted to pH 2 with orthophosphoric acid. A gradient elution mode of the mobile phase, the rate of which is 1 ml/min, is used.

The developed assay method of anthracene derivatives of common buckthorn fruits has been validated according to such parameters as specificity, linearity, correctness, accuracy and robustness. In addition, the stability of the solution of the standard sample of glucofrangulin A and the obtained extract was determined.

Keywords: common buckthorn fruits, anthracene derivatives, high performance liquid chromatography, glucofrangulin A, frangulin A.

ЛИТЕРАТУРА

1. Фармакогнозия. Лекарственное сырье растительного и животного происхождения / под ред. Г. П. Яковлева. – 2-е изд., испр. и доп. – Санкт-Петербург: СпецЛит, 2010. – 863 с.

2. Государственная фармакопея Республики Беларусь: (ГФ РБ II) : в 2 т. : введ. в действие с 1 июля 2016 г. приказом М-ва здравоохранения Республики Беларусь от 31.03.2016 г. № 270. – Т. 2: Контроль качества субстанций для фармацевтического использования и лекарственного растительного сырья / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Центр экс-

пертиз и испытаний в здравоохранении ; [под общ. ред. С. И. Марченко]. – Молодечно: Победа, 2016. – 1368 с.

3. Государственная фармакопея Российской Федерации: введ. в действие с 1 дек. 2018 г. приказом М-ва здравоохранения РФ от 31 окт. 2018 г. № 749 / М-во здравоохранения РФ. – 14-е изд. – Т. 4. – Москва: Медицина, 2018. – 7019 с.

4. Государственная фармакопея Республики Беларусь: в 2 т. : введ. в действие с 1 янв. 2013 г. приказом М-ва здравоохранения Респ. Беларусь от 25.04.2012 г. № 453. – Т. 1: Общие методы контроля качества лекарственных средств / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении ; [под общ. ред. А. А. Шерякова]. – Молодечно: Победа, 2012. – 1220 с.

5. Об утверждении Руководства по валидации аналитических методик проведения испытаний лекарственных средств [Электронный ресурс] : решение Коллегии Евразийской эконом. комис., 17 июля 2018 г., № 113. – Режим доступа: https://docs.eaeunion.org/docs/ru-ru/01421237/clcd_20072018_113. – Дата доступа: 27.05.2022.

6. Гармонизация методических подходов к стандартизации фармакопейных видов растительного сырья, содержащего флавоноиды / И. А. Самылина [и др.] // Фармация. – 2020. – Т. 69, № 5. – С. 5–11.

7. Эпштейн, Н. А. Исследование робастности при валидации методик ВЭЖХ и УЭЖХ: современный подход, включающий анализ рисков / Н. А. Эпштейн, В. Л. Севастьянова, А. И. Королева // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2018. – № 1. – С. 96–109.

8. Романюк, А. А. Изучение компонентного состава антрахинонов жостера слабительного плодов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии [Электронный ресурс] / А. А. Романюк, Д. В. Моисеев // Актуальные вопросы современной медицины и фармации: материалы 71-й науч.-практ. конф. студентов и молодых учёных, Витебск, 24-25 апр. 2019 г. / под ред. А. Т. Щастного. – Витебск: Витебский гос. мед. ун-т, 2019. – С. 829–832. – 1 электрон. опт. диск (CD-ROM).

9. Кугач, В. В. Курс лекций по аптечной технологии лекарственных средств: курс лекций / Кугач В. В. – 4-е изд., перераб. и доп. – Витебск: Витебский гос. мед. ун-т, 2012. – 349 с.

REFERENCES

1. Iakovlev GP, redactor. Pharmacognosy. Medicinal raw materials of plant and animal origin. 2-e izd, ispr i dop. Sankt-Peterburg, RF: SpetsLit; 2010. 863 s. (In Russ.)

2. Ministerstvo zdravookhraneniia Respubliki Belarus', Tsentr ekspertiz i ispytaniy v zdra-

vookhraneniia. State Pharmacopoeia of the Republic of Belarus: v 2 t. T. 2. Quality control of substances for pharmaceutical use and medicinal herbal raw materials. Marchenko SI, redactor. Molodechno, RB: Pobeda; 2016. 1368 s. (In Russ.)

3. Ministerstvo zdravookhraneniia Rossiiskoi Federatsii. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. 14-e izd. T 4. Moskva, RF: Meditsina; 2018. 7019 s. (In Russ.)

4. Ministerstvo zdravookhraneniia Respubliki Belarus', Tsentr ekspertiz i ispytaniy v zdra-vookhraneniia. State Pharmacopoeia of the Republic of Belarus: v 2 t. T. 1. General methods of quality control of medicines. Sheriakov AA, redactor. Molodechno, RB: Pobeda; 2012. 1220 s. (In Russ.)

5. On Approval of the Guidelines for the Validation of Analytical Methods for Testing Medicinal Products [Elektronnyi resurs] : reshenie Kollegii Evraziiskoi ekonom komis, 17 iulia 2018 g, № 113. Rezhim dostupa: https://docs.eaeunion.org/docs/ru-ru/01421237/clcd_20072018_113. Data dostupa: 27.05.2022. (In Russ.)

6. Samylina IA, Moiseev DV, Marchenko SI, Veremchuk OA, Moiseeva AM, Sorokina AA. Harmonization of methodological approaches to the standardization of pharmacopoeial types of plant materials containing flavonoids. Farmatsiia. 2020;69(5):5–11. doi: 10.29296/25419218-2020-05-01. (In Russ.)

7. Epshtein NA, Sevast'ianova VL, Koroleva AI. Robustness study in the validation of HPLC and UPLC methods: a modern approach including risk analysis. Razrabotka i registratsiia lekarstvennykh sredstv. 2018;(1):96–109. (In Russ.)

8. Romaniuk AA, Moiseev DV. The study of the component composition of the anthraquinones of the laxative fruit joster by the method of high performance liquid chromatography [Elektronnyi resurs]. V: Shchastnyi AT, redactor. Aktual'nye voprosy sovremennoi meditsiny i farmatsii [CD-ROM]. Materialy 71-i nauch-prakt konf studentov i molodykh uchennykh; 2019 Apr 24-25; Vitebsk. Vitebsk, RB: Vitebskii gos med un-t; 2019. s. 829–32. (In Russ.)

9. Kuhach VV. Course of lectures on pharmaceutical technology of medicines: kurs lektsii. 4-e izd, pererab i dop. Vitebsk, RB: Vitebskii gos med un-t; 2012. 349 s. (In Russ.)

Адрес для корреспонденции:

210009, Республика Беларусь,
г. Витебск, пр. Фрунзе, 27,
УО «Витебский государственный ордена
Дружбы народов медицинский университет»,
кафедра организации и экономики фармации
с курсом ФПК и ПК,
тел. раб.: 8 (0212) 60-14-08,
e-mail: annarkdy@gmail.com,
Романюк А. А.

Поступила 22.12.2022 г.