

© ВЕРЕМЧУК О.А., МОИСЕЕВ Д.В., 2015

ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФЛАВОНОИДОВ В ПОБЕГАХ ВЕРЕСКА ОБЫКНОВЕННОГО

ВЕРЕМЧУК О.А., МОИСЕЕВ Д.В.

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», Республика Беларусь

Резюме.

Целью данного исследования было разработать и валидировать методику количественного определения флавоноидов в побегах вереска обыкновенного в пересчете на изокверцитрин при помощи жидкостной хроматографии. Хроматографическое разделение проводили на колонке Zorbax SB C8 (4,6×250 мм, 5 мкм) с подвижной фазой, состоящей из фосфатного буферного раствора pH=3,0 и ацетонитрила (80:20, об./об.). Валидацию разработанной методики количественного определения флавоноидов в побегах вереска обыкновенного проводили по следующим параметрам: специфичность, линейность, правильность, точность, робастность. Зависимость аналитического сигнала (площадь пика изокверцитрина) от концентрации изокверцитрина была линейной в диапазоне концентраций от 50 до 2000 мкг/мл, а коэффициент корреляции был равен 0,9995. Правильность методики устанавливали методом стандартных добавок. Процент открываемости составил 102,1±1,3%. Методика является точной, так как величины относительных стандартных отклонений не превышали 5,0%. Робастность методики подтверждали путем изменения времени экстракции (60±5 мин.), соотношения растворителей (±1%) и скорости подачи подвижной фазы (1,0±0,1 мл/мин.). Исследуемые параметры значимо не влияли на результаты эксперимента, поэтому методику можно считать робастной. Содержание флавоноидов в пересчете на изокверцитрин и сухое сырье в побегах вереска обыкновенного составило 36,8±1,3 мг/г.

Разработанная и валидированная методика количественного определения флавоноидов в побегах вереска обыкновенного методом жидкостной хроматографии является линейной, специфичной, правильной, точной и робастной в пределах диапазона применения и может использоваться при рутинном контроле качества исследуемого сырья.

Ключевые слова: флавоноиды, изокверцитрин, жидкостная хроматография, вереск обыкновенный.

Abstract.

The objective of the present research work was to develop and validate the technique for quantitative determination of flavonoids on dry material in heather shoots by liquid chromatography method.

The chromatographic separation was performed on a Zorbax SB C8 column (4,6×250 mm, 5 μm). The mobile phase comprised phosphate buffer solution pH=3,0 and acetonitrile (80:20 v/v).

Validation of the developed technique of flavonoids quantitative determination in heather shoots was performed with the following characteristics taken into account: specificity, linearity, accuracy, precision (repeatability and intermediate precision) and robustness. The detector response (peak area for isoquercitrin) was linear for concentrations ranging from 50 to 2000 μg/ml and correlation coefficient was 0,9995. The accuracy of the developed technique was checked by carrying out the recovery experiment by using the method of «standard addition». The value of percent recovery was found to be 102,1±1,3%. The technique is precise because the values of relative standard deviations proved to be less than 5,0%. Changes in the extraction time (60±5 min), mobile phase composition (±1%) and rate (1,0±0,1 ml/min) had no significant effect on the detector response, thus the technique may be considered robust. The flavonoids content on isoquercitrin and dry material in heather shoots made up 36,8±1,3 mg/g.

Thus the developed and validated technique for quantitative determination of flavonoids in heather shoots is specific, linear, accurate, precise and robust within the range of application, and can be used for routine quality control of heather shoots.

Key words: flavonoids, isoquercitrin, liquid chromatography, heather.

На современном этапе развития фармацевтической промышленности все большее внимание уделяется получению лекарственных средств и биологически активных добавок к пище на основе лекарственного растительного сырья. Поскольку лекарственные средства на основе растительного сырья содержат в своем составе сложный комплекс биологически активных веществ, то их стандартизация имеет свои особенности. Новые подходы к контролю качества лекарственных средств данной группы требуют проведения количественного определения суммы биологически активных веществ в пересчете на активный и/или маркерный компонент [1]. Наиболее адекватными и селективными методами контроля качества лекарственных средств растительного происхождения следует считать хроматографические методы. При помощи метода жидкостной хроматографии можно не только устанавливать содержание суммы веществ в растительных экстрактах, но и определять содержание индивидуальных компонентов.

Вереск обыкновенный (*Calluna vulgaris* (L.) Hull.) издавна применяется в народной медицине, однако на данный момент не включен в Государственную фармакопею Республики Беларусь. Основными группами соединений, содержащимися в побегах данного растения, являются флавоноиды, фенольные и гидроксикоричные кислоты, проантоцианидины, тритерпеновые соединения, полисахариды и аминокислоты [2]. Среди доминирующих флавоноидов можно отметить кверцетин и его гликозиды: кверцетин-3-β-D-глюкозид (изокверцитрин), кверцетин-3-β-D-галактозид (гиперозид), кверцетин-3-β-D-арабинозид (авикулярин), а также каллюнин и кемпферол-3-β-D-галактозид [2-4]. Следует отметить, что присутствие отдельных веществ в побегах вереска, а также их содержание может варьировать в зависимости от условий произрастания (климатические условия, количество солнечной радиации, состав почвы и т.д.) [2].

Известно, что кверцетин способен оказывать противовоспалительное, антиканцерогенное, антиоксидантное и кардиопротекторное действие [5]. Установлено, что моногликозиды кверцетина (например, изокверцитрин, гиперозид) обладают большей биодоступностью при приеме внутрь, поскольку их всасывание происходит с участием Na-зависимых пере-

носчиков сахаров (GLUT1 и GLUT2) [6]. В энтероцитах моногликозиды подвергается гидролизу до агликона и дальнейшей его биотрансформации. Таким образом, можно говорить об изокверцитрине и гиперозиде как о биологических предшественниках кверцетина. Кроме того, группой бразильских исследователей была установлена диуретическая и калий-сберегающая активность изокверцитрина в эксперименте на мышах, сопоставимая с активностью гидрохлортиазида [7].

В последние годы было обнаружено, что фенольные соединения растительного происхождения способны оказывать разнообразное действие на нервную систему, взаимодействовать со специфическими рецепторами на поверхности нейронов и клеток микроглии, защищать нервные клетки от окислительного стресса [8, 9]. Многие флавоноиды, такие как кверцетин, рутин, гесперидин, бифлавоноиды гинкго двулопастного, нарингенин и др., обладают способностью воздействовать на когнитивные функции и поведенческие реакции [6]. Механизмы действия этих веществ, а соответственно и профиль их активности различны и связаны с химической структурой, которая обуславливает их способность связываться с теми или иными рецепторами. Например, кверцетин, выделенный из вереска обыкновенного, способен проникать через гематоэнцефалический барьер, а его ингибирующая активность в отношении моноаминоксидазы А (МАО-А, фермента, участвующего в превращении биогенных аминов) сопоставима с активностью синтетических лекарственных средств [10]. Ингибиторы МАО применяются для лечения депрессивных состояний и болезни Паркинсона. Кроме того, действие кверцетина может проявляться в улучшении памяти и способности к обучению у животных после интоксикации, а также в защите нейронов гиппокампа [6].

Поскольку изокверцитрин является одним из доминирующих соединений побегов вереска обыкновенного (образцы были заготовлены на территории Брестской, Витебской, Гомельской, Гродненской, Минской и Могилевской областей Республики Беларусь) и может рассматриваться как биологический предшественник кверцетина, то мы предлагаем использовать его в качестве маркерного соединения при стандартизации исследуемого растительного сырья.

Целью данного исследования было разработать и валидировать методику количественного определения флавоноидов в побегах вереска обыкновенного в пересчете на изокверцитрин при помощи жидкостной хроматографии.

Материалы и методы

Для работы использовали стандартный образец изокверцитрина (Sigma Aldrich, чистота более 98,0% HPLC), ацетонитрил (Merck, HPLC), калия дигидрофосфат (ч.д.а.), кислоту ортофосфорную (х.ч.), воду высокоочищенную (Milli-Q).

Объектом исследования служили побеги вереска обыкновенного, заготовленные в местах естественного произрастания Витебской области, измельченные до размера частиц 750 мкм.

Определение суммы флавоноидов проводили при помощи метода жидкостной хроматографии в пересчете на изокверцитрин как доминирующий и маркерный компонент.

Условия хроматографирования: хроматограф Agilent 1100 в комплекте с системой подачи и дегазации на четыре растворителя G1311A, диодно-матричным детектором G1315B, термостатом колонок G1316A, устройством для автоматического ввода образцов (автосэмплер) G1313A; колонка Zorbax SB 4,6×250 мм с размером частиц октильного силикагеля 5 мкм, температура колонки 30°C. Состав подвижной фазы: 0,01 М фосфатный буферный раствор с pH=3,0 и ацетонитрил в объемном соотношении 80:20. Режим элюирования изократический. Объем пробы 20 мкл. Длина волны детекции 360 нм. Для оценки полученных данных использовано компьютерное обеспечение Agilent Chem Station for LC 3D.

Приготовление раствора стандартного образца изокверцитрина (1000 мкг/мл): около 10,00 мг стандартного образца изокверцитрина (точная навеска) помещали в мерную колбу на 10,00 мл и добавляли 5 мл 60% спирта этилового (далее – растворитель). Содержимое колбы обрабатывали в ультразвуковой ванне до полного растворения изокверцитрина. Доводили объем до метки растворителем.

Приготовление раствора образца: около 2,0 г измельченного сырья (точная навеска) помещали в стеклянную колбу объемом 250

мл, добавляли 50,0 мл растворителя, взвешивали и нагревали на кипящей водяной бане с обратным холодильником в течение 60 минут [11]. Затем колбу охлаждали, доводили до первоначальной массы растворителем, центрифугировали при 15000 об./мин. и инжесктировали в хроматограф.

Приготовление подвижной фазы: подвижная фаза, использованная в данной работе, представляет собой смесь 0,01 М фосфатного буферного раствора с pH=3,0 и ацетонитрила в объемном соотношении 80:20, которую пропускали через мембранный фильтр с диаметром пор 0,45 мкм. Скорость подачи подвижной фазы составляла 1,0 мл/мин.

Результаты

По результатам хроматографического анализа побегов вереска обыкновенного проводили идентификацию фенольных соединений. Для этого сравнивали времена удерживания и спектральные характеристики исследуемых пиков и пиков стандартных образцов (рис. 1).

При анализе компонентного состава флавоноидов побегов вереска обыкновенного было установлено, что одним из доминирующих соединений является изокверцитрин (кверцетин-3-β-D-глюкозид), а сумма площадей пиков изокверцитрина, гиперозида и кверцетина составляет более 80% от суммы площадей всех обнаруженных флавоноидов (табл. 1).

Валидация методики

Основными параметрами, которые следует учитывать при валидации методики количественного определения, являются: специфичность, линейность, точность, правильность, диапазон применения и робастность. Также для методик жидкостной хроматографии предусмотрено проведение проверки пригодности хроматографической системы [1, 12].

Специфичность разработанной методики устанавливали путем сравнения хроматограмм, полученных для растворителя, раствора стандартного образца и испытуемого раствора. На хроматограмме растворителя не было обнаружено пиков с временем удерживания, близким к времени удерживания пика изокверцитрина. Подобренные условия хроматографирования позволяют получить

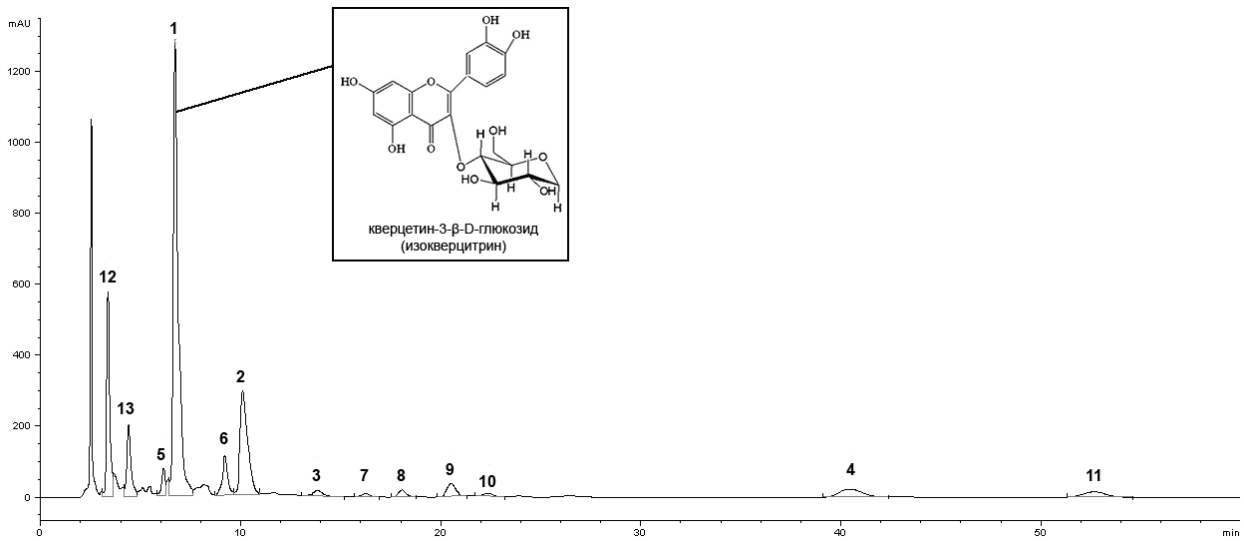


Рисунок 1 – Хроматограмма спиртового извлечения из побегов вереска обыкновенного:
 1 – изокверцитрин; 2 – гиперозид; 3 – кемпферол-3-β-D-галактозид; 4 – кверцетин; 5 – рутин;
 6 – лютеолин-7-глюкозид; 7,8,10 – не идентифицированный флавоноид; 9 – гербацетин-8-глюкозид;
 11 – лютеолин; 12 – хлорогеновая кислота; 13 – 4-гидроксибензойная кислота.

Таблица 1 – Компонентный состав флавоноидов спиртового извлечения из побегов вереска обыкновенного в % от общей суммы

Флавоноид	ОВУ	Содержание, %*
Рутин	0,9	2,9
Изокверцитрин	1	59,0
Лютеолин-7-глюкозид	1,4	3,0
Гиперозид	1,5	18,1
Кемпферол-3-β-D-галактозид	2,1	1,4
Не идентифицированный флавоноид 1	2,4	0,6
Не идентифицированный флавоноид 2	2,7	1,4
Гербацетин-8-глюкозид	3,1	2,9
Не идентифицированный флавоноид 3	3,3	0,8
Кверцетин	6,0	6,6
Лютеолин	7,8	3,3

Примечание: ОВУ – относительное время удерживания (по отношению к изокверцитрину, $t_R=6,7$ мин.), * – процентное содержание индивидуальных фенольных соединений рассчитано методом внутренней нормализации, исходя из площадей отдельных пиков на хроматограммах и суммы площадей хроматографических пиков, принадлежащих фенольным соединениям.

хроматограммы с достаточным разрешением между пиком изокверцитрина и соседними с ним пиками ($R_1=1,6$ и $R_2=1,8$). Спектральная чистота пика изокверцитрина в испытуемом растворе составила не менее 99,2%, селективность (α) = 1,2, а коэффициент асимметрии был в диапазоне от 0,9 до 1,0.

Линейность методики устанавливали путем построения градуировочного графика зависимости аналитического сигнала (площади пика) от концентрации раствора стандарта в

диапазоне от 50 до 2000 мкг/мл. Эксперимент выполняли в трех повторностях в течение двух дней. Градуировочный график приведен на рисунке 2. Коэффициент корреляции составил 0,9995.

Правильность аналитической методики представляет собой степень соответствия между известным истинным значением или справочной величиной и значением, полученным по разработанной методике. Для подтверждения правильности разработанной ме-

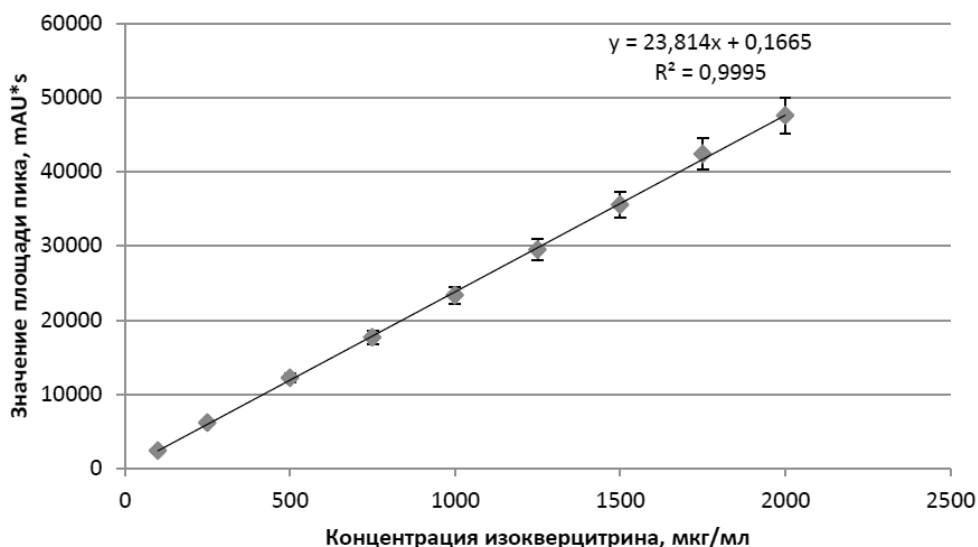


Рисунок 2 – Градуировочный график раствора стандартного образца изокверцитрина (n=6).

Таблица 2 – Результаты проверки методики на правильность

№	Исходная конц., (мкг/мл)	Добавка, мкг	Найдено, мкг/мл	% Открываемости	%RSD
1	1413,00	180	1634,98	101,5	1,05
2	1386,63	180	1602,59	99,6	
3	1361,95	180	1609,77	100,3	
Среднее				100,5±2,4	
1	1338,20	280	1618,07	105,7	0,49
2	1318,96	280	1630,01	104,3	
3	1351,37	280	1633,13	102,0	
Среднее				104,0±4,1	
1	1383,65	440	1696,75	104,4	0,24
2	1442,28	440	1688,85	101,0	
3	1447,58	440	1693,60	100,4	
Среднее				101,9±5,3	
Среднее				102,1±1,3	0,36

тодики количественного определения суммы флавоноидов в побегах вереска обыкновенного проводили серию анализов исследуемых растворов методом добавок. В спиртовые извлечения из побегов вереска обыкновенного вносили раствор стандартного образца с содержанием изокверцитрина 40%, 60% и 100% от номинальной концентрации флавоноидов в испытуемом растворе. Полученные растворы анализировали в трех повторностях каждый и учитывали сумму площадей пиков флавоноидов на хроматограммах. Среднее значение процента открываемости составило 102,1±1,3% (табл. 2).

Поскольку при анализе трех серий растворов величины RSD% не превышали до-

пустимые пределы критерия приемлемости (2,0%), а отклонения открываемости не превышали 5,0% можно сделать вывод о том, что разработанная методика является правильной.

Точность аналитической методики определяли по таким параметрам, как сходимость и внутрилабораторная точность. Сходимость устанавливали путем трехкратного анализа трех растворов образцов в один и тот же день, одним и тем же аналитиком, в одной и той же лаборатории. Записывали суммы площадей пиков флавоноидов и рассчитывали их содержание в образце. Значение RDS% составило 1,5%, что не превышает предельного значения критерия приемлемости (5,0%). Внутрилабораторную точность определяли путем анализа

растворов образцов в течение двух дней двумя аналитиками. Записывали суммы площадей пиков флавоноидов. Результаты точности выражали в процентах относительного стандартного отклонения суммы площадей пиков флавоноидов (табл. 3).

Согласно полученным результатам методика является точной и воспроизводимой, поскольку полученные значения RSD% не превышают предельного значения критерия приемлемости (5,0%).

Робастность методики устанавливали путем незначительных изменений в составе подвижной фазы, скорости потока, времени экстракции. Изменяли соотношение ацетонитрила и фосфатного буфера в подвижной фазе ($\pm 1\%$). Результаты, полученные при анализе побегов вереска в измененных условиях, значимо не отличались от исходных данных (при $p=0,05$). Скорость потока изменяли от 0,9 мл/мин до 1,1 мл/мин (табл. 4). Изменение скорости потока значимо не повлияло на величину площади пика изокверцитрина. В целом, изменения в методике не повлияли на стабильность системы, однако наблюдалось незначительное смещение времени удерживания при изменении соотношения компонентов подвижной фазы.

Также определяли стабильность растворов стандартного образца и испытуемого раствора путем сравнения суммы площадей пиков флавоноидов и стандартного образца через равные промежутки времени в течение 24 часов при комнатной температуре. В ре-

зультате было установлено, что площадь пика стандартного образца изокверцитрина и сумма площадей флавоноидов оставались неизменными на протяжении 24 часов (разность между величиной аналитического сигнала не превышала 2,0% относительно исходной концентрации).

Пригодность хроматографической системы проверяли путем анализа раствора стандартного образца изокверцитрина с концентрацией 500 мкг/мл в шести повторностях. Значения относительного стандартного отклонения площадей пиков и времен удерживания принимали за показатель пригодности системы. Данные значения не превышали предела критерия приемлемости (2,0%), таким образом, можно сказать, что методика пригодна для анализа. В таблице 5 приведены обобщенные результаты валидации методики количественного определения изокверцитрина в побегах вереска обыкновенного.

Обсуждение

Таким образом, нами предлагается проводить количественное определение флавоноидов в побегах вереска обыкновенного по следующей методике: точную навеску массой около 2,0 г измельченных побегов вереска обыкновенного помещают в стеклянную колбу объемом 250 мл, добавляют 50,0 мл 60% спирта этилового (об./об.), взвешивают и нагревают на кипящей водяной бане с обратным холодильником в течение 60 минут. Затем кол-

Таблица 3 – Результаты определения точности методики

Параметр	RSD%	
	Сходимость	1,5
Внутрилабораторная точность	День 1	День 2
Аналитик 1	4,6	4,4
Аналитик 2	3,4	3,1

Таблица 4 – Результаты определения робастности методики

Параметр	Содержание изокверцитрина в образце, мг/г*		
	Состав ПФ	19:18	20:80
	36,9 \pm 0,6	37,7 \pm 1,2	37,5 \pm 0,2
Скорость подачи ПФ	0,9 мл/мин	1,0 мл/мин	1,1 мл/мин
	37,0 \pm 0,3	37,7 \pm 1,2	37,2 \pm 0,7
Время экстракции	55 минут	60 минут	65 минут
	38,3 \pm 0,9	37,7 \pm 1,2	38,2 \pm 1,5

Примечание: * – Результаты приведены в виде $X_{ср.} \pm \Delta X_{ср.}$ при $p=0,05$.

Таблица 5 - Данные по валидации методики количественного определения суммы флавоноидов в побегах вереска обыкновенного

Параметр	Результат
Диапазон линейности (n=3) (мкг/мл)	50 – 2000
Коэффициент корреляции (r)	0,999
Пригодность хроматографической системы (n=8)	RSD% = 0,8
RSD% для сходимости (n=6)	1,5
RSD% для внутрिलाбораторной точности (n=9)	3,9

бу охлаждают, доводят до первоначальной массы 60% спиртом этиловым (об./об.), центрифугируют при 15000 об./мин. и инжестируют в хроматограф. Получают не менее пяти хроматограмм и записывают сумму площадей пиков изокверцитрина, гиперозида и кверцетина. Расчет содержания флавоноидов (%) в пересчете на изокверцитрин и сухое сырье проводят по формуле:

$$X = \frac{S \times C_{ст} \times 50}{S_{ст} \times g \times (100 - w)}$$

где:

S – сумма площадей пиков изокверцитрина, гиперозида и кверцетина на хроматограмме испытуемого образца;

$C_{ст}$ – концентрация раствора стандартного образца, в мг/мл;

$S_{ст}$ – площадь пика изокверцитрина на хроматограмме раствора стандартного образца;

g – масса навески сырья, в г;

w – потеря в массе при высушивании, в %.

Разработанную и валидированную методику использовали для количественного определения флавоноидов в побегах вереска обыкновенного. Среднее содержание флавоноидов в побегах вереска обыкновенного составило $36,8 \pm 1,3$ мг/г в пересчете на изокверцитрин и сухое сырье (3,7%). При анализе спектрофотометрическим методом, содержание флавоноидов в побегах вереска обыкновенного в пересчете на изокверцитрин и сухое сырье составило $10,6 \pm 1,6\%$. Такие расхождения в результатах можно объяснить тем, что некоторые гидроксикоричные кислоты (например, хлорогеновая и кофейная кислоты) также вступают в реакцию с алюминия хлоридом и поглощают в области 410 нм, что значительно искажает результаты измерений. В побегах вереска обыкновенного содержится достаточно большое (около 1,0%) количество хлорогено-

вой кислоты, не считая остальные кислоты, которые могут вступать в реакцию с алюминия хлоридом. Таким образом, разработанная методика количественного определения флавоноидов в побегах вереска обыкновенного методом жидкостной хроматографии является более селективной по сравнению со спектрофотометрической.

Заключение

Разработана и валидирована методика количественного определения флавоноидов в побегах вереска обыкновенного при помощи жидкостной хроматографии. Предложенная методика является линейной, специфичной, правильной, точной и робастной в пределах диапазона применения и может использоваться при рутинном контроле качества побегов вереска обыкновенного.

При помощи разработанной методики установили содержание флавоноидов в побегах вереска обыкновенного, которое составило $36,8 \pm 1,3$ мг/г в пересчете на изокверцитрин и сухое сырье.

Литература

1. ТКП 451-2012 (02041), ВУ. Производство лекарственных средств. Спецификации: методы испытаний и критерии приемлемости для лекарственного растительного сырья, продуктов из лекарственного растительного сырья и лекарственных средств растительного происхождения. – Введ. 29.11.12. – Минск : Департамент фармацевтической промышленности Министерства здравоохранения Республики Беларусь, 2012. – 17 с.
2. Phytochemistry of Heather (*Calluna vulgaris* (L.) Hull.) and its altitudinal alteration / M. Monschein [et al.] // *Phytochem Rev.* – 2010. – Vol. 9. – P. 205-215.

3. Jalal, M. A. F. Phenolic composition and its seasonal variation in *Calluna vulgaris* / M. A. F. Jalal, D. J. Read, E. Halsamt // *Phytochemistry*. – 1982. – Vol. 21, N 6. – P. 1397-1401.
4. Bioassay-guided isolation of kaempferol-3-O- β -d-galactoside with anti-inflammatory and antinociceptive activity from the aerial part of *Calluna vulgaris* L. / I. Orhan [et al.] // *Journal of Ethnopharmacology* – 2007 Oct. – Vol. 114, N 1. – P. 32-37.
5. Anti-inflammatory, antioxidant and anticancer activity of Quercetin and its analogues / U. J. Joshi [et al.] // *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*. – 2011. – Vol. 2, N 4. – P. 1756-1766.
6. Флавоноиды: биохимия, биофизика, медицина / Ю. С. Тараховский [и др.]. – Пушино: Synchronbook, 2013. – 310 с.
7. Diuretic and potassium-sparing effect of isoquercitrin-an active flavonoids of *Tropaneolium majus* L. / A. J. Gasparotto [et al.] // *J. of Ethnopharmacol.* – 2011 Mar. – Vol. 134, N 2. – P. 210-215.
8. Jäger, A. K. Flavonoids and CNS / A. K. Jäger, L. Saaby // *Molecules*. – 2011 Feb. – Vol. 16, N 2. – P. 1471-1485.
9. Molecular mechanisms of the neuroprotective/neurorescue action of multi-target green tea polyphenols / S. A. Mandel [et al.] // *Front. Biosci.* (Schol. Ed). – 2012 Jan. – Vol. 4. – P. 581-598.
10. Saaby, L. MAO-A inhibitory activity of quercetin from *Calluna vulgaris* (L.) Hull. / L. Saaby, H. B. Rasmussen, A. K. Jäger // *Journal of Ethnopharmacology*. – 2009. – Vol. 121, N 1. – P. 178-181.
11. Орлова, О. А. Подбор оптимальных условий экстракции из вереска обыкновенного / О. А. Орлова // *Актуальные вопросы современной медицины и фармации : материалы 65-й итоговой науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых, 24-25 апр. 2013 года.* – Витебск, 2013. – С. 398-399.
12. Государственная фармакопея Республики Беларусь. В 3 т. Т. 1. Общие методы контроля качества лекарственных средств / под общ. ред. Г. В. Годовальникова. – Минск : Минский государственный ПТК полиграфии, 2006. – 656 с.

Поступила 30.12.2014 г.

Принята в печать 06.02.2015 г.

Сведения об авторах:

Веремчук О.А. - аспирант кафедры стандартизации лекарственных средств с курсом ФПК и ПК УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»;

Моисеев Д.В. – к.ф.н., доцент, заведующий кафедрой стандартизации лекарственных средств с курсом ФПК и ПК УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет».

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210023, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», кафедра стандартизации лекарственных средств с курсом ФПК и ПК. E-mail: orlova-oa@mail.ru – Веремчук Оксана Александровна.