

УДК 543.544



РАЗРАБОТКА НОРМ КАЧЕСТВА ОБРАЗЦОВ МОДЕЛЬНОГО СОСТАВА ГРАНУЛИРОВАННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ С ГЛУТАТИОНОМ ВОССТАНОВЛЕННЫМ

К.А. Алексеева¹, Д.И. Писарев¹, А.Ю. Малютина¹, Е.Т. Жилиякова¹,
З.Е. Цветкова¹, Ю.А. Полковникова²

¹ ФГАОУ ВО НИУ «Белгородский государственный университет» Минобрнауки России
308015, Россия, г. Белгород, ул. Победы, 85

² ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет» Минобрнауки России
394018, Россия, г. Воронеж, Университетская пл., 1

E-mail: pisarev@bsu.edu.ru

Поступила в редакцию: 14.01.2019

Принята к печати: 25.02.2019

Биологически активные серосодержащие соединения (БАСС) проявляют ярко выраженные антиоксидантные свойства. Особое положение из числа данных соединений занимает глутатион восстановленный (GSH). Он представляет собой ключевое звено 3-х антиоксидантных систем организма из существующих четырех. Исходя из вышесказанного, нами была предложена лекарственная форма на основе GSH, обладающая антиоксидантными свойствами. **Целью** данного исследования является разработка модельной гранулированной лекарственной формы на основе GSH и методики ее анализа с помощью предколонной дериватизации орто-фталевым альдегидом. **Материалы и методы.** В качестве объекта исследования использовали GSH и гранулированную лекарственную форму на основе GSH, полученную методом влажного гранулирования. Оценку количественного содержания GSH в полученных гранулах, проводился с помощью предколонной дериватизации методом обращено-фазной высокоэффективной хроматографии (ОФ ВЭЖХ). В качестве дериватирующего агента использован орто-фталевый альдегид. Для обнаружения образовавшегося деривата был применен диодно-матричный детектор. **Результаты.** В ходе работы была создана модельная лекарственная форма – гранулы на основе GSH. Исходя из рекомендаций по дозировке препарата подобрана концентрация действующего вещества. В качестве вспомогательного компонента была выбрана лактоза. Изучены физические и технологические характеристики модельного образца гранул с GSH и лактозой в качестве наполнителя. Разработана и валидирована методика количественного определения GSH в гранулах с использованием предколонной дериватизации орто-фталевым альдегидом методом ВЭЖХ. **Заключение.** Разработанная гранулированная лекарственная форма по анализируемым показателям соответствует требованиям, приведенным в ОФС «Гранулы». При помощи валидационной оценки установлено, что разработанная методика количественного определения GSH в гранулах является правильной, прецизионной и специфичной. **Ключевые слова:** глутатион восстановленный, орто-фталевый альдегид, гранулы, обращенно-фазная высокоэффективная жидкостная хроматография, дериватизация, валидация

Для цитирования: К.А. Алексеева, Д.И. Писарев, А.Ю. Малютина, Е.Т. Жилиякова, З.Е. Цветкова, Ю.А. Полковникова. Разработка норм качества образцов модельного состава гранулированной лекарственной формы с глутатионом восстановленным. *Фармация и фармакология*. 2019;7(1):13-19. DOI:10.19163/2307-9266-2019-7-1-13-19

© К.А. Алексеева, Д.И. Писарев, А.Ю. Малютина, Е.Т. Жилиякова, З.Е. Цветкова, Ю.А. Полковникова, 2019

For citation: K.A. Alekseeva, D.I. Pisarev, A.Yu. Malyutina, E.T. Zhilyakova, Z.E. Tsvetkova, Yu.A. Polkovnikova. Working out quality standards of model composition samples of granulated dosage form with glutathione restored. *Pharmacy & Pharmacology*. 2019;7(1): 13-19. DOI:10.19163/2307-9266-2019-7-1-13-19

WORKING OUT QUALITY STANDARDS OF MODEL COMPOSITION SAMPLES OF GRANULATED DOSAGE FORM WITH GLUTATHIONE RESTORED

K.A. Alekseeva¹, D.I. Pisarev¹, A.Yu. Malyutina¹, E.T. Zhilyakova¹,
Z.E. Tsvetkova¹, Yu.A. Polkovnikova²

¹Belgorod State National Research University
85, Pobeda Str., Belgorod, Russia, 308015

²Voronezh State University
1, Universitetskaya Sq., Voronezh, Russia, 394006

E-mail: pisarev@bsu.edu.ru

Received: 14.01.2019

Accepted for publication: 25.02.2019

Biologically active sulfur-containing compounds (BASC) exhibit pronounced antioxidant properties. Glutathione reduced (GSH) occupies a particular position among these compounds. It represents a key link in the 3 antioxidant systems of the body from the existing four. Based on the foregoing, a GSH-based dosage form with antioxidant properties was proposed. The aim of this study is to work out a model granulated dosage form based on GSH and methods of its analysis by means of pre-column derivatization with ortho-phthalic aldehyde. Materials and methods. GSH and granulated dosage form based on GSH obtained by wet granulation were used as the object of study. Quantitative evaluation of GSH content in the obtained granules was carried out using pre-column derivatization using the method of reversed-phase high-performance chromatography (RP HPLC). Ortho-phthalic aldehyde was used as a derivatizing agent. A diode-array detector was used to detect the resulting derivative. Ortho-phthalic aldehyde was used as a derivatizing agent. A diode-matrix detector was used to find out the resulting derivative. Results. In the course of the work, a model dosage form was created – granules based on GSH. By reference to the recommendations on the dosage of the drug, the concentration of the active substance was selected. Lactose was chosen as an auxiliary component. Physical and technological characteristics of a model sample of granules with GSH and lactose as a filler were studied. A method of quantitative determination of GSH in granules using pre-column derivatization with ortho-phthalic aldehyde was developed and validated by HPLC. The method of quantitative determination of GSH in granules with the use of pre-column derivatization by ortho-phthalic aldehyde by HPLC was developed and validated. Conclusion. The developed granulated dosage form meets the requirements given in the EF "Granules" according to the analyzed indicators. Using the validation evaluation it was established, that the developed method for the quantitative determination of GSH in granules is correct, precise and specific.

Keywords: reduced glutathione, ortho-phthalic aldehyde, granules, reverse phase high performance liquid chromatography, derivatization, validation

ВВЕДЕНИЕ

Глутатион восстановленный (GSH) – трипептид, содержащий в своем составе аминокислотные остатки L-глутаминовой кислоты, глицина и L-цистеина. GSH является одним из неферментативных компонентов, принимающих участие в антиоксидантной защите живых организмов. Он выступает действенным антирадикальным средством и играет ключевую роль в жизненном цикле клеток, обуславливая их защиту от свободных радикалов, гидропероксидов и ксенобиотиков [1, 2]. Статус GSH является индикатором функциональности и жизнеспособности клеток [3, 4]. Истощение или изменение его уровня внутри клетки провоцирует ряд таких заболеваний, как онкологические, нейродегенеративные, сердечно-сосудистые [5, 6].

Исследования *in vitro* и *in vivo* подтверждают, что дефицит GSH может послужить причиной гибели клеток и повреждений митохондрий вследствие повышения количества токсичных форм кисло-

да и роста численности свободных радикалов [7]. GSH способен предупреждать разрушение клеток посредством конъюгации с токсичными веществами и их метаболитами. Глутатионовая конъюгация занимает одно из центральных мест в механизмах биотрансформации ряда ксенобиотиков [8–10]. На сегодняшний день известно более сорока типов химических соединений, которые вступают в реакции с GSH. Сопрягающим фактором подобного рода реакций является наличие электрофильного центра, способного реагировать с SH-группой GSH [11]. Следовательно, система обезвреживания ксенобиотиков с участием GSH имеет ключевую роль в формировании резистентности организма к разным воздействиям и представляет собой один из самых важных защитных механизмов клетки. При этом конъюгаты GSH с ксенобиотиками менее реакционноспособны и более гидрофильны, чем исходные вещества, поэтому менее токсичны и быстрее элиминируются из организма [12, 13]. GSH также

способен предотвращать внедрение липофильных токсикантов в липидный бислой мембран [14]. GSH обладает мембраностабилизирующим действием на гепатоциты, увеличивает активность ферментов и способствует детоксикации и восстановительной активности печени посредством обезвреживания свободных радикалов [15].

Учитывая спектр фармакологической активности глутатиона, нами была предложена лекарственная форма с GSH, обладающая выраженными антиоксидантными свойствами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В качестве объекта исследования использовали глутатион восстановленный (CAS №70-18-8, ЕС № 2007254, *Applichem*, Германия) и вспомогательное вещество – лактозу. Выбор данного компонента объясняется возможностью его применения в качестве наполнителя, корригента и агента, регулирующего некоторые технологические показатели гранул (прочности, распадаемости и т.д.).

Преимущества лактозы как вспомогательного вещества [16]:

- инертный материал, высокая чистота, нейтральная окраска;
- влагоустойчивость;
- физическая и химическая стабильность;
- хорошо подвергается измельчению и просеиванию;
- высокая степень кристаллизации, низкая степень аморфности.

Угол смачивания GSH водой меньше 90° и составляет 45±5°, из чего сделан вывод о том, что GSH является гидрофильной субстанцией, поэтому в качестве увлажнителя в модельном образце гранул использовалась вода очищенная.

Для получения модельного образца гранул применяли метод влажного гранулирования. Формирование гранул происходит в результате продавливания увлажненной массы через перфорированное сито.

Технологические характеристики полученных гранул определяли с использованием изложенных ниже методик.

Степень сыпучести гранул устанавливали по методике ГФ XIV издания (ОФС «Степень сыпучести порошков»), используя вибрационное устройство – ВП-12А (ЖЗТО). Размеры полученных гранул определяли с помощью ситового анализа в соответствии с ГФ XIV (ОФС «Ситовой анализ»). Испытание «распадаемости» осуществляли на тестере распадаемости «Качающаяся корзинка» в соответствии с ГФ XIV (ОФС «Гранулы»). Результаты теста «Растворение» отмечали на тестере растворения «Мешалка лопастная» в соответствии с ОФС.1.4.2.0014.15.

Количественное определение GSH в гранулированной лекарственной форме проводили методом обращенно-фазной высокоэффективной хроматографии с помощью предколонной дериватизации данного терапевтического агента *орто*-фталевым альдегидом [17].

Анализ проводили на хроматографе «*Agilent Technologies 1200 Infinity*» с автоматическим пробоотборником, вакуумным микродозатором, градиентным насосом и термостатом. Условия градиентного хроматографирования: подвижная фаза (А) – 1% водный раствор кислоты муравьиной, (Б) – спирт этиловый 95%; колонка: *Ascentis express C18* 2,7 дм × 100 мм × 4,6 мм; скорость подвижной фазы: 0,5 мл/мин; температура колонки: +35±0,01°С; объем вводимой пробы: 1 μл.

У GSH отсутствуют хромофоры, пригодные для его анализа методами УФ-спектроскопии и ВЭЖХ с диодно-матричным детектированием. В связи с этим нами предложен анализ GSH методом ВЭЖХ путем его химической трансформации дериватирующим агентом – *орто*-фталевым альдегидом. В результате реакции полученный дериват GSH и *орто*-фталевого альдегида приобретает хромофорную метку, которую и фиксируют в ходе хроматографического анализа с помощью диодно-матричного детектирования.

Методика дериватизации гранул на основе глутатиона

1 мл 0,1%-ного раствора гранул глутатиона в 0,05 М водном растворе натрия тетрабората помещали в склянку для анализа вместимостью 10 мл, добавляли 1 мл 0,35%-ного раствора *орто*-фталевого альдегида в этаноле, тщательно взбалтывали и сразу хроматографировали.

Приготовление модельных испытуемых растворов при валидационной оценке методики

Характеристики правильности и прецизионности исследовали на модельных образцах препарата с концентрациями глутатиона, которые соответствовали 80%, 85%, 90%, 95%, 100%, 105%, 110%, 115% и 120% их содержания по отношению к номинальному значению. Для приготовления модельных образцов препарата использовали мерные колбы вместимостью 25 мл. Навески брали непосредственно из компонентов препарата. Массы навесок и концентрации полученных растворов глутатиона приведены в таблице 2.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На основании полученных экспериментальных данных была создана модельная лекарственная форма – гранулы на основе глутатиона. Концентрация действующих веществ выбрана исходя из рекомендаций по дозировке препарата (0,05–0,5 г). Состав гра-

нул на однодозовый пакет фасовкой 3,0 г: глутатион – 0,1 г, лактоза – 2,9 г.

На следующем этапе работы были определены

органолептические, физические и технологические показатели гранул на основе глутатиона. Результаты исследования представлены в таблице 1.

Таблица 1. Фармацевтико-технологические характеристики гранулированной модельной лекарственной формы на основе GSH

Исследуемый показатель	Методика определения	Значения, полученные экспериментальным путем	Референтные значения
Размер гранул	<u>ОФС.1.1.0015.15</u>	1,0–1,2 мм	Крупная фракция: >1,2 мм Средняя фракция: 1,2 мм Мелкая фракция: 1,0 мм
Форма гранул	<u>ОФС.1.2.1.0009.15</u>	Анизодиаметрическая (удлиненная)	Удлиненная: >3:1 Пластинчатая: 3:1 Равноосная: 1:1
Насыпная плотность	<u>ОФС.1.4.2.0016.15</u>	460,10 ± 1,31 кг/м ³ (Легкие)	Весьма тяжелые: >2000 кг/м ³ Тяжелые: 1100–2000 кг/м ³ Средние: 600–1100 кг/м ³ Легкие: < 600 кг/м ³
Сыпучесть	<u>ОФС.1.4.2.0016.15</u>	7,14 ± 0,25 г/с (Хорошая)	Отличная: 8,6–12,0 г/с Хорошая: 6,6–8,5 г/с Удовлетворительная: 3,0–6,5 г/с Допустимая: 2,0–3,0 г/с Плохая: 1,0–2,0 г/с Очень плохая: <1,0 г/с
Распадаемость	<u>ОФС.1.4.2.0013.15</u>	4 ± 2 минут	До 15 минут
Прочность	<u>ОФС.1.4.2.0004.15</u>	98,5 ± 0,5%	Не менее 97%
Высвобождение глутатиона	<u>ОФС.1.4.2.0014.15</u>	99,9 ± 0,50% (в течение 15 минут)	75% (в течение 45 минут)
Растворимость гранул в воде	<u>ОФС.1.2.1.0005.15</u>	Растворимы (1:30)	Очень легко растворимы: до 1 мл/г; Легко растворимы: 1–10 мл/г; Растворимы: 10–30 мл/г; Умеренно растворимы: 30–100 мл/г; Мало растворимы: 100–1000 мл/г; Очень мало растворимы: 1000–10000 мл/г Практически не растворимы: более 10000 мл/г
Потеря в массе при высушивании	<u>ОФС.1.2.1.0010.15</u>		1,5 ± 1%
Однородность дозирования	<u>ОФС.1.4.2.0008.15</u>		Выполняется
Содержание глутатиона, г	ОФ ВЭЖХ 100,0 ± 0,39%		100,09 ± 0,39%

Согласно данным таблицы 1 гранулы на основе глутатиона представляют собой удлиненные частицы размером 1,0–1,2 мм, относятся к легким крупинкам и обладают удовлетворительной сыпучестью. По показателям, приведенным в ОФС «Гранулы» (распадаемость, однородность дозирования, растворение), данная лекарственная форма соответствует требованиям. Гранулы на основе глутатиона можно использовать для наполнения капсул, а также в качестве самостоятельной лекарственной формы. Разработанные гранулы растворимы в холодной воде. Гранулы на основе глутатиона – лекарственная форма для приема внутрь с предварительным растворением в жидкости.

С целью количественного определения GSH в гранулированной лекарственной форме разработана

методика предколоночной дериватизации орто-фталевым альдегидом. Дериватизация с указанным модификатором происходит обычно в течение 2–3 минут. Образующийся продукт легко определяется с помощью диодно-матричного или флуориметрического детектора. Длина волны образующегося деривата обычно составляет $\lambda = 337$ нм. Молярные соотношения орто-фталевого альдегида и глутатиона равны 3,5:1. При хроматографировании ОРНА-деривата глутатиона наблюдается один пик со временем удерживания 18,066 мин. В УФ-спектре деривата обнаруживается несколько максимумов поглощения, наиболее специфичным из которых является $\lambda_{\text{max}} = 336$ нм. При этом пик самого дериватизатора не виден, из-за иного максимума поглощения деривата (рисунок 1).

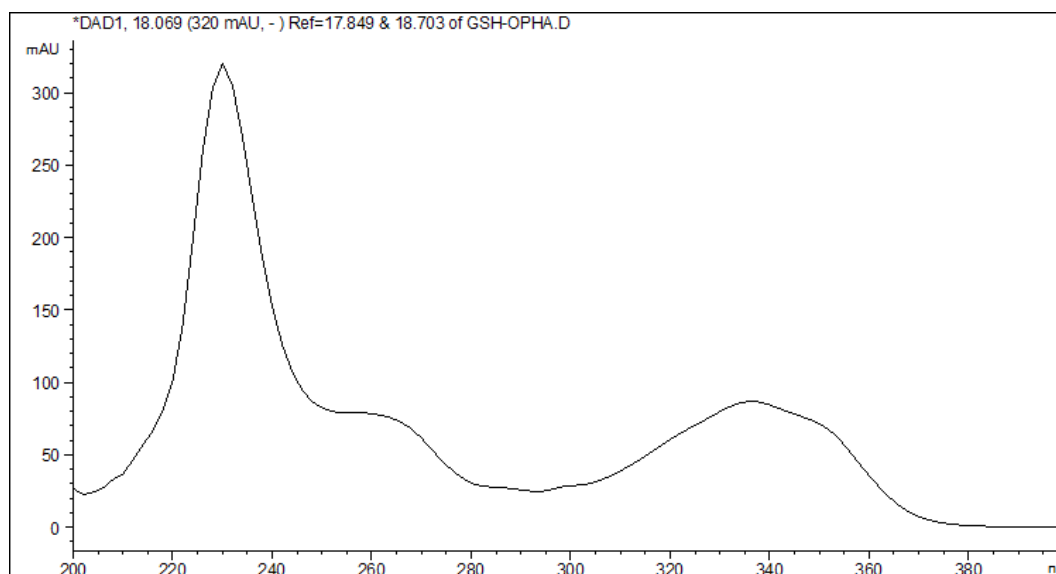


Рисунок 1. УФ-спектр деривата орто-фталевого альдегида с GSH при длине волны 336 нм в гранулированной лекарственной форме

Для подтверждения возможности использования предложенной нами методики идентификации и количественного определения глутатиона методом предколоночной дериватизации орто-фталевым альдегидом в гранулах проведена валидационная оценка по характеристикам: специфичность, линейность, сходимость (прецизионность) и правильность [18].

Валидационные параметры правильности, прецизионности и линейности изучены на растворах препара-

та с концентрациями глутатиона в диапазоне 80–120% от номинального содержания глутатиона в гранулах. Это охватывает весь спектр концентрации и определяет минимальную допустимую концентрацию применения методики для количественного определения [19].

Критерии приемлемости рассчитывали для $V=10\%$, следовательно, максимальная величина суммарной неопределенности результатов методики (Δ_{As}) на должна превышать значение $V \times 0,32 = 3,2\%$ [20].

Таблица 2. Массы навесок и концентрации глутатиона восстановленного в модельных образцах гранул

Номер модельного образца	Масса навесок препарата – гранул с глутатионом, г	Содержание глутатиона восстановленного в навеске, г	Концентрация глутатиона восстановленного по отношению к номинальной, %
1	0,6022	0,02000	80,41
2	0,6360	0,02120	85,42
3	0,6760	0,02250	90,85
4	0,7125	0,02370	95,07
5	0,7512	0,02500	100,02
6	0,7875	0,02620	105,20
7	0,8265	0,02755	110,03
8	0,8630	0,02876	114,96
9	0,9012	0,03000	119,92

Результаты хроматографирования, значения определенных концентраций глутатиона в модельных образцах и расчет метрологических характеристик методики представлены в таблице 3.

Из информации, приведенной в таблице 3, следует, что методика количественного определения глутатиона не имеет статистически значимой систематической ошибки. Таким образом, валидационные

испытания методики количественного определения глутатиона в гранулах методом предколоночной дериватизации орто-фталевым альдегидом показали соответствие валидационных параметров принятым количественным критериям по правильности, сходимости в диапазоне концентраций от 80% до 120% от номинального содержания глутатиона в гранулированной лекарственной форме.

Таблица 3 – Результаты валидации методики количественного определения глутатиона в модельных растворах гранул

№ раствора	Взято глутатиона в % от концентрации раствора сравнения (X, %)	Найдено глутатиона в % к концентрации раствора сравнения (Y, %)	Найдено в % к взятому глутатиону $Z = 100*(Y/X)$
1	80,41	80,39	99,98
2	85,42	85,49	100,01
3	90,85	90,78	99,92
4	95,07	95,23	100,17
5	100,02	100,21	100,19
6	105,20	105,01	99,82
7	110,03	110,18	100,14
8	114,96	115,15	100,17
9	119,92	120,36	100,37
Среднее, Z, %			100,09
Относительное стандартное отклонение, S_z , %			0,17%
Относительный доверительный интервал, Δ , % = $t(95\%, 7)*S_z$			0,39
Критическое значение для сходимости результатов, $\max \Delta_{\Delta_s}$, %, при $B \pm 10\%$			3,2
Систематическая погрешность, $\delta = Z_{cp} - 100$			0,09
Критерий незначимости системной погрешности $\delta \leq \Delta/3$			выполняется
Общий вывод о методике			корректна

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе работы была создана модельная лекарственная форма – гранулы на основе глутатиона. Изучены физические и технологические характеристики модельного образца гранул с GSH и лактозой в качестве наполнителя. Разработана и валидирована методика количественного определения GSH в гра-

нулах с использованием предколонной дериватизации орто-фталевым альдегидом методом ВЭЖХ. Результаты валидационной оценки показали, что настоящая методика соответствует всем валидационным параметрам – является правильной, прецизионной, специфичной и линейной в аналитической области.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Winterbourn C.C. Superoxide as an intracellular radical sink // Free Radic. Biol. Med. – 1993. – Vol. 14, № 1. – P. 85–90.
- High hepatic glutathione stores alleviate Fas-induced apoptosis in mice / S. Cazanave, A. Berson, D. Haouzi [et al.] // J Hepatol. – 2007. – Vol. 46, № 5. – P. 858–868.
- Go Y.M., Jones D.P. Redox compartmentalization in eukaryotic cells // Biochim Biophys Acta. – 2008. – Vol. 1780, № 11. – P. 1273–1290. DOI: 10.1016/j.bbagen.2008.01.011.
- Glutathione binding to the Bcl-2 homology-3 domain groove: a molecular basis for Bcl-2 antioxidant function at mitochondria / A.K. Zimmermann, F.A. Loucks, E.K. Schroeder [et al.] // J. Biol. Chem. – 2007. – Vol. 282, № 40. – P. 29296–29304. DOI: 10.1074/jbc.M702853200.
- Arner E.S., Holmgren A. Physiological functions of thioredoxin and thioredoxin reductase // Eur J Biochem. – 2000. – Vol. 267, № 20. – P. 6102–6109. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1432-1327.2000.01701.x>
- Iles K.E., Liu R.M. Mechanisms of glutamate cysteine ligase (GCL) induction by 4-hydroxynonenal // Free Radic. Biol. Med. – 2004. – Vol. 38, № 5. – P. 547–556. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2004.11.012.
- Corbucci G.G. The role of reduced glutathione during the course of acute haemolysis in glucose-6-phosphate dehydrogenase deficient patients: clinical and pharmacodynamic aspects // Int J Clin Pharmacol Res. – 1990. – Vol. 10, №5. – P. 305–310.
- Голиков С.Н., Саноцкий И.В., Тиунов Л.А. Общие механизмы токсического действия. – Л.: Медицина, 1986. – 280 с.
- Еропкина М.Ю., Еропкина Е.М. Культуры клеток как модельная система исследования токсичности и скрининга цитопротекторных препаратов. – СПб.: МОПСАР АВ, 2003. – 239 с.
- Тиунов Л.А. Механизмы естественной детоксикации и антиоксидантной защиты // Вестник РАМН. – 1995. – №3. – С. 9–13.
- Тиунов Л.А. Иванова В.А. Роль глутатиона в процессах детоксикации // Вестник АМН СССР. – 1988. – №1. – С. 62–69.
- Harman D. Free-radical theory of aging: inverting the functional life span // Ann NY Acad Sci. – 2006. – Vol. 1067. – P. 10–21. DOI: 10.1196/annals.1354.003.
- Lörincz T., Szarka A. The determination of hepatic glutathione at tissue and subcellular level //

- J Pharmacol Toxicol Methods. – 2017. – Vol. 88, pt. 1. – P. 32–39. DOI: 10.1016/j.vascn.2017.05.004.
14. Kanekal S., Kehrer J.P. Metabolism of cyclophosphamide by lipoxygenases // Drug Metab Dispos. – 1994. – Vol. 22, №1. – P. 74–78.
 15. Traverso N., Ricciarelli R., Marengo B, et al. Role of glutathione in cancer progression and chemoresistance // Oxidative Medicine and Cellular Longevity. – 2013. – Vol. 2013. – Article ID 972913. DOI: <https://doi.org/10.1155/2013/972913>.
 16. Поляков Н.А., Дубинская В.А., Астраханова М.М., Быков В.А. Гидратация и термодинамические характеристики образцов альфа-лактозы, полученные с использованием новых технологий // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2011. – №8. – С. 7–11.
 17. Lenton K.J., Therriault H., Wagner J.R. Analysis of glutathione and glutathione disulfide in whole cells and mitochondria by postcolumn derivatization high-performance liquid chromatography with ortho-phthalaldehyde // Anal Biochem. – 1999. – Vol. 274, № 1. – P. 125–130. DOI: 10.1006/abio.1999.4258.
 18. Общая фармакопейная статья ОФС.1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик». – ГФ XIV. – М., 2018.
 19. Руководство по валидации методик анализа лекарственных средств. Методические рекомендации. – М.: Спорт и Культура – 2000, 2007. – С. 6–92.
 20. Общая фармакопейная статья ОФС.1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов химического эксперимента». – ГФ XIV. – М., 2018.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Авторы

Алексеева Ксения Александровна – аспирант 3 года обучения, кафедра общей химии ФГАОУ ВО НИУ «Белгородский государственный университет» Минобрнауки России. ORCID: 0000-0002-0711-3505. E-mail: 740890@bsu.edu.ru

Писарев Дмитрий Иванович – доктор фармацевтических наук, доцент, профессор кафедры общей химии ФГАОУ ВО НИУ «Белгородский государственный университет» Минобрнауки России. ORCID: 0000-0002-2996-7712. E-mail: pisarev@bsu.edu.ru

Малютина Анастасия Юрьевна – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии ФГАОУ ВО НИУ «Белгородский государственный университет» Минобрнауки России. ORCID: 0000-0001-6170-2151. E-mail: malyutina_a@bsu.edu.ru

Жилыкова Елена Теодоровна – доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой фармацевтической технологии ФГАОУ ВО НИУ «Белгородский государственный университет» Минобрнауки России. E-mail: ezhilyakova@bsu.edu.ru

Цветкова Зоя Евгеньевна – ассистент кафедры фармацевтической технологии ФГАОУ ВО НИУ «Белгородский государственный университет» Минобрнауки России. ORCID: 0000-0002-6358-2680. E-mail: tsvetkova_z@bsu.edu.ru

Полковникова Юлия Александровна – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет». ORCID: 0000-0003-0123-9526. E-mail: Julipolk@mail.ru