

Применение метода Европейской фармакопеи для количественного определения антраценпроизводных в противогеморроидальном сборе Проктофитол®

Н. П. Антонова, И. М. Моргунов*, С. С. Прохвятилова, Е. П. Шефер,
А. М. Калинин, Т. А. Голомазова

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
Петровский б-р, д. 8, стр. 2, Москва, 127051, Российская Федерация

Резюме. Совершенствование методик контроля качества многокомпонентных лекарственных растительных препаратов, позволяющих объективно оценивать содержание действующих веществ, определяющих фармакологическое действие препарата, является актуальной задачей специалистов в фармакогнозии. **Цель работы:** исследовать возможность применения метода Европейской фармакопеи для определения суммы антраценпроизводных в противогеморроидальном сборе Проктофитол®; предложить норму содержания суммы антраценпроизводных. **Материалы и методы:** в исследовании были использованы отдельные компоненты сбора, содержащие антраценпроизводные (сенны листья и крушины кора), а также модельные смеси сенны листья : крушины кора в соотношении 1:1 и модельная смесь сбора Проктофитол® с использованием тех же компонентов. Для количественного определения антраценпроизводных использовался метод спектрофотометрии. **Результаты:** установлено, что с помощью метода Европейской фармакопеи можно оценить качество сбора Проктофитол® по содержанию суммы антраценпроизводных. Показано, что спектрофотометрическая методика Европейской фармакопеи имеет преимущества по отношению к методикам, включенным в отечественные нормативные документы, так как позволяет проводить полное извлечение действующих веществ и является унифицированной для антраценпроизводных. **Выводы:** для определения антраценпроизводных в сборе Проктофитол® была адаптирована методика Европейской фармакопеи, в качестве экстрагента предложено использовать 70% этанол вместо 70% метанола. Подобраны оптимальная навеска и разведения испытуемого раствора. Рассчитана и экспериментально установлена предлагаемая норма содержания суммы антраценпроизводных — «не менее 1,9%». Предложенная методика может быть рекомендована для включения в Государственную фармакопею Российской Федерации на сборы, аналогичные по составу сбору Проктофитол®.

Ключевые слова: спектрофотометрия; антраценпроизводные; лекарственное растительное сырье; лекарственные растительные препараты; фармакопейные методы; сенны листья; крушины кора

Для цитирования: Антонова НП, Моргунов ИМ, Прохвятилова СС, Шефер ЕП, Калинин АМ, Голомазова ТА. Применение метода Европейской фармакопеи для количественного определения антраценпроизводных в противогеморроидальном сборе Проктофитол®. *Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2020;10(2):129–136. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2020-10-2-129-136>

***Контактное лицо:** Моргунов Игорь Михайлович; morgunov@expmed.ru

Determination of Anthracene Derivatives in the Antihaemorrhoidal Medicinal Herb Mixture Proctophytol® Using the European Pharmacopoeia Method

N. P. Antonova, I. M. Morgunov*, S. S. Prokhvatilova, E. P. Shefer,
A. M. Kalinin, T. A. Golomazova

Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products,
8/2 Petrovsky Blvd, Moscow 127051, Russian Federation

Abstract. Specialists in pharmacognosy are facing an important task of improving quality control methods for combination herbal medicinal products in order to enable reliable assessment of the content of active substances that are responsible for the drug's pharmacological effect. **The aim of the study** was to investigate the possibility of using the European Pharmacopoeia method to determine the total content of anthracene derivatives in the antihaemorrhoidal medicinal herb mixture Proctophytol® and to propose limit values for the total content of anthracene derivatives. **Materials and methods:** individual mixture components containing anthracene derivatives, such as senna leaves and frangula bark, as well as model mixtures containing these individual components in a 1:1 ratio, and a model mixture imitating Proctophytol® were used in the study. The determination of the anthracene derivatives content was carried out using spectrophotometry. **Results:** it was demonstrated that the European Pharmacopoeia method could be used to assess the quality of Proctophytol® in terms of anthracene derivatives total content. The spectrophotometric method described in the European Pharmacopoeia has advantages over the methods described in manufacturer specifications for Russian products, because it allows for thorough extraction of the active substances and is standardized for anthracene derivatives. **Conclusions:** the European Pharmacopoeia method was adjusted to determine anthracene derivatives in the medicinal herb mixture Proctophytol®. It was proposed to use 70% ethanol instead of 70% methanol as extraction solvent. The authors identified optimum sample weights and test solution dilutions, and calculated and verified the limit for anthracene derivatives content—“Not less than 1.9%”. The adjusted method can be recommended for inclusion in the monographs of the State Pharmacopoeia of the Russian Federation for medicinal herb mixtures similar to Proctophytol®.

Key words: spectrophotometry; anthracene derivatives; herbal substances; herbal medicinal products; pharmacopoeial methods; senna leaves; frangula bark

For citation: Antonova NP, Morgunov IM, Prokhvatilova SS, Shefer EP, Kalinin AM, Golomazova TA. Determination of anthracene derivatives in the antihaemorrhoidal medicinal herb mixture Proctophytol® using the European Pharmacopoeia method. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya = The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2020;10(2):129–136. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2020-10-2-129-136>

*Corresponding author: Igor M. Morgunov; morgunov@expmed.ru

Совершенствование методик контроля качества многокомпонентных лекарственных растительных препаратов, позволяющих объективно оценивать содержание действующих веществ, определяющих фармакологическое действие препарата, является актуальной задачей фармакогностов.

Сбор Проктофитол® применяется в медицинской практике как противогеморроидальное средство растительного происхождения, оказывает слабительное, спазмолитическое, гемостатическое действие. В состав сбора входят сенны листья, крушины кора, тысячелистника трава, кориандра плоды, солодки корни в равных частях. Слабительное действие сбора обусловлено наличием производных антрацена, содержащихся в коре крушины и листьях сенны. Учитывая фармакологическое действие препарата, а также то, что 40% препарата составляет сырье, содержащее антраценпроизводные, целесообразно стандартизировать сбор по данной группе действующих веществ [1–3]. В отечественной практике для количественного определения антраценпроизводных в основном используется метод спектрофотометрии, общую схему пробоподготовки при этом можно представить как экстракция → гидролиз и окисление → переэкстракция с образованием окрашенных фенолятов. Для количественного определения суммы антраценпроизводных в сборе Проктофитол® используется модифицированный метод Аутерхоффа, основанный на гидролизе гликозидов ледяной уксусной кислотой и экстракции продуктов гидролиза диэтиловым эфиром [4].

Данный метод имеет ряд недостатков:

- получение заниженных результатов содержания антраценпроизводных;
- использование диэтилового эфира в качестве экстрагента, который не является оптимальным;
- метод небезопасный: предусмотрено нагревание смеси диэтилового эфира и ледяной уксусной кислоты;
- метод трудоемкий, так как для построения калибровочного графика выполняются измерения в 12 калибровочных растворах хлорида кобальта;
- использование неспецифичного стандарта — определение антраценпроизводных проводят по калибровочному графику, построенному с помощью хлорида кобальта;
- испытываемые растворы отдельных компонентов сбора имеют разные максимумы поглощения

в условиях методики: сенны листьев — 523 нм, крушины коры — 540 нм;

- установленная норма содержания суммы действующих веществ требует уточнения.

Таким образом, данный метод не является оптимальным, и для его усовершенствования целесообразно использовать зарубежный опыт, а также введенные в действие фармакопейные методики количественного определения антраценпроизводных в лекарственном растительном сырье. В ФС.2.5.0021.18 «Крушины ольховидной кора» Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV изд. включен метод определения суммы антраценпроизводных, гармонизированный с методом Европейской фармакопеи 9 изд.¹ с небольшими изменениями. В Европейской фармакопее методики определения содержания антраценпроизводных в различных видах лекарственного растительного сырья (ЛРС) унифицированы, различия лишь в используемом экстрагенте. Так, например, для сенны листьев и плодов, экстракта алоэ в качестве экстрагента используется вода, для крушины коры — 70% метанол. Максимумы поглощения испытываемых растворов, полученных из листьев сенны, и растворов, полученных из коры крушины, совпадают и находятся в области около 515 нм. Для расчета содержания суммы антраценпроизводных используется удельный показатель поглощения (для листьев сенны — 240, для коры крушины — 204). Теоретический расчет показал, что норма содержания суммы антраценпроизводных может составлять «не менее 1,9%» ($7,0\% \times 0,2 + 2,5\% \times 0,2 = 1,9\%$, где коэффициент 0,2 — доля компонента в сборе), так как содержание суммы антраценпроизводных по Европейской фармакопее в коре крушины — не менее 7,0%, в листьях сенны — не менее 2,5% [3].

Цель работы — исследование возможности количественного определения антраценпроизводных в сборе Проктофитол® с использованием метода Европейской фармакопеи и установление нормы их содержания в условиях предложенной методики определения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Образцы лекарственных растительных препаратов:

- «Крушины ольховидной кора»: ООО «Лек С+», с. 11017; ООО Фирма «Фито-Бот», с. 210417; ОАО «Красногорсклексредства», с. 20217;

¹ Monograph 0025. Frangula bark. European Pharmacopoeia. 9th ed. Strasbourg: EDQM; 2016.

- «Сенны листья»: ООО «Лек С+», с. 21117; ООО Фирма «Здоровье», с. 011017; АО «Красногорсклексредства», с. 30317;

- модельная смесь, состоящая из лекарственного растительного сырья, содержащего антраценпроизводные, — крушины кора : сенны листья (1:1), приготовленная из вышеуказанных компонентов, 3 серии;

- модельная смесь, соответствующая по составу сбору Проктофитол®, приготовленная из вышеуказанных компонентов, 3 серии.

В модельные смеси вошли разные серии препаратов крушины коры и сенны листьев с разным содержанием действующих веществ, что привело к разному содержанию в этих модельных смесях антраценпроизводных.

Другие компоненты сбора, не содержащие исследуемую группу веществ, используемые для приготовления сбора:

- «Тысячелистника трава», ООО Фирма «Фитобот», с. 160817;

- «Солодки корни», ООО Фирма «Здоровье», с. 010912РЕГ;

- «Кориандра плоды», Житница здоровья, с. 180119.

Стандартный образец сеннозида Б, Sigma-Aldrich, кат. номер 00530580.

Оборудование: спектрофотометр Cary 100 (Varian), сушильный шкаф Binder ED53, электронные весы Mettler Toledo XPE205DR, баня водяная Julabo TW-12, испаритель ротационный Rotavapor R-300, автоматизированная система нанесения проб CAMAG® Linomat 5, УФ-кабинет CAMAG® TLC Visualizer 2, мельница IKA MF 10 basic с ситом 0,5 мм.

Испытания проводились на 3 модельных смесях сбора в трех параллелях с расчетом относительного стандартного отклонения (*RSD*). Для приготовления каждой из модельных смесей сбора использовали отдельную серию перечисленных выше компонентов сбора.

Для определения содержания суммы антраценпроизводных в сенны листьях и крушины коре использовалась методика Европейской фармакопеи, в которой вместо 70% метанола использовали 70% этанол. Для определения содержания суммы антраценпроизводных в сборе Проктофитол® использовалась методика, основанная на методике Европейской фармакопеи², с использованием в качестве экстрагента 70% этанола.

Для сравнительной оценки компонентного состава продуктов гидролиза в испытуемых растворах и растворе сеннозида Б использовали метод высокоэффективной тонкослойной хроматографии (ВЭТСХ).

Методика количественного определения антраценпроизводных. Аналитическую пробу сырья из-

мельчали до получения частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм. Около 0,5 г (точная навеска) сбора помещали в колбу со шлифом вместимостью 250 мл, прибавляли 50,0 мл 70% этанола, взвешивали с погрешностью $\pm 0,01$ г. Колбу присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на кипящей водяной бане в течение 15 мин. После охлаждения до комнатной температуры колбу вновь взвешивали и доводили до первоначальной массы 70% этанолом. Содержимое колбы фильтровали через бумажный складчатый фильтр.

20,0 мл фильтрата помещали в делительную воронку вместимостью 250 мл, прибавляли 30 мл воды и 0,1 мл хлористоводородной кислоты концентрированной, осторожно взбалтывали в течение 2–3 мин с 20 мл петролейного эфира (х.ч.) (далее — эфир). После полного расслоения фаз нижний водный слой переносили в стакан вместимостью 100 мл, верхний эфирный слой переносили в колбу вместимостью 250 мл. Водный слой из стакана переносили в ту же делительную воронку и аналогичным образом обрабатывали еще 4 раза эфиром (порциями по 20 мл). Водный слой переносили в мерную колбу вместимостью 100 мл. Объединенные петролейные извлечения переносили обратно в делительную воронку и промывали водой 2 раза (порциями по 15 мл), водный слой помещали в ту же мерную колбу вместимостью 100 мл, оставляя темные хлопья в эфирном слое. В мерную колбу с объединенными водными извлечениями прибавляли 5 мл раствора 5% натрия карбоната и доводили объем раствора водой до метки (раствор А).

50,0 мл раствора А пипеткой переносили в колбу со шлифом вместимостью 250 мл, прибавляли 20 мл железа(III) хлорида раствора (плотность 1,07–1,08 г/мл), колбу присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на кипящей водяной бане при периодическом перемешивании в течение 20 мин, погружая ее в воду бани выше уровня раствора в колбе. Затем в колбу добавляли 2 мл хлористоводородной кислоты концентрированной и, часто встряхивая, продолжали нагревание в течение 20 мин до растворения осадка.

Колбу охлаждали, содержимое колбы переносили в делительную воронку вместимостью 500 мл, колбу ополаскивали 30 мл эфира, присоединяли ополоски к основному раствору в делительной воронке и осторожно взбалтывали в течение 2–3 мин. После полного расслоения фаз нижний водный слой переносили в ту же колбу вместимостью 250 мл, эфирный слой собирали в колбу вместимостью 100 мл. Извлечение повторяли еще 2 раза аналогичным образом. Объединенные эфирные извлечения переносили обратно в делительную воронку и промывали 2 раза водой (по 15 мл), водный слой отбрасывали. Эфирные извлечения фильтровали через воронку с бумажным фильтром, содержащим

² Monograph 0025. Frangula bark. European Pharmacopoeia. 9th ed. Strasbourg: EDQM; 2016.

3 г натрия сульфата безводного, в мерную колбу вместимостью 100 мл. Воронку с натрия сульфатом безводным промывали эфиром, доводили объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивали (раствор Б).

20,0 мл раствора Б пипеткой переносили в бюкс вместимостью 100 мл и сушили досуха в вытяжном шкафу. Сухой остаток полностью растворяли в 10 мл магния ацетата спиртового раствора 0,5% (раствор В).

Оптическую плотность раствора В измеряли на спектрофотометре при длине волны 515 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм, используя в качестве раствора сравнения спирт 96%.

Содержание суммы антрагликозидов в пересчете на глюкофрангулин А в абсолютно сухом сырье в процентах (X) вычисляли по формуле:

$$X = \frac{A \times 50 \times 100 \times 10 \times 100 \times 100}{A_{1\text{см}}^{1\%} \times 20 \times 50 \times 20 \times a(100-w)} = \frac{A \times 122,55}{a(100-w)},$$

где A — оптическая плотность раствора В; $A_{1\text{см}}^{1\%}$ — удельный показатель поглощения глюкофрангулина А при длине волны 515 нм, равный 204; a — навеска сырья, г; w — влажность сырья, %.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В работе оценивалась возможность количественного определения антраценпроизводных сенны листьев и крушины коры в сборе Проктофитол® с использованием метода Европейской фармакопеи и установления нормы содержания антраценпроизводных в условиях предложенной методики.

Для решения поставленной задачи было проведено изучение спектров поглощения образцов крушины ольховидной коры, сенны листьев и модельных смесей крушины и сенны (1:1), модельных смесей сбора Проктофитол®, стандартного образца сеннозида Б. Спектры испытуемых растворов сенны листьев, крушины коры, модельных смесей на их основе, а также продуктов гидролиза стандартного образца сеннозида Б практически идентичны и отличаются незначительным отклонением максимума поглощения (табл. 1, рис. 2, 3).

Использование в качестве экстрагента 70% этанола при определении суммы антраценпроизводных в пересчете на сеннозид Б в листьях сенны дает сопоставимые результаты с методикой, в которой в качестве экстрагента используется вода очищенная (табл. 2). Методом ВЭТСХ была проведена оценка качественного состава испытуемых растворов. Хроматограммы растворов, содержащих экстракты сенны листьев, полученные при экстракции водой и при экстракции этанолом 70%, идентичны по положению и цвету основных зон адсорбции (рис. 1).

Установлено, что при гидролизе и окислении сеннозида Б образуется одно основное вещество и одно дополнительное в незначительном количестве. При гидролизе и окислении в ходе количественного определения испытуемых растворов сенны листьев и крушины коры образуются два основных соединения, зоны адсорбции которых

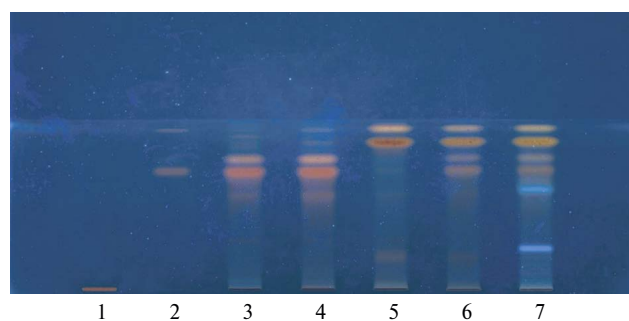


Рис. 1. Хроматограммы компонентов сбора и модельных смесей. 1 — сеннозид Б; 2 — продукты гидролиза сеннозида Б; 3 — испытуемый раствор сенны (экстракция водой); 4 — испытуемый раствор сенны (экстракция 70% этанолом); 5 — испытуемый раствор крушины коры; 6 — испытуемый раствор смеси сенны и крушины; 7 — испытуемый раствор сбора Проктофитол®

Fig. 1. Chromatograms of the individual components and their mixtures. 1—sennoside B; 2—sennoside B hydrolysis products; 3—senna leaves test solution (water extraction); 4—senna leaves test solution (70% ethanol extraction); 5—frangula bark test solution; 6—senna leaves and frangula bark mixture test solution; 7—Proctophytol® test solution

Таблица 1. Максимумы поглощения образцов компонентов сбора и модельных смесей

Table 1. Maximum absorption wavelengths of individual components and their mixtures

Наименование образца Sample	Максимум поглощения, серия 1, нм Maximum absorption wave- length of batch 1, nm	Максимум поглощения, серия 2, нм Maximum absorption wave- length of batch 2, nm	Максимум поглощения, серия 3, нм Maximum absorption wave- length of batch 3, nm
Сенны листья Senna leaves	514	514	513
Крушины кора Frangula bark	510	509	511
Смесь сенны и крушины 1:1 Senna and frangula mixture 1:1	510	511	513
Сбор Проктофитол® Proctophytol®	512	513	512

Таблица 2. Количественное определение суммы антраценпроизводных

Table 2. Determination of the total content of anthracene derivatives

Образец Sample	Сумма антраценпроизводных в пересчете на: Total content of anthracene de- rivatives expressed as:	Результат, % Result, %		
		Серия 1 Batch 1	Серия 2 Batch 2	Серия 3 Batch 3
Сенны листья, экстракция водой Senna leaves, water extraction	Сеннозид Б Sennoside B	2,821 (RSD 2,59%)	2,167 (RSD 2,88%)	2,918 (RSD 1,91%)
Сенны листья, экстракция 70% этанолом Senna leaves, 70% ethanol extraction	Сеннозид Б Sennoside B	2,695 (RSD 2,95%)	2,044 (RSD 2,91%)	2,420 (RSD 1,12%)
Крушины кора, экстракция 70% этанолом Frangula bark, 70% ethanol extraction	Глюкофрангулин А Glucofrangulin A	6,042 (RSD 1,63%)	5,932 (RSD 0,83%)	7,736 (RSD 1,53%)
Смесь листьев сенны и коры крушины, экс- тракция 70% этанолом (теоретический расчет) Mixture of senna leaves and frangula bark, 70% ethanol extraction (theoretical value)	Глюкофрангулин А и сеннозид Б Glucofrangulin A and sennoside B	4,369	3,988	5,078
	Глюкофрангулин А Glucofrangulin A	4,606	4,168	5,292
Смесь листьев сенны и коры крушины, экс- тракция 70% этанолом Mixture of senna leaves and frangula bark, 70% ethanol extraction	Глюкофрангулин А и сеннозид Б Glucofrangulin A and sennoside B	5,091 (RSD 2,67%)	4,238 (RSD 2,81%)	5,276 (RSD 2,12%)
	Глюкофрангулин А Glucofrangulin A	5,421 (RSD 2,67%)	4,611 (RSD 2,81%)	5,742 (RSD 2,12%)
Модельная смесь Проктофитол® (теоретический расчет) Model mixture imitating Proctophytol® (theoretical value)	Глюкофрангулин А и сеннозид Б Glucofrangulin A and sennoside B	1,773	1,595	2,031
	Глюкофрангулин А Glucofrangulin A	1,872	1,667	2,116
Модельная смесь Проктофитол®, экстракция 70% этанолом Model mixture imitating Proctophytol®	Глюкофрангулин А и сеннозид Б Glucofrangulin A and sennoside B	2,241 (RSD 2,08%)	1,800 (RSD 2,04%)	1,964 (RSD 1,42%)
	Глюкофрангулин А Glucofrangulin A	2,438 (RSD 2,08%)	1,904 (RSD 2,04%)	2,138 (RSD 1,42%)

Примечание. RSD — относительное стандартное отклонение.
Note. RSD—relative standard deviation.

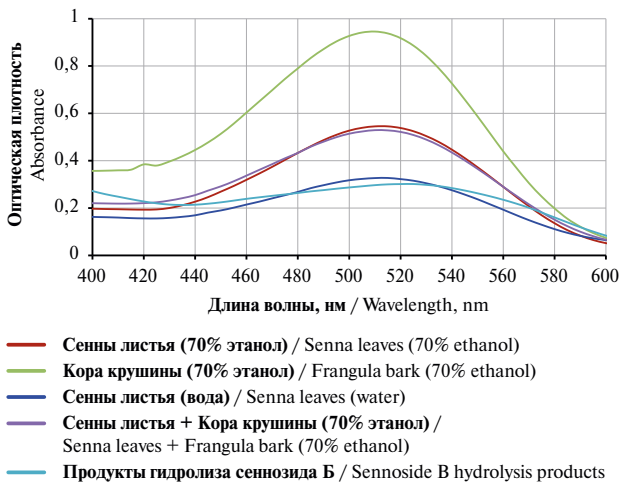


Рис. 2. Спектры поглощения испытуемых растворов
Fig. 2. Absorption spectra of the test solutions

наблюдаются на хроматограмме смеси крушины и сенны и на хроматограмме сбора Проктофитол®. Все зоны адсорбции четко разделены.

Содержание суммы антраценпроизводных в пересчете на глюкофрангулин А для смеси крушины кора : сенны листья (1:1) и смеси, идентичной сбору

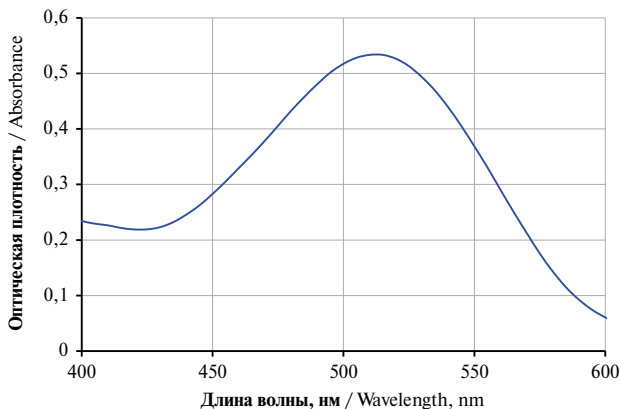


Рис. 3. Спектр поглощения испытуемого раствора, полученного из сбора Проктофитол® экстракцией 70% этанолом
Fig. 3. Absorption spectrum of the Proctophytol® test solution (70% ethanol extraction)

Проктофитол®, изготовленных из тех же компонентов, незначительно выше в двух испытаниях, чем теоретически рассчитанное по результатам количественного определения суммы антраценпроизводных в коре крушины и листьях сенны, и незначительно ниже в одном испытании (табл. 2). Следует

отметить, что содержание суммы антраценпроизводных в смеси крушины кора : сенны листья (1:1) расходится с теоретическим значением больше, чем в смеси, идентичной сбору Проктофитол®.

Для определения содержания суммы антраценпроизводных в пересчете на глюкофрангулин А использовался удельный показатель поглощения, приведенный в методике Европейской фармакопеи³, равный 204. Так как сенны листья и крушины кора в сборе находятся в равных количествах (для сенны листьев удельный показатель поглощения равен 240, а для коры крушины — 204), можно было бы использовать усредненный удельный показатель

поглощения, равный 222, но для этого необходимо сопоставить результаты с экспериментальными данными при использовании стандартного раствора глюкофрангулин А : сеннозид Б (1:1). Нами были проведены теоретические расчеты на усредненный удельный коэффициент, равный 222, дающие пропорциональные результаты, но они пригодны лишь для ознакомления (табл. 2).

Была проведена валидация⁴ использованной методики для подтверждения того, что она пригодна для количественного определения антраценпроизводных в сборе Проктофитол®. Результаты ревалидации представлены в таблице 3.

Таблица 3. Результаты ревалидации аналитической методики количественного определения антраценпроизводных в сборе Проктофитол®

Table 3. The results of revalidation of the assay used for determination of anthracene derivatives in the medicinal herb mixture Proctophytol®

Характеристика Parameter	Требования Requirements	Результат Result	
Специфичность Specificity	Присутствие сопутствующих компонентов не влияет непредусмотренным образом на результат анализа The presence of related compounds does not inadvertently affect the result of analysis	На УФ-спектре испытуемого раствора присутствует характерный максимум поглощения, совпадающий с максимумом поглощения УФ-спектра раствора глюкофрангулина А; на УФ-спектре раствора сравнения максимум поглощения отсутствует The UV spectrum of the test solution shows a characteristic absorption maximum which matches the absorption maximum in the UV spectrum of glucofran-gulin A standard solution; the UV spectrum of the reference solution does not have an absorption maximum	
Линейность Linearity	Данные экспериментальных измерений аналитических сигналов 5 проб с различным содержанием определяемых веществ обработаны методом наименьших квадратов с использованием линейной модели Experimental data obtained from measurements of analytical signals of 5 samples containing different amounts of the analytes were processed using the least squares method and the linear model: $y = bx + a$ Коэффициент корреляции Correlation coefficient: $r \geq 0,99$	Навеска сбора Sample weight	
		г (g)	%
		0,40	80
		0,45	90
		0,50	100
		0,55	110
		0,60	120
Аналитическая область Range	Методика применима в интервале от 80 до 120% от минимального допустимого значения The method is applicable in the range from 80 to 120% of the minimum acceptable value	Уравнение прямой Line equation $y = 0,0060404x - 0,024748$ Коэффициент корреляции Correlation coefficient $r = 0,9985571$ $r > 0,99$	
		Соответствует на основании данных по изучению линейности The result is satisfactory based on linearity data	
Правильность Trueness	Свободный член уравнения меньше своего доверительного интервала The constant term of the line equation is less than its confidence interval $\Delta a = t(0,05, n - 2) \times s_a$ $a \leq \Delta a$	На основании данных по изучению линейности Based on linearity data $a = 0,0247393$ $s_a = 0,0189431$ $t(0,05, n - 2) = 3,182$ $\Delta a = 3,182 \times 0,0189431 = 0,0602769442$ $a < \Delta a$	

³ Monograph 0025. Frangula bark. European Pharmacopoeia. 9th ed. 2016.

⁴ ОФС.1.1.0012.15. Валидация аналитических методик; ОФС.1.1.0013.15. Статистическая обработка результатов химического эксперимента. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1. М.; 2018.

Гармаш АВ, Сорокина НМ. Метрологические основы аналитической химии. М.: МГУ им. М.В. Ломоносова; 2012.

Продолжение таблицы 3

Характеристика Parameter	Требования Requirements	Результат Result			
Прецизионность Precision Повторяемость Repeatability	RSD результатов 6 определений количественного содержания антраценпроизводных должно быть ≤ 3,0% <i>RSD of 6 determinations of anthracene derivatives ≤ 3.0%</i>	Результаты 6 определений количественного содержания антраценпроизводных The results of 6 determinations of anthracene derivatives			
		№ определения Determination		Значение Result	
		1		2,35402	
		2		2,49309	
		3		2,49297	
		4		2,39394	
		5		2,38380	
		6		2,42300	
		Среднее значение / Mean = 2,42347 <i>RSD = 2,40%</i>			
		Межлабораторная прецизионность Intermediate precision	Полученное значение критерия Фишера, вычисленное по результатам проведения испытаний разными исполнителями на разном оборудовании, должно быть меньше табличного значения F-test value calculated from the results obtained by different operators with different equipment is less than the tabular value $F_{\text{pract.}} = s_1^2/s_2^2 \leq F_{\text{teor.}}$	№ определе- ния Determina- tion	Исполнитель 1, Оборудование 1 Operator 1, Equipment 1
1				2,46764%	2,40402%
2				2,38684%	2,36211%
3				2,38217%	2,48880%
S				0,048	0,065
S²				0,002304	0,004225
F _{pract.} = 0,004225/0,002304 = 1,83 F _{teor.} (0,05; 2; 2) = 19,00 F _{pract.} < F _{teor.}					

Примечание. $t(0,95; n-2)$ — коэффициент Стьюдента, где 0,95 — вероятность, $n-2$ — число степеней свободы; $F_{\text{pract.}}$, $F_{\text{teor.}}(0,05; 2; 2)$ — полученный и табличный критерии Фишера соответственно, где 0,05 — уровень значимости, 2 и 2 — число степеней свободы; s — стандартное отклонение; s_1 , s_2 — большее и меньшее стандартные отклонения полученных результатов соответственно; s_a — стандартное отклонение свободного члена, RSD — относительное стандартное отклонение (%).

Note. $t(0,95; n-2)$ —Student's t -test, where 0.95 is probability, $n-2$ —the number of degrees of freedom; $F_{\text{pract.}}$, $F_{\text{teor.}}(0,05; 2; 2)$ —Fisher's test obtained values and table values, respectively, where 0.05 is the significance level, 2 and 2—the number of degrees of freedom; s —standard deviation; s_1 , s_2 —larger and smaller values of standard deviations, respectively; s_a —standard deviation of the constant term; RSD —relative standard deviation (%).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведена оценка возможности определения суммы антраценпроизводных в сборе Проктофитол® с использованием метода Европейской фармакопеи. Установлено, что спектры поглощения испытуемых растворов сенны листьев и крушины коры, полученные в условиях предложенной методики, практически совпадают.

В результате проведенной работы для определения антраценпроизводных в сборе Проктофитол® была адаптирована методика Европейской фармакопеи. В качестве экстрагента предложено использовать 70% этанол вместо 70% метанола, предусмотренного методикой Европейской фармакопеи. Для расчетов предложено использовать удельный показатель поглощения глюкофрангулина А, равный 204, предусмотренный методикой Европейской фармакопеи. Предложено нормировать сумму

антраценпроизводных в пересчете на глюкофрангулин А «не менее 1,9%».

Была проведена валидация предложенной методики для подтверждения того, что она пригодна для количественного определения антраценпроизводных в сборе Проктофитол®. Предложенная методика может быть рекомендована для включения в фармакопейные статьи Государственной фармакопеи Российской Федерации на сборы, аналогичные по составу сбору Проктофитол®.

Вклад авторов. **Н. П. Антонова** — идея, планирование исследования, консультация по вопросам проведения отдельных этапов экспериментальных работ; **И. М. Моргунов** — выполнение экспериментальной части исследований по количественному определению антраценпроизводных, написание чернового варианта статьи; **С. С. Прохвятилова** — сбор, анализ и обобщение данных литературы; **Е. П. Шефер** — разработка дизайна валидационного исследования и обработка его результатов;

А. М. Калинин — подготовка иллюстраций, техническое оформление материала, редактирование текста; **Т. А. Голомазова** — проведение практических испытаний по валидации.

Authors' contributions. **Natalia P. Antonova**—study idea and planning, consultation on individual stages of the experimental work; **Igor M. Morgunov**—experimental part of the study, quantitative determination of anthracene derivatives, drafting the paper; **Svetlana S. Prokhvatilova**—collection, analysis and summarising of literature data; **Elena P. Shefer**—design of the validation study and analysis of its results; **Artem M. Kalinin**—preparing illustrations, formatting the paper, editing the text; **Tatiana A. Golomazova**—experimental validation work.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00003-20-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР АААА-А18-118021590049-0).

Acknowledgements. The study reported in this publication was carried out as part of a publicly funded research project No. 056-00003-20-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. АААА-А18-118021590049-0).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Куркин ВА, Шмыгарева АА, Саньков АН. Разработка новых подходов к стандартизации проктофитола. *Медицинский альманах*. 2014;(2):138–41. [Kurkin VA, Shmygareva AA, San'kov AN. The creation of new approaches to the standardization of Proktofitol. *Medit-sinskiy al'manakh = Medical almanac*. 2014;(2):138–41 (In Russ.)]
2. Куркин ВА, Шмыгарева АА, Саньков АН. Разработка новых подходов к стандартизации сбора «Для очищения организма». *Известия Оренбургского государственного аграрного университета*. 2015;(2):171–4. [Kurkin VA, Shmygareva AA, San'kov AN. Working out new approaches to standardization of the medicinal plants collection "For body cleansing". *Izvestiya Orenburgskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta = Izvestia of the Orenburg State Agrarian University*. 2015;(2):171–4 (In Russ.)]
3. Куркин ВА, Авдеева ЕВ, Петрухина ИК, Шмыгарева АА, Агапов АИ, Ежков ВН. Актуальные аспекты стандартизации лекарственных растительного сырья, содержащего антраценпроизводные, и слабительных препаратов на их основе. *Фундаментальные исследования*. 2015;(2):1424–31. [Kurkin VA, Avdeeva EV, Petrukhina IK, Shmygareva AA, Agapov AI, Ezhkov VN. The actual aspects of plant medicinal drugs, contained the anthracenderivatives, and laxative preparations on the basis of their. *Fundamentalnye issledovaniya = Fundamental Research*. 2015;(2):1424–31 (In Russ.)]
4. Марахова АИ, Аврач АС, Скалозубова ТА, Сорокина АА, Сергунова ЕВ, Федоровский НН. Спектрофотометрия в анализе сборов. *Медицина и образование в Сибири*. 2012;(2):79–89. [Marakhova AI, Avrach AS, Skalozubova TA, Sorokina AA, Sergunova EV, Fedorovsky NN. Spectrophotometry in analysis of preparations. *Medit-sina i obrazovanie v Sibiri = Journal of Siberian Medical Sciences*. 2012;(2):79–89 (In Russ.)]

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Антонова Наталия Петровна, канд. биол. наук. *Natalia P. Antonova*, Cand. Sci. (Biol.). **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-7818-5303>

Моргунов Игорь Михайлович. *Igor M. Morgunov*. **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-3907-3456>

Прохватилова Светлана Степановна, канд. фарм. наук. *Svetlana S. Prokhvatilova*, Cand. Sci. (Pharm.). **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-3278-1994>

Шефер Елена Павловна, канд. фарм. наук. *Elena P. Shefer*, Cand. Sci. (Pharm.). **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0001-8389-4799>

Калинин Артем Михайлович. *Artem M. Kalinin*. **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-4980-3248>

Голомазова Татьяна Александровна. *Tatiana A. Golomazova*. **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-9917-9367>

Статья поступила 04.02.2020

После доработки 27.04.2020

Принята к печати 28.05.2020

Article was received 4 February 2020

Revised 27 April 2020

Accepted for publication 28 May 2020