

УДК 615.322/072



Разработка и валидация методики количественного определения α -соланина, α -чаконина, соланидина в экстрактах из кожуры клубней картофеля клубненосного методом высокоэффективной жидкостной хроматографии и тандемной масс-спектрометрии

Т.О. Острикова, Н.Г. Богомолов, П.Ю. Мыльников, А.В. Шулькин, И.В. Черных

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
390026, Россия, г. Рязань, ул. Высоковольная, д. 9

E-mail: tostrikova0@gmail.com

Получена 26.03.2024

После рецензирования 28.08.2024

Принята к печати 10.10.2024

Перспективными метаболитами картофеля клубненосного (*Solanum tuberosum* L., сем. *Solanaceae*) являются α -соланин, α -чаконин и их агликон соланидин.

Цель. Разработка и валидация методики количественного анализа α -соланина, α -чаконина и соланидина в сухих экстрактах из кожуры клубней картофеля клубненосного методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемным масс-селективным детектированием (ВЭЖХ/МС/МС).

Материалы и методы. Анализ выполнялся в градиентном режиме на хроматографе «Ultimate 3000» (ThermoFisher, США) с тандемным масс-селективным детектором TSQ Fortis и колонкой UCT Selectra C18 4,6 мм×100 мм, 3 мкм, 100 Å. В работе использовался электроспрей в положительном режиме ионизации. Для количественного анализа применялись следующие переходы масс: α -соланин – 868,4→398,3 m/z; α -чаконин – 853,4→706,3 m/z; соланидин – 398,3→98,1 m/z. Переходы масс для внутреннего стандарта фексофенадина: 502,3→171 m/z и 502,3→466,2 m/z. Время анализа составило 10 мин. Разработанные условия хроматографирования были проверены на пригодность. Валидацию проводили по следующим параметрам: специфичность, аналитическая область, линейность, правильность, прецизионность и нижний предел количественного определения.

Результаты. Процедура валидации показала, что методика была селективной, достаточно чувствительной в отношении α -соланина, α -чаконина и соланидина (нижний предел количественного определения составил соответственно 50, 10 и 2 нг/мл), линейна в интервале концентраций соответственно 50–5000, 10–5000 и 2–100 нг/мл, обладала удовлетворительной правильностью (RSD не превышали 7% для каждого из веществ), достаточной прецизионностью (для α -соланина RSD не превышало 5%, для α -чаконина, соланидина – не более 10%).

Заключение. Разработана и валидирована методика количественного определения α -соланина, α -чаконина и соланидина в сухих экстрактах, полученных из кожуры клубней картофеля клубненосного, методом ВЭЖХ-МС/МС. Данная методика может быть использована в рутинной практике количественного определения гликоалкалоидов при анализе их содержания в пищевых продуктах и комбинированных лекарственных средствах.

Ключевые слова: валидация; гликоалкалоиды; α -соланин; α -чаконин; соланидин; картофель клубненосный; ВЭЖХ/МС/МС

Список сокращений: ГА – гликоалкалоиды; ВЭЖХ/МС/МС – высокоэффективная жидкостная хроматография с масс-селективным детектированием; ДМСО – диметилсульфоксид; ОФС – общая фармакопейная статья; ГФ РФ XV изд. – Государственная фармакопея Российской Федерации XV издания; НПКО – нижний предел количественного определения; ИФА – иммуноферментный анализ.

Для цитирования: Т.О. Острикова, Н.Г. Богомолов, П.Ю. Мыльников, А.В. Шулькин, И.В. Черных. Разработка и валидация методики количественного определения α -соланина, α -чаконина, соланидина в экстрактах из кожуры клубней картофеля клубненосного методом высокоэффективной жидкостной хроматографии и тандемной масс-спектрометрии. *Фармация и фармакология*. 2024;12(2):117-130. DOI: 10.19163/2307-9266-2024-12-2-117-130

© Т.О. Острикова, Н.Г. Богомолов, П.Ю. Мыльников, А.В. Шулькин, И.В. Черных, 2024

For citation: T.O. Ostrikova, N.G. Bogomolov, P.Y. Mylnikov, A.V. Shchulkin, I.V. Chernykh. Development and validation of methods for quantitative determination of α -solanine, α -chaconine, solanidine in extracts from potato tuber peels BY High-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Pharmacy & Pharmacology*. 2024;12(2):117-130. DOI: 10.19163/2307-9266-2024-12-2-117-130

Development and validation of methods for quantitative determination of α -solanine, α -chaconine, solanidine in extracts from potato tuber peels BY High-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry

T.O. Ostrikova, N.G. Bogomolov, P.Y. Mylnikov, A.V. Shchulkin, I.V. Chernykh

Ryazan State Medical University named after academician I.P. Pavlov,
9 Vysokovoltynaya Str., Ryazan, Russia, 390026

E-mail: tostrikova0@gmail.com

Received 26 March 2024

After peer review 28 Aug 2024

Accepted 10 Oct 2024

Promising metabolites of potato tuberosum (*Solanum tuberosum* L., f. *Solanaceae*) are α -solanine, α -chaconine and their aglycone solanidine.

The aim of the work was to develop and validate methods for a quantitative analysis of α -solanine, α -chaconine and solanidine in dry extracts from the potato tuber peels by a high-performance liquid chromatography with a tandem mass-selective detection (HPLC/MS/MS).

Materials and methods. The analysis was performed in a gradient mode on an Ultimate 3000 chromatograph (ThermoFisher, USA) with a TSQ Fortis tandem mass-selective detector and a 4.6 mm×100 mm, 5 μ m, 100 Å UCT Selectra C18 column. An electrospray in a positive ionization mode was used in this work. The following mass transitions were used for the quantitative analysis: α -solanine, 868.4→398.3 m/z; α -chaconine, 853.4→706.3 m/z; solanidine, 398.3→98.1 m/z. The following mass transitions were used for the internal standard fexofenadine: 502.3→171 m/z and 502.3→466.2 m/z. The analysis time was 10 min. The developed chromatography conditions were validated for a suitability. The validation was performed according to the following parameters: specificity, analytical range, linearity, correctness, precision and a lower limit of quantification.

Results. The validation procedure showed that the methodology was selective, sufficiently sensitive for α -solanine, α -chaconine and solanidine (lower limits of the quantification were 50, 10 and 2 ng/mL, respectively), the linear in the concentration range of 50–5000, 10–5000 and 2–100 ng/mL, respectively; it was satisfactorily correct (RSD did not exceed 7% for each of the substances) and sufficiently sensitive (RSD for α -solanine did not exceed 5%, for α -chaconine and solanidine – not more than 10%).

Conclusion. A technique for a quantitative determination of α -solanine, α -chaconine and solanidine in dry extracts obtained from potato tuber peels by HPLC/MS/MS has been developed and validated. This technique can be used in the routine practice of the glycoalkaloids quantitative determination when analyzing their content in food products and combination medicines.

Keywords: validation; glycoalkaloids; α -solanine; α -chaconine; solanidine; tuberous potato; HPLC-MS/MS

Abbreviations: Gas – glycoalkaloids; HPLC/MS/MS – high-performance liquid chromatography with a mass-selective detection; DMSO – dimethyl sulfoxide; GPM – general pharmacopoeial monograph; SPH RF XV ed. – State Pharmacopoeia of the Russian Federation, XV edition; LLQ – Lower Level of Quantification; ELISA – enzyme-linked immunosorbent assay.

ВВЕДЕНИЕ

Растительные организмы являются уникальными продуцентами биологически активных веществ с широким спектром фармакологических эффектов, а именно антисептического, противомикробного, противоопухолевого [1]. Вторичный метаболизм растений позволяет получить принципиально новые соединения, отличающиеся собственным механизмом действия. Комплекс растительных метаболитов – флавоноидов, алкалоидов и терпеноидов в сумме с сопутствующими веществами, – оказывает эффективное и зачастую относительно безопасное терапевтическое действие [2].

Более 90 различных гликоалкалоидов (ГА) были описаны у 300 видов растений семейства пасленовые (*Solanaceae*). В научной литературе есть сведения об их токсичности, однако также сообщается о ряде полезных фармакологических свойств, в том

числе противоопухолевых, противомикробных, противогрибковых и т.д. [3]. Данный факт актуализирует разработку методик экстракции ГА, их анализ и последующую оценку терапевтического потенциала с последующим определением их активности.

В качестве источника сырья для получения фармацевтической субстанции ГА перспективно использование популярного пищевого растения – картофеля клубненосного (*Solanum tuberosum* L.), который содержит гликозилированные алкалоиды группы соланидина: α -соланина и α -чаконина, процент отходов которого занимают третье место после зерновых культур и молочной продукции¹.

Для выбора оптимальной методики извлечения

¹ Серпова О.С., Борченков Л.А. Ресурсосберегающие технологии переработки картофеля: научный аналитический обзор. Москва: Росинформагротех, 2009. – 84 с.

ГА, а также последующей стандартизации экстрактов и оценки их фармакологической активности необходима разработка чувствительной, воспроизводимой и селективной методики количественного определения α -соланина, α -чаконина, а также их агликона соланидина в соответствующей матрице с доказательством её пригодности путём анализа её метрологических характеристик.

В литературе описан ряд методик количественного определения ГА, однако часть исследований посвящена индивидуальным соединениям [4, 5], другие методики сложны в части пробоподготовки (например, гетерогенный ИФА) [6, 7], некоторые обладают низкой селективностью (ВЭЖХ-УФ) [8, 9] или недостаточной аналитической областью [10, 11]. Последний критерий особенно важен при подборе методики экстракции, так как уровень ГА зависит как от нативного состояния сырья (генетически запрограммированная концентрация, стресс-факторы и т.д.), так и от природы используемого экстрагента, режима изолирования, дополнительно вводимых модификаций.

Процедура валидации методики количественного определения индивидуальных ГА при совместном их присутствии в экстракте из кожуры клубней картофеля клубненосного, согласно требованиям Государственной фармакопеи Российской Федерации XV издания (ГФ РФ XV изд.), позволит однозначно судить о приемлемости выбранного способа экстракции.

ЦЕЛЬ. Разработка и валидация методики количественного определения α -соланина, α -чаконина и соланидина в сухих экстрактах, полученных из кожуры клубней картофеля клубненосного (*Solanum tuberosum*, сем. *Solanaceae*), методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с tandemным масс-селективным детектированием (ВЭЖХ/МС/МС).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе были использованы следующие реактивы и химические субстанции: стандартные образцы α -соланина, α -чаконина, соланидина (Sigma Aldrich, США), фексофенадина (United States Pharmacopeia Reference Standard, США; CAS No. 153439-40-8), метанол для градиентной ВЭЖХ (Химмед, Россия), кислота муравьиная 98%-я для аналитики (Panreac, Испания), вода ВЭЖХ-МС (VWR, Франция), диметилсульфоксид (ДМСО) (ООО НПП ПанЭко, Россия), 5%-й раствор кислоты уксусной (ООО ТЕХПЛАНТ, Россия), Хэнкса раствор без фенолового красного (HBSS; ООО НПП ПанЭко, Россия).

Разработку методики проводили при помощи оборудования: хроматограф «Ultimate 3000» (ThermoFisher, США) с tandemным масс-селективным детектором TSQ Fortis (ThermoFisher, США),

оснащенный автосамплером и дегазатором, колонкой Selectra C18 4.6 мм×100 мм, 3 мкм, 100 Å с предколонкой Selectra C18 SLC-18GDC46-3UM (UCT, США). В качестве вспомогательного оборудования применялись: центрифуга для микрокувет (Elmi, Латвия); весы аналитические ЛВ 210-а (Сартorius, Россия), встряхиватель Vortex (Heidolph, Германия). Управление хроматографической системой, а также математическую обработку данных проводили с помощью программы Thermo Scientific Xcalibur (ver. 4.2.47).

Разработка методики заключалась в подборе способа фрагментации, выборе внутреннего стандарта и состава подвижной фазы.

Параметры фрагментации подбирали в полуавтоматическом режиме (энергии фрагментации подбирались автоматически). Для регистрации выбирали два наиболее интенсивных фрагмента. Подбор условий фрагментации проводили при подаче аргона под давлением 1,5, 2,0, 2,5 и 3,0 Мторр.

Хроматографическую методику настраивали на водно-метанольной фазе с колонкой C18. Изначально использовали изократический режим элюирования с 25, 50 и 80% метанола для оценки влияния органического растворителя на разделение веществ, их времена удерживания и хроматографические параметры системы. По полученным результатам подбирали профиль градиентного элюирования для оптимизации хроматографических параметров. Поскольку на данном этапе уже были получены удовлетворительные параметры хроматографии и чувствительность, тестирование водно-ацетонитрильной фазы признано нецелесообразным.

Подбор внутреннего стандарта осуществляли из 6 веществ: фексофенадин, анастразол, валсартан, амантадин, амлодипин, метопролол в концентрациях от 1 до 10 нг/мл. Наилучшие результаты в плане воспроизводимости результатов отмечены у фексофенадина, который и выбран в качестве внутреннего стандарта в концентрации 1 нг/мл.

Хроматографирование проводили в градиентном режиме элюирования: растворитель А – 0,1%-я водная муравьиная кислота, растворитель В – метанол согласно таблице 1.

Температура исследуемых образцов составляла 20°C, температура хроматографической колонки – 35°C; поддерживали с помощью термостата. Скорость потока подвижной фазы 400 мкл/мин. Объём вкалываемой пробы составлял 20 мкл, вводился с помощью автосамплера при температуре 8°C.

Продукты распада молекулярного иона фиксировали с помощью квадрупольного масс-детектора при воздействии электроспрея в положительном режиме ионизации.

Скорость потока оболочечного газа (Sheath Gas) составляла 50 Arb, вспомогательного газа (Aux Gas) – 10 Arb, продувочного газа (Sweep Gas) – 1 Arb, температура трубки для переноса ионов – 300°C,

температура испарителя – 350°C. Для детектирования использовали следующие переходы масс: α-соланин – 868,4→98,1 m/z, 868,4→398,3 m/z (данный переход использовался для количественного определения) при энергии столкновения 60 В; α-чаконин – 853,4→398,3 m/z, 853,4→706,3 m/z (данный переход использовался для количественного определения) при энергии столкновения 60 В; соланидин – 398,3→98,1 m/z (данный переход использовался для количественного определения) при энергии столкновения 43 В, 398,3→382,3 m/z при энергии столкновения 48 В, фрагментация источника 20 В, CID газ 2 мТорр. Переходы для фексофенадина: 502,3→171 m/z и 502,3→466,2 m/z при энергии столкновения 27 В. Время одного анализа составляло 10 мин.

Структурные формулы анализируемых веществ и фрагментация их молекул представлены на рисунках 1–4.

Валидация аналитической методики

Валидация хроматографических методик подразумевает доказательство их пригодности для конкретных целей и регламентируется рядом отечественных нормативных документов².

Оценку методики проводили согласно ГФ РФ XV изд. по следующим параметрам: пригодность хроматографической системы³, специфичность, аналитическая область, линейность, правильность, прецизионность (повторяемость, внутрилабораторная прецизионность) и нижний предел количественного определения.

Приготовление растворов стандартных образцов

По требованиям ГФ РФ XV изд. для оценки валидационных параметров аналитической методики (правильность, прецизионность на уровнях повторяемости и внутрилабораторной прецизионности) необходимо использовать растворы со 100% от номинального значения исследуемого вещества, однако данные концентрации в экстрактах, полученных различными способами, могут существенно варьироваться. В связи с этим для подбора таких концентраций было проведено предварительное исследование, заключающееся в оценке содержания α-соланина, α-чаконина и соланидина, извлечённых из инсолированной кожуры клубней картофеля с помощью различных экстрагентов (пиридин, метанол, этанол, уксусная кислота 5%-я водная) в соответствии с физико-химическими свойствами веществ. Анализ проводили

методом ВЭЖХ/МС/МС с помощью частично валидированной методики (с удовлетворительной линейностью и воспроизводимостью). Содержание α-соланина в 4-х полученных экстрактах составило 252,61±182,85 нг/мл, α-чаконина – 451,33±100,33 нг/мл, соланидина – 4,60±1,72 нг/мл. Усреднённые концентрации в дальнейшем использовали в качестве теоретических (100%) для расчёта метрологических характеристик [12].

Приготовление растворов стандартных образцов α-соланина, α-чаконина и соланидина проводили следующим образом: в 1 мл ДМСО растворяли 1 мг субстанции, выдерживали при 50°C в ультразвуковой ванне 60 мин, разводили в 10 раз раствором ДМСО, затем раствором Хэнкса (HBSS) до концентраций 50, 250, 300, 500, 1000 и 5000 нг/мл (α-соланин); 10, 50, 400, 450, 500, 1000, 2000 и 5000 нг/мл (α-чаконин); 2, 3, 3,2, 4, 4,8, 5, 10 и 100 нг/мл (соланидин). Пробоподготовку проводили путём разведения в 10 раз метанолом, содержащим внутренний стандарт – фексофенадин (1 нг/мл) и последующим центрифугированием при 1500 g в течение 10 мин.

Количественное определение осуществляли по калибровочному графику, а нормализацию аналитического отклика проводили по внутреннему стандарту:

$$K = \frac{S_{[\text{аналит}]}}{S_{[\text{вн. стандарт}]}}$$

где K – нормализованный аналитический отклик, %; $S_{[\text{аналит}]}$ – площадь пика определяемого компонента, %; $S_{[\text{вн. станд}]}$ – площадь пика внутреннего стандарта, %.

Приготовление испытуемых растворов

Для апробации разработанной ВЭЖХ-методики был проведён анализ сухого экстракта кожуры клубней картофеля клубненосного сорта Гала (Рязанская область, Клепиковский район, п.г.т. Тума). Предварительная обработка клубней включала двухнедельную инсоляцию дневным светом для максимизации накопления ГА. Далее анализировали сухой экстракт, полученный путём 3-кратной мацерации сухой кожуры 5%-м водным раствором кислоты уксусной.

1 мг сухого экстракта разводили в 1 мл ДМСО, выдерживали 60 мин при 50°C в ультразвуковой бане, центрифугировали 10 мин при 1500 g, надсадок разводили в 10 раз раствором ДМСО, затем также в 10 раз буферным раствором HBSS. Пробоподготовку и расчёты проводили по описанной выше методике.

Подготовка рабочих растворов для валидационной оценки по показателю «линейность»

Для определения критерия линейности использовали растворы 6 концентраций для

² ОФС.1.1.0012 Валидация аналитических методик. Государственная фармакопея Российской Федерации XV издание. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-1/validatsiya-analiticheskikh-metodik/>

³ ОФС.1.2.1.2.0001 Хроматография. Государственная фармакопея Российской Федерации XV издание. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-2/1-2-1/1-2-1-2-khromatograficheskie-metody-analiza/khromatografiya/>

α -соланина (50, 250, 300, 500, 1000 и 5000 нг/мл), 8 точек для α -чаконина (10, 50, 400, 450, 500, 1000, 2000 и 5000 нг/мл) и 7 для соланидина (2, 3, 3,2, 4, 4,8, 5, 10 и 100 нг/мл) соответственно по 3 повторения для каждой с последующей пробоподготовкой.

Подготовкам рабочих растворов для валидационной оценки по показателям «прецизионность», «внутрилабораторная прецизионность», «правильность»

Проверка прецизионности включала приготовление растворов стандартных образцов α -соланина (250 нг/мл), α -чаконина (450 нг/мл) и соланидина (4,0 нг/мл) в 6 повторностях каждой концентрации.

Растворы для оценки показателя «внутрилабораторной прецизионности» готовились другим исследователем по аналогичной методике.

Для оценки правильности были выбраны для α -соланина концентрации 200, 250 и 300 нг/мл испытуемых растворов. Растворы α -чаконина готовили в концентрациях 400, 450 и 500 нг/мл; соланидин – 3,2, 4,0 и 4,8 нг/мл. Все растворы готовили в трех повторностях. Таким образом, всего анализу подверглись по 9 рабочих растворов каждого вещества.

Статистическая обработка

Статистическую обработку данных проводили с применением офисного пакета Microsoft Office 2019 (Microsoft Inc., США) и программы Statistica 13.0 (StatSoft, США). Характер распределения данных определяли с помощью критерия Шапиро-Уилка. Для оценки линейности применяли коэффициент корреляции Пирсона. Для построения уравнения взвешенной регрессии использовали программу MS Excel 2019 с расширением PkSolver. Данный параметр применяли для более точного построения калибровочного графика в районе низких концентраций.

Для доказательства отсутствия различия дисперсий при анализе внутрилабораторной прецизионности использовали критерии Фишера. С помощью критерия Стьюдента сравнивали средние значения результатов анализа, полученных разными исследователями. В таблицах представлены метрологические характеристики: среднее арифметическое ($\bar{x}$), дисперсия (S^2), стандартное отклонение (SD, S_g), относительное стандартное отклонение (RSD, $S_{g\%}$), полуширина доверительного интервала величины (Δx), относительные ошибки результата отдельного определения (ϵ), граничные значения доверительного интервала результата отдельного определения ($\bar{x} \pm \Delta x$).

В связи с тем, что полученные данные имели нормальное распределение, результаты в тексте были представлены в виде среднего арифметического (среднее значение 3-х параллельных измерений) $\pm$ стандартное отклонение.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Пригодность хроматографической системы

Для оценки пригодности хроматографической системы последовательно анализировали в шестикратной повторности растворы α -соланина, α -чаконина и соланидина в концентрациях 250, 450 и 4,8 нг/мл соответственно.

Основные характеристики пиков целевых веществ на хроматограммах растворов стандартных образцов представлены в таблице 2.

Исходя из представленных данных, величины RSD для площадей пиков каждого из анализируемых веществ и внутреннего стандарта не превышали 2%. Число теоретических тарелок превышало 2000. Факторы асимметрии соответствовали допустимому диапазону – 0,7–2,5 [13].

Таким образом, разработанная система соответствует требованиям ГФ РФ XV изд. ОФС.1.2.1.2.0001 Хроматография⁴.

Валидационная оценка разработанной методики

Валидацию методики анализа количественного определения α -соланина, α -чаконина, соланидина методом ВЭЖХ/МС/МС в экстракте проводили в соответствии с требованиями ГФ РФ XV изд.

В качестве внутреннего стандарта выбран фексофенадин в метаноле с концентрацией 1 нг/мл из-за наилучшей воспроизводимости результатов анализа.

Времена удерживания α -соланина, α -чаконина и соланидина при анализе сухого экстракта, содержащего целевые вещества и используемого для апробации методики, совпадали с таковыми на хроматограммах стандартных растворов (Рис. 5). Сопутствующих веществ, элюирующихся в соответствующее время, не наблюдалось, что подтверждало специфичность методики.

Следует отметить, что при анализе полученных растительных экстрактов на хроматограммах наблюдался пик вещества со временем удерживания, совпадающим с таковым для α -соланина и α -чаконина ($t_R = 4,79 \pm 0,02$ мин и $t_R = 4,78 \pm 0,015$ мин), а по молекулярной массе – соответствующий агликону – соланидину ($m/z = 398,3$). При этом время удерживания для соланидина при $t_R = 5,38 \pm 0,0098$ мин. Вероятнее всего, в процессе ионизации ГА в масс-детекторе происходил разрыв гликозидной связи с высвобождением агликона. Содержание соланидина относительно содержания в пробе суммы гликозидов составляло не более 2% по массе.

Линейность методик устанавливалась в диапазоне предполагаемой аналитической области концентраций целевых веществ, включающей от

⁴ Там же.

80 до 120% содержания каждого компонента в экстрактах кожуры клубней картофеля, согласно таблице 3. Калибровочные графики зависимости площади пиков от концентрации компонентов, уравнения регрессии и коэффициенты корреляции представлены на рисунках 6–8.

Полученные коэффициенты корреляции превышали значение 0,99, что соответствует требованиям ГФ РФ XV изд.

Нижний предел количественного определения (НПКО) рассчитывался путём сравнения максимальной интенсивности отклика детектора при инъекции холостой пробы (5% ДМСО, 95 мл раствора HBSS, 10 мл метанола с внутренним стандартом) и пробы с минимальными концентрациями аналитов. За НПКО принимали концентрации целевых веществ, которые давали отклик детектора не менее, чем в 10 раз превышающий уровень шума на промежутке времени $t_{уд.}$ аналита ± ширина пика у основания, полученного после инъекции пробы с максимальной концентрацией рабочего диапазона. Кроме того, повторяемость и правильность 5 инъекций растворов с концентрацией, соответствующей НПКО, не превышали 20%. НПКО для α -соланина составил 50 нг/мл, для α -чаконина – 10 нг/мл, соланидина – 2,0 нг/мл.

Прецизионность (повторяемость) методики оценивалась по 6 точкам одной концентрации, равной 100% от номинальной (табл. 4).

Для α -соланина в концентрации 250 нг/мл величина RSD не превышала 5%. Для α -чаконина в концентрации 450 нг/мл и соланидина в концентрации 4 нг/мл RSD не превышала 10%.

Внутрилабораторная прецизионность оценивалась по 6 точкам 100% от номинальных концентраций исследуемых веществ, приготовленных двумя исследователями в одной лаборатории, с использованием одного оборудования и материалов. Данные представлены в таблице 5.

Критерии Фишера, рассчитанные для α -соланина, α -чаконина и соланидина, были меньше табличных и составили 1,18, 1,19 и 1,15 соответственно. Вычисленные критерии Стьюдента для веществ были равны соответственно 0,46, 0,42 и 1,41 при уровне значимости 95%, числе степеней свободы 10, что также было ниже табличных значений.

Для оценки правильности анализировали параметры 9 точек (табл. 6). Рассчитывали открываемость, стандартное отклонение, среднеквадратичное отклонение.

В результате RSD не превышали 7% для каждого из веществ.

ОБСУЖДЕНИЕ

ГА являются перспективными фармакологическими агентами в связи с широким спектром биологических эффектов [14, 15]. Использование экстрактов из

растительного сырья требует предварительной стандартизации – в первую очередь, доказательства процентного содержания целевых веществ.

В литературе описан ряд методов определения содержания ГА в картофельных продуктах: высокоэффективная тонкослойная хроматография [16, 17], иммуноферментный анализ (ИФА) гетерогенный [6, 7] и гомогенный в сочетании с капиллярным электрофорезом [18], высокоэффективная жидкостная хроматография с применением УФ-детектирования [8, 9] или tandemной масс-спектрометрии [19–21].

Минусами твердофазного ИФА являются низкая воспроизводимость, значительная длительность, а также высокая стоимость анализа. Высокоэффективный капиллярный электрофорез в сочетании с лазерно-флуоресцентной детекцией ограниченно применяется при анализе малорастворимых в воде и водноспиртовых растворах веществ. Также применение лазерно-флуоресцентного детектора подразумевает многостадийную подготовку к анализу (выделение, очистка, метка) [19].

ГА имеют близкие максимумы поглощения, лежащие в диапазоне 200–208 нм, в связи с чем снижается селективность и чувствительность количественного определения с применением ультрафиолетового детектора. С помощью высокоэффективной тонкослойной хроматографии возможно открыть 10 нг алкалоидов, тогда как чувствительность ВЭЖХ/МС/МС зачастую существенно выше [22, 23]. Также для описанных методов (за исключением масс-детектирования) проблемой является разделение близких по физико-химическим свойствам веществ, например, α -соланина и α -чаконина, что снижает их селективность.

Таким образом, актуальным является разработка высокочувствительной методики, позволяющей анализировать одновременно α -соланин, α -чаконин и их агликон в многокомпонентных растительных экстрактах с минимальной пробоподготовкой и удовлетворительными метрологическими характеристиками.

Дискутабельным является ряд вопросов, а именно о проведении валидации методики, которую предполагается использовать для количественного определения веществ в образцах с потенциально широким диапазоном их концентраций (при применении различных экстрагентов или методик экстракции).

Установление предела количественного определения не регламентируется ГФ РФ XV изд., однако, ввиду анализа неизвестных концентраций целевых веществ в ходе подбора методики экстракции необходимо было определение данного критерия.

Таблица 1 – Соотношение компонентов подвижной фазы по объему в зависимости от времени элюирования

Время анализа, мин	0,1%-я водная муравьиная кислота	Метанол
1–5	65%	35%
6–8	30%	70%
9	10%	90%
10	1%	99%

Таблица 2 – Данные оценки пригодности хроматографической системы

Анализируемое вещество	Параметр			
	Время удерживания, мин	RSD площади пика, %	Фактор асимметрии, A_s	Число теоретических тарелок, N
Фексофенадин	5,27±0,037	1,67	1,42	15620,64
α-соланин	4,85±0,0033	1,85	0,96	8827,11
α-чаконин	4,83±0,013	1,73	0,96	8790,29
Соланидин	5,38±0,0098	1,74	0,87	10644,34

Таблица 3 – Исходные концентрации веществ для оценки линейности методики

Концентрация раствора стандартного образца, нг/мл		Площадь пика стандартного образца, mAU×мин	Площадь пика стандартного образца в пересчёте на внутренний стандарт, %	Рассчитанная концентрация стандартного образца, нг/мл	R, %
α-соланин	50	8003	0,24	54,91	109,82
	250	20994	0,90	237,72	95,088
	300	25957	1,16	308,52	102,84
	500	40719	2,13	573,15	114,63
	1000	72572	3,95	1072,42	107,24
	5000	295813	17,73	4855,96	97,12
α-чаконин	10	124	0,04	8,50	85,00
	50	799	0,04	50,08	100,16
	400	5339	0,29	399,62	99,91
	450	6103	0,32	435,51	96,78
	500	8024	0,40	544,31	108,86
	1000	14759	0,84	1142,53	114,25
	2000	22347	1,44	1949,54	97,48
	5000	52103	3,60	4879,91	97,60
Соланидин	2,0	1355	0,05	2,54	117,00
	3,2	2840	0,11	3,48	111,88
	4,0	2924	0,12	3,65	93,75
	4,8	4093	0,18	4,39	93,54
	5,0	4064	0,19	4,68	95,40
	10,0	13746	0,46	8,62	87,10
	100,0	138737	6,75	101,64	101,37

Таблица 4 – Результаты оценки прецизионности методики количественного определения α -соланина, α -чаконина, соланидина (уровень повторяемости)

Анализируемый компонент, нг/мл	Площадь пика стандартного образца, мAU×мин	Площадь пика стандартного образца в пересчёте на внутренний стандарт, %	Рассчитанная концентрация стандартного образца, нг/мл	Метрологические характеристики
α -соланин, 250	21945	0,92	242,33	$\bar{x}=249,18$ нг/мл
	22258	0,90	237,49	$S^2=136,33$ нг/мл
	22453	0,92	243,98	$SD=11,68$ нг/мл
	20138	0,92	243,41	$RSD=4,69\%$
	23007	1,00	264,98	$\Delta x=\pm 10,12$ нг/мл
	21626	0,99	262,88	$\varepsilon=\pm 4,06\%$
				$\bar{x}\pm\Delta x=249,18\pm 10,12$ нг/мл
α -чаконин, 450	7790	0,36	484,60	$\bar{x}=456,52$ нг/мл
	7997	0,35	476,16	$S^2=1165,93$ нг/мл
	7532	0,33	455,45	$SD=34,15$ нг/мл
	7562	0,36	487,76	$RSD=7,48\%$
	5339	0,29	399,62	$\Delta x=\pm 29,59$ нг/мл
	6103	0,32	435,51	$\varepsilon=\pm 6,48\%$
				$\bar{x}\pm\Delta x=456,52\pm 29,59$ нг/мл
Соланидин, 4,0	3562	0,15	4,08	$\bar{x}=3,89$ нг/мл
	2288	0,13	3,89	$S^2=0,13$ нг/мл
	4093	0,18	4,49	$SD=0,36$ нг/мл
	3483	0,12	3,65	$RSD=9,35\%$
	3615	0,12	3,75	$\Delta x=\pm 0,32$ нг/мл
	4799	0,19	4,77	$\varepsilon=\pm 8,11\%$
				$\bar{x}\pm\Delta x=3,89\pm 0,32$ нг/мл

Таблица 5 – Результаты оценки прецизионности (уровень внутрилабораторной прецизионности) методики количественного определения α -соланина, α -чаконина, соланидина

Площадь пика стандартного образца, mAU×мин	Площадь пика стандартного образца в пересчёте на внутренний стандарт, %	Рассчитанная концентрация стандартного образца, нг/мл	Площадь пика стандартного образца, mAU×мин	Площадь пика стандартного образца в пересчёте на внутренний стандарт, %	Рассчитанная концентрация стандартного образца, нг/мл	Метрологические характеристики	
I исследователь			II исследователь				
α-соланин t _{выч.} =0,46 <t (95%; 10) F _{выч.} =1,18 <F (95%; 5, 5) – различия между результатами случайны							
21945	0,92	242,33	22848	0,97	257,67	$\bar{x}$ =249,18 нг/мл	$\bar{x}$ =245,91 нг/мл
22258	0,90	237,49	22635	0,96	253,65	S ² =136,33 нг/мл	S ² =115,097 нг/мл
22453	0,92	243,98	22164	0,89	235,62	SD=11,68 нг/мл	SD=10,73 нг/мл
20138	0,92	243,41	22258	0,90	237,72	RSD=4,69%	RSD=4,36%
23007	1,00	264,98	22935	0,89	235,32	Δx=±10,12 нг/мл	Δx=±9,30 нг/мл
21626	0,99	262,90	22872	0,97	255,51	ε=±4,06%	ε=±3,78%
						$\bar{x}\pm\Delta x=249,18\pm10,12$ нг/мл	$\bar{x}\pm\Delta x=245,91\pm3,78$ нг/мл
α-чаконин t _{выч.} =0,42 <t (95%; 10), F _{выч.} =1,19 <F (95%; 5, 5) – различия между результатами случайны							
7790	0,36	484,60	8343	0,37	505,77	$\bar{x}$ =456,52 нг/мл	$\bar{x}$ =465,14 нг/мл
7997	0,35	476,16	6103	0,32	503,51	S ² =1165,93 нг/мл	S ² =976,47 нг/мл
7532	0,33	455,45	7532	0,33	435,51	SD=34,15 нг/мл	SD=31,25 нг/мл
7562	0,36	487,76	2823	0,38	445,61	RSD=7,48%	RSD=6,72%
5339	0,29	399,62	6318	0,33	444,99	Δx=±29,59 нг/мл	Δx=±27,08 нг/мл
6103	0,32	435,51	7418	0,37	455,46	ε = ± 6,48%	ε = ±5,82%
						$\bar{x}\pm\Delta x=456,52\pm6,48$ нг/мл	$\bar{x}\pm\Delta x=465,14\pm6,48$ нг/мл
Соланидин t _{выч.} =1,41 <t (95%; 10), F _{выч.} =1,15 <F (95%; 5, 5) – различия между результатами случайны							
3562	0,15	4,08	3615	0,118	3,653	$\bar{x}$ =3,89нг/мл	$\bar{x}$ =3,86 нг/мл
2288	0,13	3,89	3483	0,120	3,681	S ² =0,13 нг/мл	S ² =0,13 нг/мл
4093	0,18	4,49	3155	0,110	3,540	SD=0,36 нг/мл	SD=0,36 нг/мл
3483	0,12	3,65	4697	0,147	4,075	RSD=9,35 %	RSD=9,16 %
3615	0,12	3,75	4093	0,175	4,486	Δx=±0,32 нг/мл	Δx=±0,31 нг/мл
4799	0,19	4,77	2921	0,124	3,749	ε=±8,11%	ε=±7,94%
						$\bar{x}\pm\Delta x=3,89\pm0,32$ мг/мл	$\bar{x}\pm\Delta x=3,86\pm0,31$ нг/мл

**Таблица 6 – Результаты оценки правильности методики количественного определения
α-соланина, α-чаконина, соланидина**

Концентрация стандартного раствора, нг/мл	Площадь пика стандартного образца, mAU×мин	Площадь пика стандартного образца в пересчёте на внутренний стандарт, %	Найдено, нг/мл	R, %	Метрологические характеристики
α-соланин					
200	18565	0,817	214,44	107,22	$\bar{x}$ =98,23%
200	19026	0,743	194,24	97,12	SD=5,43
200	19411	0,723	188,69	94,35	RSD=5,53%
250	21945	0,918	242,33	96,93	
250	20138	0,922	243,41	97,36	
250	22453	0,924	243,98	97,59	
300	42062	1,154	307,01	102,34	
300	23007	1,001	264,98	88,33	
300	25957	1,160	308,52	102,84	
α-чаконин					
400	6407	0,290	394,69	98,67	$\bar{x}$ =101,25%
400	6545	0,285	388,71	97,18	SD=4,52
400	5339	0,293	399,62	99,91	RSD=4,47%
450	7532	0,334	455,45	101,21	
450	8063	0,370	503,51	111,89	
450	7002	0,320	435,51	96,78	
500	8343	0,371	505,45	101,09	
500	8223	0,371	504,89	100,98	
500	8027	0,381	517,86	103,57	
Соланидин					
3,2	3626	0,092	3,27	97,98	$\bar{x}$ =96,81%
3,2	3278	0,082	3,12	102,60	SD=6,28
3,2	3455	0,082	3,13	102,33	RSD=6,49%
4,0	4987	0,147	4,075	98,17	
4,0	3615	0,118	3,65	109,51	
4,0	3483	0,120	3,68	108,67	
4,8	4064	0,194	4,77	100,59	
4,8	6965	0,210	5,01	95,80	
4,8	4697	0,147	4,075	117,81	

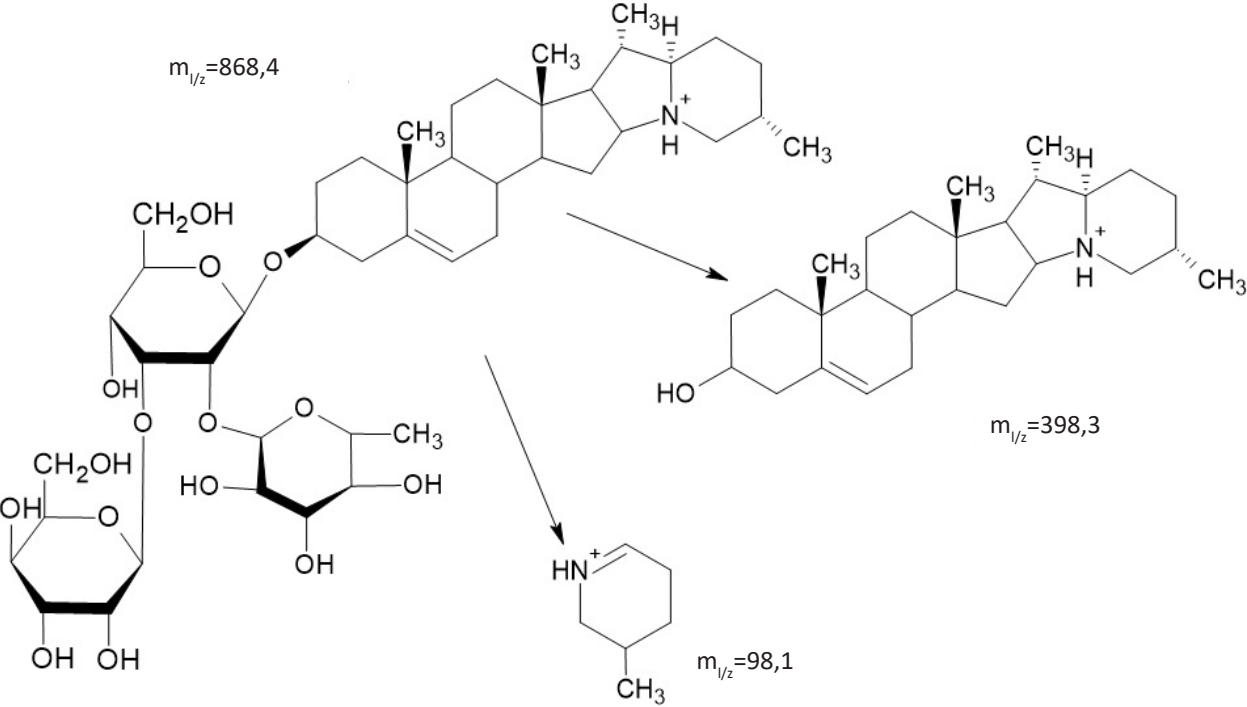


Рисунок 1 – Структурная формула α-соланина и фрагментация его молекулы

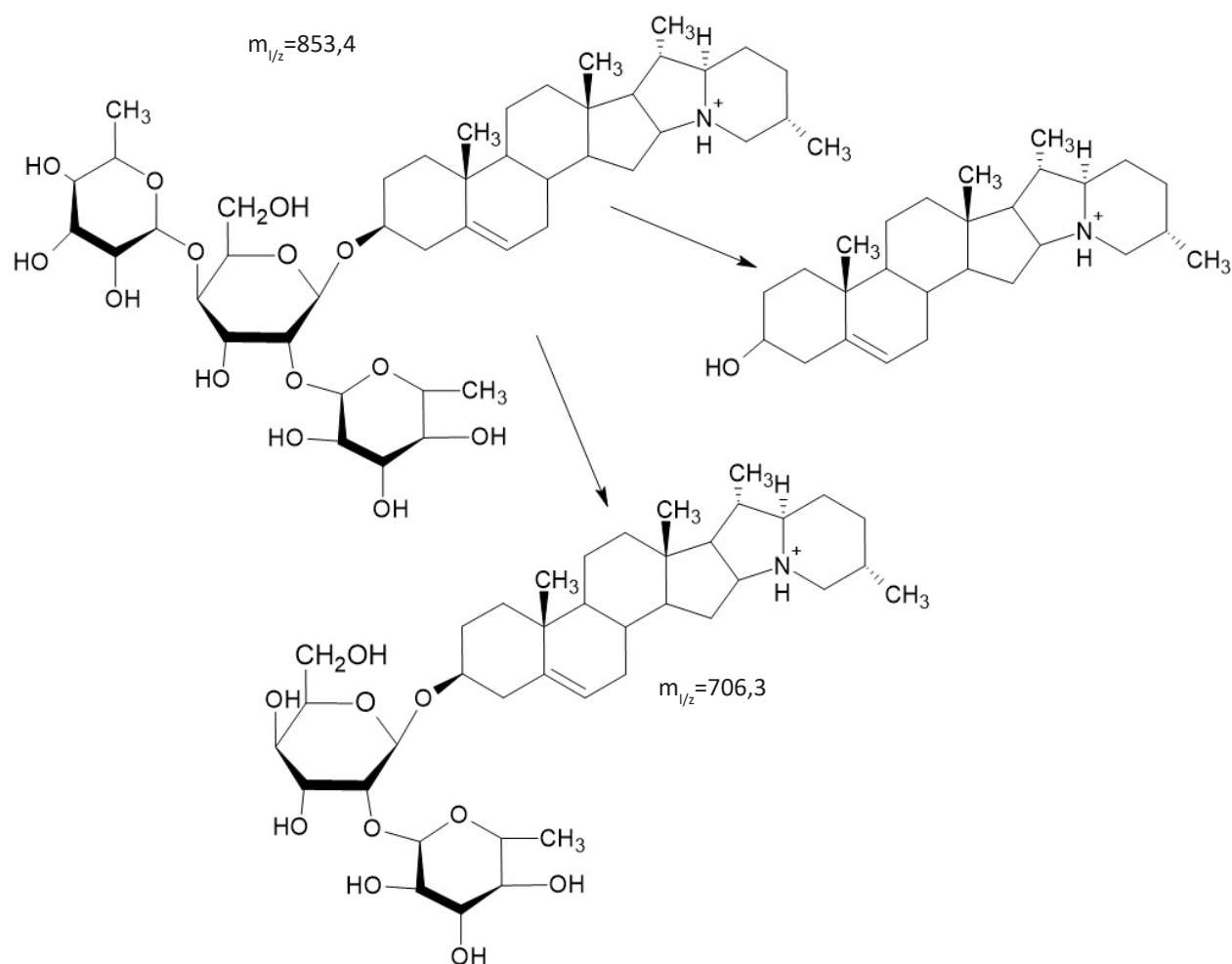


Рисунок 2 – Структурная формула α-чаконина и фрагментация его молекулы

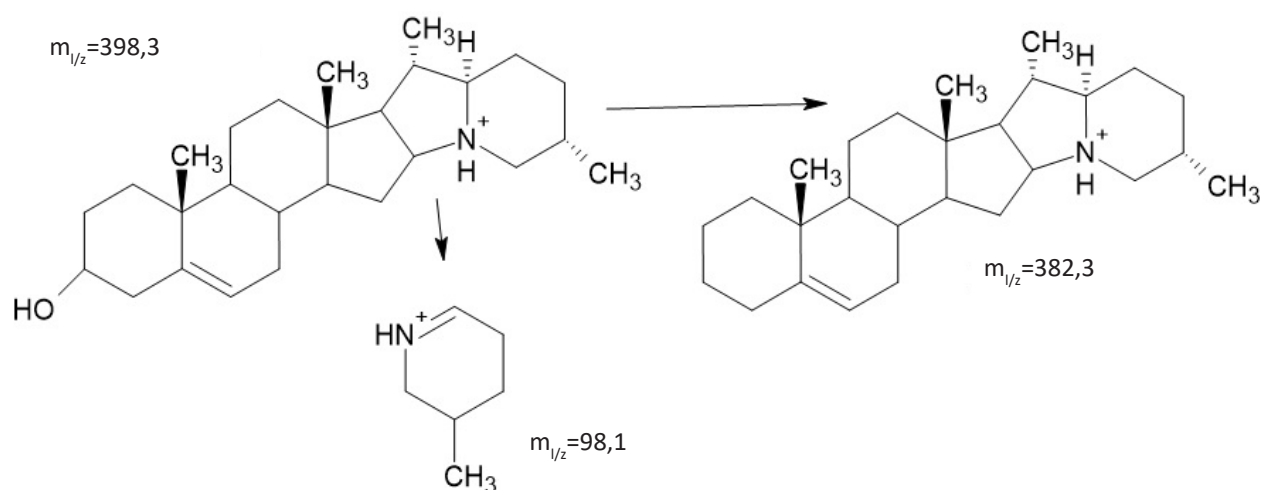


Рисунок 3 – Структурная формула соланидина и фрагментация его молекулы

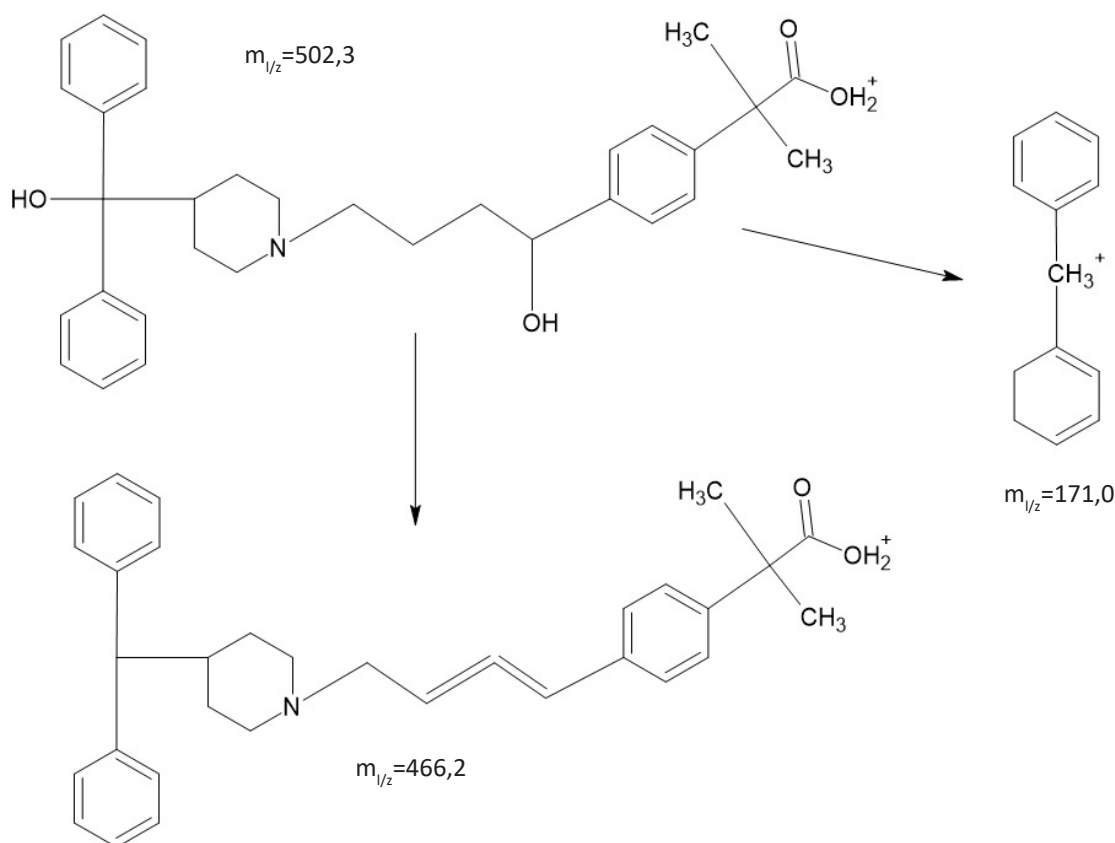


Рисунок 4 – Структурная формула фексофенадина и фрагментация его молекулы

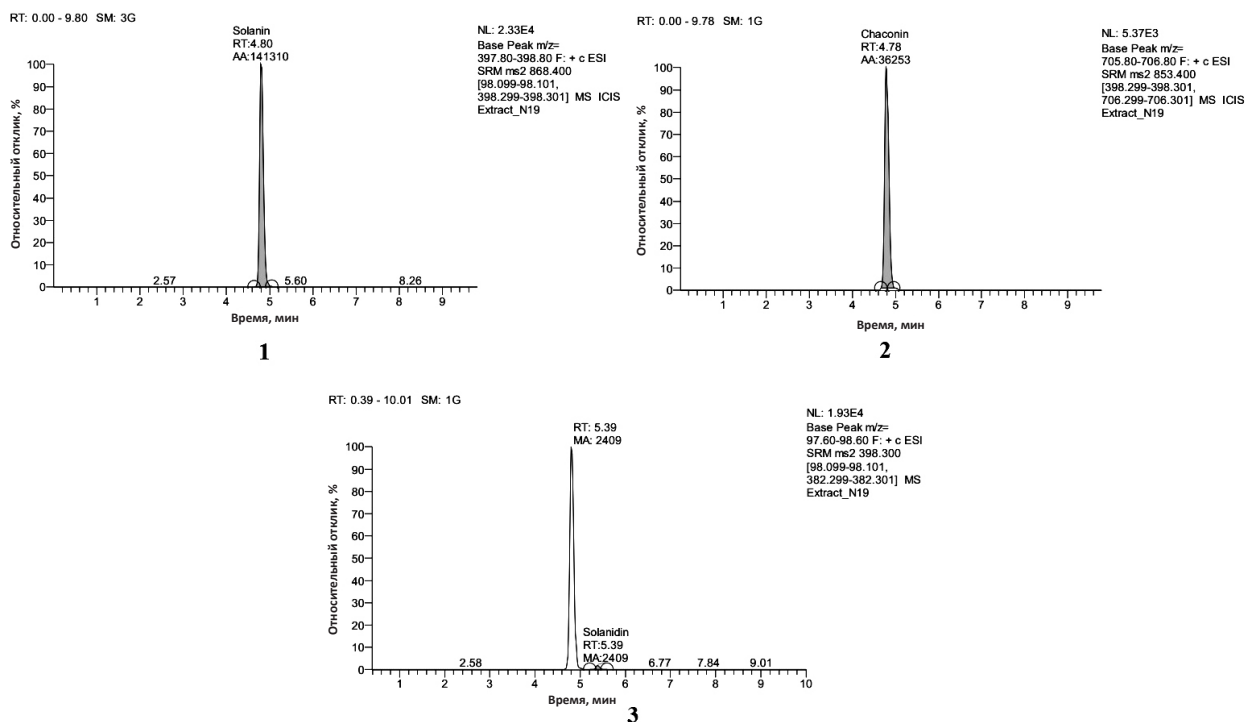


Рисунок 5 – Образцы хроматограмм экстракта, содержащего α -соланин (1), α -чаконин (2), соланидин (3)

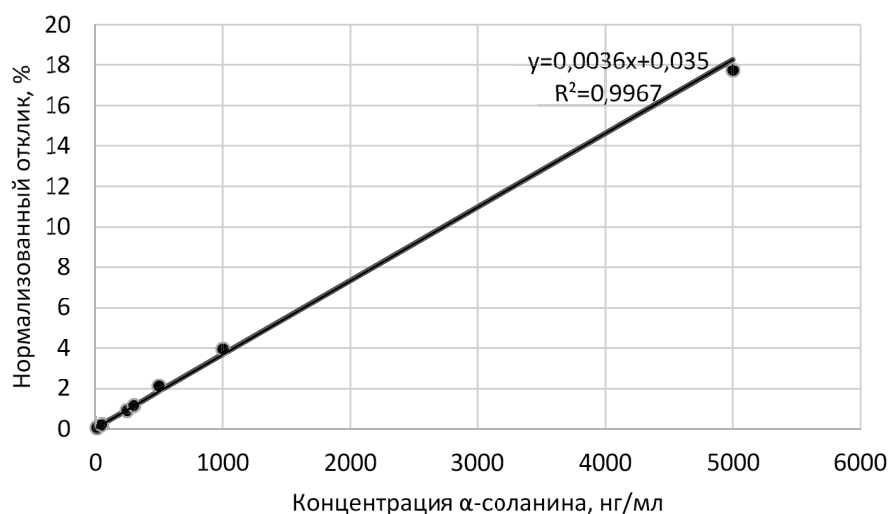


Рисунок 6 – График зависимости нормализованного отклика α-соланина от его концентрации

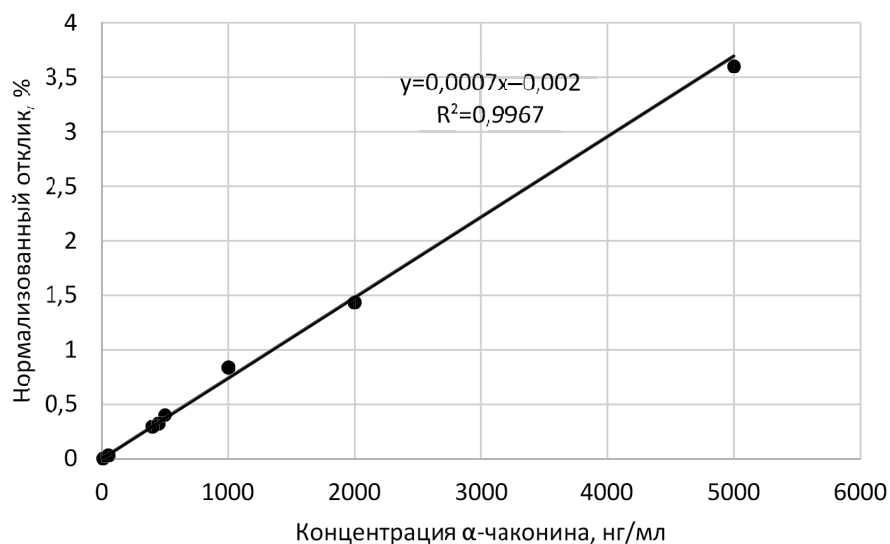


Рисунок 7 – График зависимости нормализованного отклика α-чаконина от его концентрации

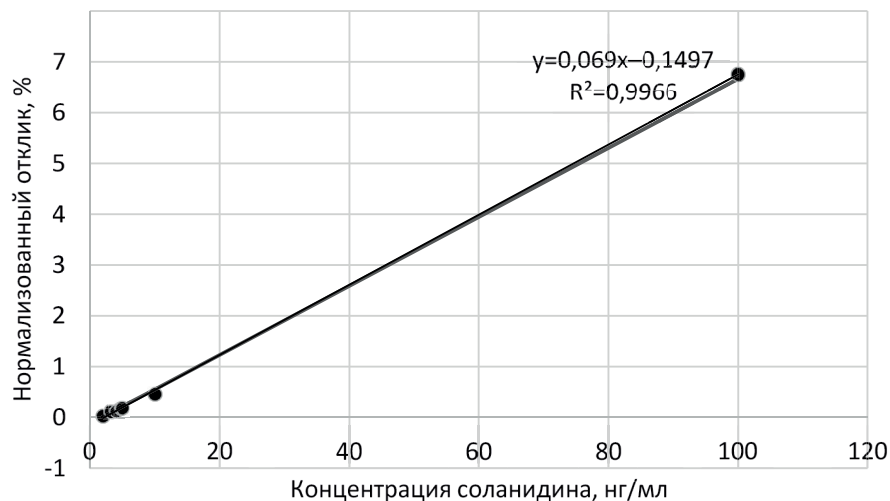


Рисунок 8 – График зависимости нормализованного отклика соланидина от его концентрации

Метод добавок, классически используемый при валидации многокомпонентных систем [24], не применялся в данном исследовании, так как кожура клубней картофеля клубненоносного, не подвергнутая инсоляции (предполагаемая матрица), содержала исследуемые вещества: $30,74 \pm 26,0017$ нг/мл α -соланина, $39,19 \pm 5,86$ нг/мл α -чаконина, $1,71 \pm 0,37$ нг/мл соланидина. При этом исходный уровень ГА в кожуре клубней разных сортов картофеля значительно варьирует и может изменяться под действием факторов окружающей среды (влажность, температура и т.д.) [25]. Указанные особенности используемого сырья послужили основанием для выбора альтернативного метода с применением внутреннего стандарта.

Ограничения исследования

Изменение условий хроматографического определения (например, использование другой колонки или режима элюирования) способно существенным образом повлиять на результаты исследования. В связи с чем, более рациональным было бы проведение межлабораторной валидации.

В нашем исследовании была проведена

апробация валидированной методики на экстрактах, полученных из кожуры клубней картофеля клубненоносного сорта Гала. В случае использования другого более высокопродуктивного сорта картофеля возможен выход значений концентрации ГА за пределы рабочего диапазона разработанной методики.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, разработана и валидирована аналитическая методика количественного анализа α -соланина, α -чаконина и соланидина в экстрактах, полученных из кожуры клубней картофеля клубненоносного (*Solanum tuberosum*, f. *Solanaceae*), методом ВЭЖХ/МС/МС. Методика удовлетворяет требованиям нормативной документации по показателям специфичности, линейности в аналитической области, правильности, прецизионности (на уровнях повторяемости, внутрилабораторной прецизионности).

Данная методика может быть использована в рутинной практике количественного определения ГА при анализе их содержания в пищевых продуктах и комбинированных лекарственных препаратах.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Данное исследование не имело финансовой поддержки от сторонних организаций.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

Т.О. Острикова – проведение экспериментальной части работы, статистическая обработка полученных результатов, подготовка предварительного варианта рукописи; Н.Г. Богомолов – проведение экспериментальной части работы, обзор литературных источников по теме исследования; П.Ю. Мыльников – проведение экспериментальной части работ, статистическая обработка полученных результатов; А.В. Щулькин – утверждение окончательного варианта рукописи; И.В. Черных – разработка концепции исследования, утверждение окончательного варианта рукописи. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Щулькин А.В., Попова Н.М., Черных И.В. Оригинальные и воспроизведенные лекарственные препараты: современное состояние проблемы // Наука молодых (Eruditio Juvenium). – 2016. – №. 2. – С. 30–35.
2. Черных И.В., Кириченко Е.Е., Щулькин А.В., Попова Н.М., Котлярова А.А. Возможности применения некрахмальных полисахаридов растительного происхождения в клинической практике // Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. – 2018. – Т. 26, № 2. – С. 305–316. DOI: 10.23888/PAVLOVJ2018262305-316
3. Острикова Т.О., Калинкина О.В., Богомолов Н.Г., Черных И.В. Гликоалкалоиды растений семейства пасленовые (f. *Solanaceae*) как потенциальные лекарственные средства // Химико-фармацевтический журнал. – 2022. – Т. 56, № 7. – С. 25–34. DOI: 10.30906/0023-1134-2022-56-7-25-34
4. Mokgehele T.M., Madala M., Gitari W.M., Tavengwa N.T. Effect of Microwave-Assisted Aqueous Two-Phase Extraction of α -Solanine from *S. retroflexum* and Analysis on UHPLC-qTOF-MS // Food Analytical Methods. – 2022. – Vol. 15, No. 3. – P. 1-13. DOI: 10.1007/s12161-021-02224-9
5. Desai S., Tatke P., Gabhe S. A new validated HPLC-DAD method for estimation of solasodine from *Solanum nigrum* Linn. extracts and formulations // The Natural Products Journal. – 2014. – Vol. 4, No. 3. – P. 196–200. DOI: 10.2174/2210315504666141017002102
6. Okada K., Matsuo K. Development of New Antibodies and an ELISA System to Detect the Potato Alkaloids α -Solanine and α -Chaconine // Foods. – 2023. – Vol. 12, No.8. – P. 1621. DOI: 10.3390/foods12081621
7. Li P., Jin M. Application of Immunoassay Technology in Food Inspection // Foods. – 2023. – Vol. 12, No. 15. – P. 2923. DOI: 10.3390/foods12152923
8. Sotelo A., Serrano B. High-performance liquid

- chromatographic determination of the glycoalkaloids α -solanine and α -chaconine in 12 commercial varieties of Mexican potato // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. – 2000. – Vol. 48, No. 6. – P. 2472–2475. DOI: 10.1021/jf990755t
9. Hussain M.H., Hassoon A.S., Abid F.M. Reversed phase HPLC method for Separation and Identification Of steroidal glycoalkaloids (SGAs) from Form (Solanum) extract // *Indian Journal of Public Health Research & Development*. – 2018. – Vol. 9, No. 8. – P. 1197. DOI: 10.5958/0976-5506.2018.00893.8
 10. Martinez-García I., Gaona-Scheytt C., Morante-Zarero S., Sierra I. Development of a Green, Quick, and Efficient Method Based on Ultrasound-Assisted Extraction Followed by HPLC-DAD for the Analysis of Bioactive Glycoalkaloids in Potato Peel Waste // *Foods*. – 2024. – Vol. 13, No. 5. – P. 651. DOI: 10.3390/foods13050651
 11. Liu W., Zhang N., Li B., Fan S., Zhao R., Li L.P., Wu G.H., Zhao Y. Determination of α -chaconine and α -solanine in commercial potato crisps by QuEChERS extraction and UPLC-MS/MS // *Chemical Papers*. – 2014. – Vol. 68, No. 11. – P. 1498–1504. DOI: 10.2478/s11696-014-0617-8
 12. Hossain M.B., Rai D.K., Brunton N.P. Optimisation and validation of ultra-high performance liquid chromatographic-tandem mass spectrometry method for qualitative and quantitative analysis of potato steroidal alkaloids // *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. – 2015. – Vol. 997. – P. 110–115. DOI: 10.1016/j.jchromb.2015.05.033
 13. Эпштейн Н.А., Емшанова С.В. О требованиях к пригодности хроматографической системы при контроле качества лекарственных субстанций и препаратов методом ВЭЖХ // *Химико-фармацевтический журнал*. – 2008. – Т. 42, № 11. – С. 34–40. DOI: 10.33380/2305-2066-2019-8-1-108-112
 14. Delbrouck J.A., Desgagné M., Comeau C., Bouarab K., Malouin F., Boudreault P.L. The Therapeutic Value of Solanum Steroidal (Glyco)Alkaloids: A 10-Year Comprehensive Review // *Molecules*. – 2023. – Vol. 28, No. 13. – P. 4957. DOI: 10.3390/molecules28134957
 15. Hassan S.H., Gul S., Zahra H.S., Maryam A., Shakir H.A., Khan M., Irfan M. Alpha Solanine: A Novel Natural Bioactive Molecule with Anticancer Effects in Multiple Human Malignancies // *Nutr Cancer*. – 2021. – Vol. 73, No. 9. – P. 1541–1552. DOI: 10.1080/01635581.2020.1803932
 16. Simonovska B., Vovk I. High-performance thin-layer chromatographic determination of potato glycoalkaloids // *J Chromatogr A*. – 2000. – Vol. 903, No. 1-2. – P. 219–225. DOI: 10.1016/S0021-9673(00)00900-6
 17. Skarkova J., Ostry V., Ruprich J. Instrumental HPTLC determination of α -solanine and α -chaconine in peeled potato tubers // *J PC–Journal of Planar Chromatography–Modern TLC*. – 2008. – Vol. 21, Issue 2. – P. 113–117. DOI: 10.1556/JPC.21.2008.2.7
 18. Driedger D.R., LeBlanc R.J., LeBlanc E.L., Sporns P. A capillary electrophoresis laser-induced fluorescence method for analysis of potato glycoalkaloids based on a solution-phase immunoassay. 1. Separation and quantification of immunoassay products // *J Agric Food Chem*. – 2000. – Vol. 48, No. 4. – P. 1135–1139. DOI: 10.1021/jf990680t
 19. Wan L., Gao H., Gao H., Du R., Wang F., Wang Y., Chen M. Selective extraction and determination of steroidal glycoalkaloids in potato tissues by electromembrane extraction combined with LC-MS/MS. *Food Chem*. – 2022. – Vol. 367. – P. 130724. DOI: 10.1016/j.foodchem.2021.130724
 20. Shakya R., Navarre D.A. Rapid screening of ascorbic acid, glycoalkaloids, and phenolics in potato using high-performance liquid chromatography // *J Agric Food Chem*. – 2006. – Vol. 54, No. 15. – P. 5253–5260. DOI: 10.1021/jf0605300
 21. Sheridan R.S., Kemnah J.L. Glycoalkaloid content in pet food by UPLC-tandem mass spectrometry // *J Chromatogr Sci*. 2010. – Vol. 48, No. 10. – P. 790–794. DOI: 10.1093/chromsci/48.10.790
 22. Razgonova M., Kulikova V., Khodaeva V., Bolotova L., Baigarashev T., Plotnikova N., Zakharenko A., Golokhvas K. Simultaneous Determination of Steroidal Alkaloids and Polyphenol Group from Eight Varieties of Siberian *Solanum tuberosum* L. through Tandem Mass Spectrometry // *Agriculture*. – 2023. – Vol. 13, No. 4. – P. 758. DOI: 10.3390/agriculture13040758
 23. Taniguchi M., Takamura N., Watanabe T., Ishimaru R., Chinaka S., Miki A., Miyazaki H., Tsuchihashi H., Zaitso K. Easily Operable Quantification Method of 21 Plant-Derived Alkaloids in Human Serum by Automatic Sample Preparation and Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry // *Chromatographia*. – 2022. – Vol. 85, No. 12. – P. 1051–1063. DOI: 10.1007/s10337-022-04212-5
 24. Ларский М.В., Позднякова А.Е., Хаджиева З.Д., Поздняков Д.И. Разработка и валидация методики количественного определения активных фармацевтических субстанций в спрее назальном // *Фармация и фармакология*. – 2021. – Т. 9, № 4. – С. 266–277. DOI: 10.19163/2307-9266-2021-9-4-266-277
 25. Dhalsamant K., Singh C.B., Lankapalli R. A Review on Greening and Glycoalkaloids in Potato Tubers: Potential Solutions // *J Agric Food Chem*. – 2022. – Vol. 70, No. 43. – P. 13819–13831. DOI: 10.1021/acs.jafc.2c01169

АВТОРЫ

Острикова Татьяна Олеговна – ассистент кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-7916-2269. E-mail: tostriкова0@gmail.com

Богомолов Никита Геннадьевич – студент 5-го курса фармацевтического факультета ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-3268-4174. E-mail: nikita.bogomolov50@gmail.com

Мыльников Павел Юрьевич – кандидат биологических наук, ассистент кафедры фармакологии с курсом фармации ФДПО ФГБОУ ВО

РязГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0001-7829-2494. E-mail: Pavelmylnikov@mail.ru

Щулькин Алексей Владимирович – доктор биологических наук, доцент, профессор кафедры фармакологии с курсом фармации ФДПО ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0003-1688-0017. E-mail: alekseyshulkin@rambler.ru

Черных Иван Владимирович – доктор биологических наук, доцент, заведующий кафедрой фармацевтической химии и фармакогнозии ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-5618-7607. E-mail: ivchernykh88@mail.ru