

Анализ витамина А в поливитаминных препаратах

А. С. Алексеева, Т. Б. Шемерянкина, М. Н. Лякина, М. С. Смирнова,
Е. П. Федорова*, С. Д. Кахраманова

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. Витамин А в поливитаминных лекарственных препаратах представлен преимущественно в виде эфиров ретинола: ретинола ацетата, ретинола пальмитата, а также бетакаротена — предшественника (димера) ретинола, содержащегося в растениях и способного превращаться в ретинол в клетках печени. В составе лекарственных средств ретинол анализируется преимущественно методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с предварительной очисткой и выделением витамина методом жидкостной экстракции. Однако в научной литературе встречаются и другие способы подготовки пробы и анализа этих соединений. Важным аспектом является также разделение витамина А с другими жирорастворимыми витаминами, которые наряду с витамином А входят в состав поливитаминных препаратов. Цель работы — анализ и обобщение данных литературы о современных методах определения витамина А и его производных в лекарственных препаратах. Проведен анализ номенклатуры препаратов, содержащих витамин А и зарегистрированных в Российской Федерации, а также методов анализа, используемых согласно нормативной документации производителей этих препаратов. Показано, что наиболее распространенным методом анализа эфиров ретинола является ВЭЖХ в изократическом режиме элюирования на октадецилсилильных сорбентах в обращенно-фазовом режиме, реже на аминопропилсилильных сорбентах в нормально-фазовом режиме элюирования. Бетакаротен в лекарственных средствах определяется преимущественно методом спектрофотометрии.

Ключевые слова: ВЭЖХ; ретинол; бетакаротен; ретинола ацетат; ретинола пальмитат; лекарственные формы; нормативная документация производителей лекарственных средств

Для цитирования: Алексеева АС, Шемерянкина ТБ, Лякина МН, Смирнова МС, Федорова ЕП, Кахраманова СД. Анализ витамина А в поливитаминных препаратах. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2021;11(3):174–184. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2021-11-174-184>

* **Контактное лицо:** Федорова Елена Павловна; fedorovaep@expmed.ru

Analysis of Vitamin A in Multivitamin Products

A. S. Alekseeva, T. B. Shemeryankina, M. N. Lyakina, M. S. Smirnova,
E. P. Fedorova*, S. D. Kakhramanova

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

Abstract. Vitamin A is present in multivitamin products mainly in the form of retinol esters: retinyl acetate, retinyl palmitate, and beta carotene—retinol precursor (dimer) found in plants, which is capable of converting into retinol in liver cells. Retinol is determined in medicinal products primarily by high performance liquid chromatography (HPLC), with preliminary purification and vitamin isolation by liquid-liquid extraction. However, scientific literature also describes other methods of sample preparation and analysis of such compounds. An important issue is differentiation of vitamin A from other fat-soluble vitamins often included as components in multivitamin products. The aim of the study was to analyse and summarise data on current methods used for determination of vitamin A and its derivatives in medicinal products. The authors analysed the range of vitamin A products authorised in the Russian Federation, and the test methods described in their product specification files. The study demonstrated that the test method most often used for determination of retinol esters was HPLC with isocratic elution mode using octadecylsilyl packing in the reverse-phase mode, and, less frequently, aminopropylsilyl packing in the normal phase mode. Determination of beta carotene in medicinal products is most often performed using spectrophotometry.

Key words: HPLC; retinol; beta carotene; retinyl acetate; retinyl palmitate; dosage forms; product specification files

For citation: Alekseeva AS, Shemeryankina TB, Lyakina MN, Smirnova MS, Fedorova EP, Kakhramanova SD. Analysis of vitamin A in multivitamin products. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya = The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2021;11(3):174–184. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2021-11-174-184>

* **Corresponding author:** Elena P. Fedorova; fedorovaep@expmed.ru

Симптомы дефицита витамина А были описаны еще в папирусе Эберса (1500 г. до н. э.) и Лондонском медицинском папирусе. Однако первые исследования витаминов, их свойств и биологической активности появились только в конце XIX века. В 1906–1913 гг. проводились исследования, позволившие обнаружить в спиртовом экстракте молока, сливочном масле и яичном желтке жирорастворимый фактор, стимулирующий рост экспериментальных животных [1]. В результате дальнейших исследований структуры каротиноидов и ретиноидов и витаминно-зависимых процессов в организме была показана роль ретиналя в образовании зрительных пигментов. В конце 1940-х гг. О. Isler и соавт. синтезировали полностью *транс*-ретинол [цит. по 1], что позволило широко использовать его как в пищевых продуктах, так и в лекарственных препаратах. Для изучения метаболизма витамина А и его количественного определения используются различные химические и физико-химические методы анализа [2, 3].

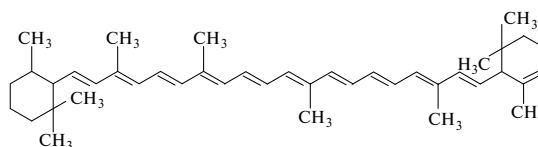
Цель работы — анализ и обобщение данных литературы о современных методах определения

витамина А и его производных в лекарственных препаратах.

Для достижения поставленной цели необходимо было установить, в каких лекарственных формах встречается витамин А в поливитаминных препаратах, а также провести анализ литературы и нормативной документации производителей (отечественных/зарубежных), выпускающих препараты, содержащие витамин А.

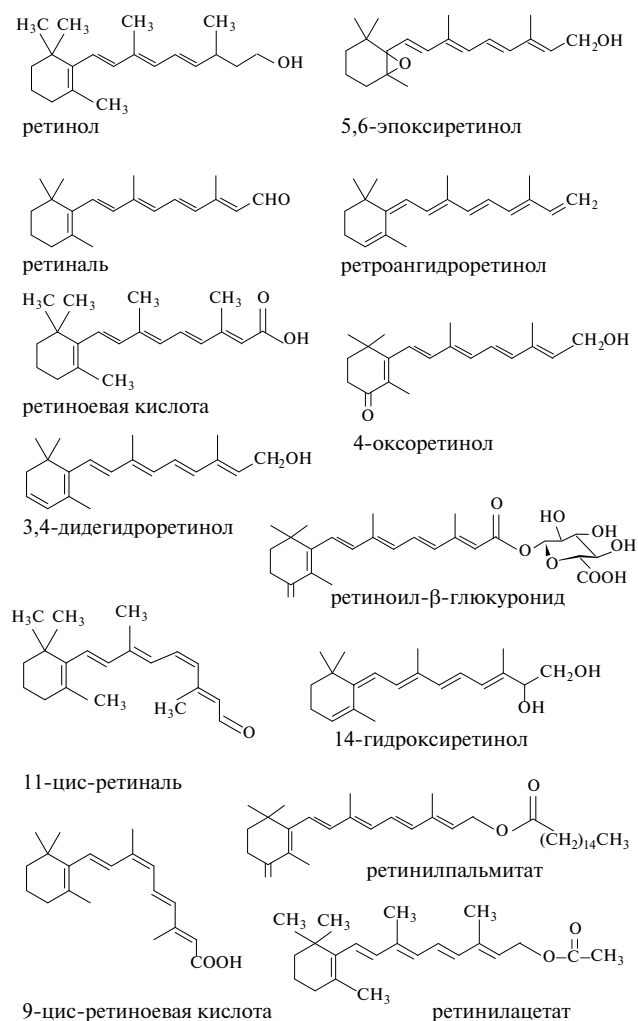
Витамин А — группа близких по химическому строению веществ, которая включает ретинол (витамин А₁, аксерофтол, полностью *транс*-ретинол) и другие ретиноиды, обладающие сходной биологической активностью: дегидроретинол (витамин А₂), ретиналь (ретинен, альдегид витамина А₁) и ретиновую кислоту [1]. В природе витамин А в основном встречается в виде сложного эфира — ретинола, хорошо растворимого в органических растворителях и не растворимого в водных растворах. Структура и названия основных соединений группы витамина А представлены на схеме.

Провитамин А состоит из каротиноидов, в том числе α-каротина и β-криптоксантина, которые синтезируются исключительно растениями. Основным провитамином А является бетакаротен (β-каротин):



Из него в клетках слизистой оболочки кишечника и печени в результате окислительного расщепления при воздействии фермента каротиндиоксигеназы образуется ретинол. Бетакаротен нерастворим в воде, но растворяется в органических растворителях (как и ретинол) и зарегистрирован в качестве пищевой добавки Е160а [4]. Известно около 500 каротиноидов (α- и β-каротин, лютеин, ликопин, зеаксантин и т. п.), которые находят применение в медицине [5].

Бетакаротен является мощным антиоксидантом, характеризуется иммуностимулирующим и адаптогенным действием [6]. При приеме внутрь бетакаротен усваивается организмом всего на 25–33% и превращается в ретинол только 1/7 часть всосавшегося каротина. Один эквивалент ретинола равен 6 мкг бетакаротена, где 1 мкг = 3,33 МЕ [7]. Как было отмечено Д. Д. Панковым и соавт., в отличие от лекарственных препаратов, из пищи усваивается не более 15–20% витамина. Ни один из продуктов не может восполнить дефицит витамина А, поэтому в случае его дефицита необходим его дополнительный прием в виде лекарственных препаратов [8]. Однако во многих исследованиях была выявлена неоднозначная роль применения высоких доз бетакаротена. Показано



Схема

отсутствие влияния синтетического бетакаротена на снижение риска сердечно-сосудистых заболеваний или рака у людей с полноценным питанием. Повышенный риск развития рака легких у курильщиков связывают, в том числе, с применением бетакаротена в составе пищевых добавок [6, 9, 10].

Ретинол (истинный витамин А) в чистом виде нестабилен, поэтому производится и используется в виде полностью *транс*-ретинола ацетата и полностью *транс*-ретинола пальмитата (табл. 1). Как сложные эфиры эти соединения обладают более высокой стабильностью и лучшей растворимостью в жирах и в липофильных компонентах препаратов. Эфиры ретинола могут быть также включены в желатиновую матрицу, которая защищает их от окисления на какой-то период времени, даже если они подверглись термическому воздействию.

Для анализа витамина А и его аналогов в лекарственных препаратах является пригодным методом и широко применяется нормально-фазовая и/или обращенно-фазовая высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) с ультрафиолетовым (аналитическая длина волны — 325 нм), флуориметрическим или масс-спектрометрическим детектором [1, 11, 12].

При нормально-фазовом варианте ВЭЖХ элюируют сначала гидрофобные соединения, а затем — более полярные соединения, тогда как в обращенно-фазовом варианте наблюдается обратный порядок элюирования. Изомеры ретинола лучше всего разделяются методом нормально-фазовой хроматографии, тогда как эфиры ретинола лучше разделяются при использовании обращенно-фазового варианта. Каротиноиды также могут быть успешно проанализированы методом ВЭЖХ со спектрофотометрическим детектором, как пра-

вило, при длине волны 450 нм; ретиноиды — при длинах волн, соответствующих максимуму их спектра поглощения.

К другим возможным методам анализа ретинола и его эфиров следует отнести флуориметрию, основанную на регистрации интенсивности их зеленовато-желтой флуоресценции [13]. Поскольку и другие природные соединения способны флуоресцировать (например, витамин К₁), для обеспечения необходимой специфичности методики обычно используют хроматографическое разделение смеси с помощью ВЭЖХ или других методов.

Газовая хроматография с масс-спектрометрией была использована на селективных капиллярных колонках для изучения кинетики ретинола, в частности распределения дейтерированного ретинола в организме [14]. Кроме того, при исследовании бетакаротена, меченного углеродом-13, масс-спектрометрия изотопных отношений позволила получить важную информацию о его метаболизме у человека.

Колориметрическое/спектрофотометрическое определение [2, 15, 16] основано на измерении оптической плотности окрашенного комплекса, образующегося в результате дегидратации витамина А в присутствии кислот Льюиса при длине волны 620 нм и снижении поглощения при 325 нм при инактивации витамина А УФ-излучением. Для ряда лекарственных препаратов используются именно спектрофотометрические методики количественного определения эфиров ретинола и бетакаротена.

Биологические тесты анализа ретинола описаны в научной литературе и используются, когда не удается выбрать другие подходящие химические или физико-химические методы. Ряд биологических

Таблица 1. Свойства и характеристики *транс*-ретинола и его эфиров (по R. В. Rucker и соавт. [1], с изменениями)

Table 1. Properties and characteristics of *trans*-retinol and its esters (adapted from R. В. Rucker et al. [1])

Свойства Properties	Ретинол Retinol	Ретинола ацетат Retinyl acetate	Ретинола пальмитат Retinyl palmitate
Формула Formula	C ₂₀ H ₃₀ O	C ₂₂ H ₃₂ O ₂	C ₃₆ H ₆₀ O ₂
Молекулярная масса Molecular weight	286,44	328,48	524,84
Температура плавления, °С Melting point, °C	63–64	57–59	28–29
Удельный показатель поглощения ($E_{1cm}^{1\%}$) в 2-пропанол Specific absorbance ($E_{1cm}^{1\%}$) in 2-propanol	1820	1530	960
Максимум поглощения в 2-пропанол, нм Maximum absorbance in 2-propanol, nm	325	326	326
Флуоресценция: Fluorescence:			
Длина волны возбуждения, нм Excitation wavelength, nm	325	325	325
Длина волны эмиссии, нм Emission wavelength, nm	470	470	470

методов основан на реакции роста экспериментальных животных в ответ на поступление витамина А в организм животного, однако эти процедуры в настоящее время используются редко. Для измерения биологической активности и токсичности ретиноидов могут использоваться системы клеточных культур [1].

Поскольку, согласно данным литературы, наиболее распространенным методом анализа и разделения ретинола и его эфиров является ВЭЖХ, были проанализированы условия определения ретинола в исследованиях, проводимых с различными целями (табл. 2).

Кроме того, были проанализированы нормативные документы, регламентирующие анализ витамина А в премиксах методом ВЭЖХ (табл. 3).

Также были проанализированы методы и условия проведения испытаний для витамина А методом ВЭЖХ, описанные в монографиях Европейской фармакопеи и Фармакопеи США (табл. 4). Было установлено, что в данных источниках под витамином А также подразумеваются ретинола ацетат и пальмитат. Бетакаротен анализируется отдельно как самостоятельная субстанция.

Согласно исследованиям, описанным в большинстве проанализированных источников,

Таблица 2. Условия анализа ретинола, описанные в публикациях

Table 2. Retinol determination conditions described in scientific literature

Авторы и год выхода публикации Authors and date of publication	Цель исследования Aim of the study	Условия ВЭЖХ HPLC conditions
D. D. Bankson, R. M. Russell, J. A. Sadowski, 1986 [17]	Совместный анализ четырех основных эфиров ретинола в виде единого пика с последующим пересчетом на ретинола ацетат Simultaneous analysis of the four major retinol esters coeluting as a single peak with subsequent recalculation with reference to retinyl acetate	НФ: LiChrosorb Si 60 125×4 мм, 5 мкм (нормально-фазовая хроматография); предколонка LiChrosorb Si 60 30×4 мм, 10 мкм; ПФ А: диоксан–гексан (5:1000); ПФ Б: диоксан (градиентное элюирование с линейным увеличением доли ПФ Б после 1 мин анализа); скорость ПФ: 2,5 мл/мин; детектор: УФ, 325 нм Column: LiChrosorb Si 60 125×4 mm, 5 µm (normal-phase chromatography); pre-column: LiChrosorb Si 60 30×4 mm, 10 µm; Mobile phase A: dioxane–hexane (5:1000); Mobile phase B: dioxane (gradient elution with a linear increase in the proportion of Mobile phase B starting from minute 1 after the injection); Flow rate: 2.5 mL/min; Detector: UV, 325 nm
E. J. Johnson, S. D. Krasinski, et al., 1992 [18]	Определение ретинола отдельно от его эфиров Determination of retinol separately from its esters	Условия аналогичны использованным в работе [18] The same conditions as above [18]
S. Scalia, G. Ruberto, F. Bonina, 1995 [19]	Выделение ретинола, токоферола и их эфиров (ацетата или пальмитата) из матриц таблеток с использованием сверхкритической жидкостной экстракции. Экстракция лекарственной формы в среде углекислого газа при температуре 40 °С и давлении 250 атм. Isolation of retinol and tocopherol and their acetate or palmitate esters from tablets using supercritical fluid extraction. Carbon dioxide extraction of the dosage form at 40 °C and at the pressure of 250 atm.	НФ: Lichrospher CH-8, 250×4 мм, 5 мкм; ПФ: метанол–ацетонитрил (75:25); скорость ПФ: 1,3 мл/мин; концентрация каждого витамина: 10 мг/мл; растворитель: тетрагидрофуран; детектор: УФ, витамин Е — 280 нм, витамин А — 325 нм Column: Lichrospher CH-8, 250×4 mm; 5 µm; Mobile phase: methanol–acetonitrile (75:25); Flow rate: 1.3 mL/min; Concentration of each vitamin: 10 mg/mL; Solvent: tetrahydrofuran; Detector: UV, 280 nm — vitamin E, 325 nm — vitamin A
L. H. Wang, S. H. Huang, 2002 [20]	Разделение и определение витаминов А, Е, К и D в сыворотке крови телят, косметических и лекарственных средствах, лекарственных растениях Separation and determination of vitamins A, E, K, and D in bovine serum, cosmetic products, pharmaceutical products, Chinese herbs	НФ: Hypersil ODS 250×4,6 мм, 5 мкм; ПФ: ацетонитрил–дихлорметан–метанол (60:20:20); скорость ПФ: 1,0 мл/мин; детектор: УФ, 325 и 267 нм; время анализа: 12–14 мин; объем пробы: 25 мкл Column: Hypersil ODS 250×4.6 mm, 5 µm; Mobile phase: acetonitrile–dichlormethane–methanol (60:20:20) Flow rate: 1.0 mL/min, Detector: UV, 325 and 267 nm; Run time: 12–14 min; Injection volume: 25 µL

Продолжение таблицы 2
Table 2 (continued)

Авторы и год выхода публикации Authors and date of publication	Цель исследования Aim of the study	Условия ВЭЖХ HPLC conditions
L. A. Kozhanova, G. A. Fedorova, G. I. Baram, 2002 [21]	<p>Определение витаминов А и Е в поливитаминных препаратах (в присутствии витаминов В₁ и В₂, никотиновой кислоты, никоти-намида, пантотеновой кислоты, фолиевой кислоты, витаминов В₆, В₁₂, К₃, D₂ и D₃, биотина) Determination of vitamins A and E in multivitamin products (which also contain vitamins B₁ and B₂, nicotinic acid, nicotinamide, panto-thenic acid, folic acid, vitamins B₆, B₁₂, K₃, D₂ and D₃, biotin)</p>	<p>НФ: Nucleosil 100–5 C18 75×2 мм, 5 мкм; ПФ: ацетонитрил–вода (95:5); скорость ПФ: 100 мкл/мин; температура колонки: 35 °С; объем пробы: 2–10 мкл; детектор: УФ, 260, 270, 280, 290, 300 и 320 нм Column: Nucleosil 100–5 C18 75×2 mm, 5 μm; Mobile phase: acetonitrile–water (95:5); Flow rate: 100 μL/min; Column temperature: 35 °C; Injection volume: 2–10 μL; Detector: UV, 260, 270, 280, 290, 300, and 320 nm</p>
Q. Middtun, P. M. Ueland, 2011 [22]	<p>Определение ретинола, эргокальциферола, колекальциферола и α-токоферола в плазме крови человека Determination of retinol, ergo-calciferol, cholecalciferol, and α-tocopherol in human plasma</p>	<p>НФ: Ascentis Express C18 50×4,6 мм, 2,7 мкм; ПФ А: 0–4 мин 2,5 мМ аммония формиата в метаноле; ПФ Б: 4,1–5,0 мин метанол–вода (80:20); температура колонки: 55 °С; время удерживания ретинола 1,69 мин; скорость ПФ: 1,1 мл/мин; детектор: МС/МС с электрораспылением Column: Ascentis Express C18 50 4.6 mm, 2.7 μm; Mobile phase A: 0–4 min 2.5 mM ammonium formate in methanol; Mobile phase B: 4.1–5.0 min methanol–water (80:20); Column temperature: 55 °C; Retention time: retinol = 1.69 min; Flow rate: 1.1 mL/min; Detector: electrospray MS/MS</p>
Z. Temova-Rakuza, E. Srecnik, R. Roskar, 2017 [23]	<p>Одновременное определение вита-минов D₃, токоферола ацетата, К₁, β-каротина, ретинола пальмитата и кофермента Q10 Simultaneous determination of vitamin D₃, tocopherol acetate, K₁, β-carotene, retinyl palmitate, and coenzyme Q10</p>	<p>НФ: Luna C18 150×4,6 мм, 5 мкм; ПФ: ацетонитрил–тетрагидрофуран–вода (50:45:5); скорость ПФ: 1 мл/мин; объем пробы: 20 мкл; детектор: УФ, 270 нм; время анализа: 8 мин Column: Luna C18 150×4.6 mm, 5 μm; Mobile phase: acetonitrile–tetrahydrofuran–water (50:45:5); Flow rate: 1 mL/min, Injection volume: 20 μL; Detector: UV, 270 nm; Run time: 8 min</p>
R. Cruz Quiroz, N. Chotyakul et al., 2020 [24]	<p>Анализ аскорбиновой кислоты, ретинола, β-каротина и α-токоферола в цельном молоке после термической обработки под давлением (ПАТР) Analysis of ascorbic acid, retinol, β-carotene, and α-tocopherol in whole milk subjected to pressure-assisted thermal processing (PATP)</p>	<p>НФ: Phenomenex Luna C18 150×4,6 мм, 5 мкм; предколонка: 4×2 мм, 5 мкм; ПФ: ацетонитрил–метанол (65:35); скорость ПФ: 1 мл/мин; температура колонки: 35 °С; объем пробы: 100 мкл для α-токоферола, ретинола и β-каротина; детектор: УФ, 245, 296, 326 и 450 нм; время анализа: 30 мин Column: Phenomenex Luna C18 150×4.6 mm, 5 μm; pre-column: 4×2 mm, 5 μm; Mobile phase: acetonitrile–methanol (65:35); Flow rate: 1 mL/min; Column temperature: 35 °C; Injection volume: 100 μL for α-tocopherol, retinol, and β-carotene; Detector: UV, 245, 296, 326, and 450 nm; Run time: 30 min</p>

Примечание. ВЭЖХ — высокоэффективная жидкостная хроматография; НФ — неподвижная фаза; ПФ — подвижная фаза; УФ — ультрафиолетовый; МС — масс-спектрометр.

Note. HPLC—high performance liquid chromatography; UV—ultraviolet; MS—mass spectrometer.

Таблица 3. Условия анализа ретинола методом ВЭЖХ согласно государственным стандартам (ГОСТ)

Table 3. Conditions of retinol HPLC determination described in the national standards

Наименование и номер ГОСТ National standard	Наименование методики по ГОСТ Test procedure included in the standard	Условия ВЭЖХ HPLC conditions
ГОСТ 32043–2012 ¹ Премиксы. Методы определения витаминов А, D, E GOST 32043–2012 ¹ Premixes. Methods for determination of vitamins A, D, E	Определение витаминов А (ретинола ацетата), Е (токоферола ацетата) методом обращенно-фазовой ВЭЖХ Determination of vitamins A (retinyl acetate) and E (tocopherol acetate) by reversed phase HPLC	НФ: колонка хроматографическая одного из размеров: 2×64, 2×80 или 2×120 мм, с числом теоретических тарелок не менее 4000, заполненная одним из следующих сорбентов: Силасорб С18, Силасорб SPH С18, Сепарон С18; ПФ: ацетонитрил–пропанол–вода (42:50:8); скорость ПФ: 0,15 мл/мин; объем пробы: 6 мкл; детектор: УФ, 328 нм Column: 2×64, 2×80, or 2×120 mm, number of theoretical plates not less than 4,000, packed with one of the following packing materials: Silasorb C18, Silasorb SPH C18, Separon C18; Mobile phase: acetonitrile–propanol–water (42:50:8); Flow rate: 0.15 mL/min; Injection volume: 6 µL; Detector: UV, 328 nm
	Омыление анализируемой пробы премикса водно-спиртовым раствором калия гидроксида, экстракции витаминов А (ретинола ацетата), D (эргокальциферола), Е (токоферола ацетата) гексаном с анализом нормально-фазовой ВЭЖХ и пересчетом содержания витамина D ₂ (эргокальциферола) на D ₃ (холекальциферол) Saponification of the tested premix sample with hydroalcoholic solution of potassium hydroxide, extraction of vitamins A (retinyl acetate), D (ergocalciferol), E (tocopherol acetate) with hexane, analysis by normal phase HPLC, and subsequent recalculation of vitamin D ₂ (ergocalciferol) content with reference to D ₃ (cholecalciferol)	НФ: Сепарон SGX 150×3 мм, 7 мкм; ПФ: гексан–этанол (99,5:0,5); скорость ПФ: 0,5–2,0 мл/мин; объем пробы: 3–20 мкл; детектор: УФ, витамины А, Е – 289 нм, витамин D ₂ – 254 нм Column: Separon SGX 150×3 mm, 7 µm; Mobile phase: hexane–ethanol (99.5:0.5); Flow rate: 0.5–2.0 mL/min; Injection volume: 3–20 µL; Detector: UV, 289 nm – vitamins A, E, 254 nm – vitamin D ₂
ГОСТ 26573.1–93 ² Премиксы. Методы определения витамина А GOST 26573.1–93 ² Premixes. Methods for determination of vitamin A	Определение витамина А методом обращенно-фазовой ВЭЖХ после экстрагирования из премикса смесью 2-пропанол–вода (97:3) Determination of vitamin A by reversed phase HPLC after extraction from premix with 2-propanol–water (97:3)	НФ: колонка хроматографическая одного из размеров: 2×64, 2×80 или 2×120 мм с числом теоретических тарелок не менее 4000, заполненная одним из следующих сорбентов: Силасорб С18, Силасорб SPH С18, Сепарон С18; ПФ: ацетонитрил–2-пропанол–вода (42:50:8); скорость ПФ: 0,15 мл/мин; объем пробы: 6 мкл; детектор: УФ, 328 нм Column: 2×64, 2×80, or 2×120 mm, number of theoretical plates not less than 4,000, packed with one of the following packing materials: Silasorb C18, Silasorb SPH C18, Separon C18; Mobile phase: acetonitrile–2-propanol–water (42:50:8); Flow rate: 0.15 mL/min; Injection volume: 6 µL; Detector: UV, 328 nm

Примечание. ВЭЖХ — высокоэффективная жидкостная хроматография; НФ — неподвижная фаза; ПФ — подвижная фаза; УФ — ультрафиолетовый.

Note. HPLC—high performance liquid chromatography; UV—ultraviolet.

для анализа ретинола и его эфиров предлагается использовать метод обращенно-фазовой ВЭЖХ; в качестве неподвижной фазы, как правило, используется октадецилсилильный, октилсилильный, реже аминопилсиллильный силикагель. В качестве подвижной фазы — неводная фаза, как изократическое элюирование, так

и градиентное элюирование, причем для разделения жирорастворимых витаминов А, D, Е, К возможно использование изократического режима. Также в результате анализа источников можно отметить преимущества сверхкритической жидкостной экстракции в пробоподготовке и выделении витамина А.

¹ ГОСТ 32043-2012. Премиксы. Методы определения витаминов А, D, E. М.: Стандартинформ; 2013.

² ГОСТ 26573.1-93. Премиксы. Методы определения витамина А. М.: Стандартинформ; 1994.

Таблица 4. Условия анализа ретинола согласно Европейской фармакопее и Фармакопее США

Table 4. Retinol determination conditions described in the European Pharmacopoeia and the United States Pharmacopoeia

Фармакопея Pharmacopoeia	Название монографии и характеристика лекарственных препаратов Monographs and product characteristics	Условия ВЭЖХ HPLC conditions
	«Витамин А, жидкость для перорального применения» — эмульсии, суспензии или растворы, содержащие ретинола ацетат или ретинола пальмитат, в количестве, эквивалентном 90,0–120,0% от заявленного содержания ретинола (C ₂₀ H ₃₀ O) “Vitamin A Oral Liquid Preparation”, an emulsion, suspension, or solution that contains retinyl acetate or retinyl palmitate in an amount equivalent to 90.0–120.0% of the labeled amount of retinol (C ₂₀ H ₃₀ O)	НФ: силикагель аминопропилсилильный для хроматографии, 150×4,6 мм, 3 мкм; ПФ: гексан; скорость ПФ: 1 мл/мин; объем пробы: 40 мкл; детектор: УФ, 325 нм Column: aminopropylsilyl silica gel for chromatography, 150×4.6 mm, 3 μm; Mobile phase: hexane; Flow rate: 1 mL/min; Injection volume: 40 μL; Detector: UV, 325 nm
Фармакопея США ³ United States Pharmacopoeia ³	«Таблетки витамина А» содержат ретинола ацетат или ретинола пальмитат в количестве, эквивалентном 95,0–120,0% от заявленного содержания ретинола (C ₂₀ H ₃₀ O) “Vitamin A Tablets” contain retinyl acetate or retinyl palmitate in an amount equivalent to 95.0–120.0% of the labeled amount of retinol (C ₂₀ H ₃₀ O)	Вариант 1: изократическое элюирование в условиях, описанных для жидких форм витамина А. Вариант 2: градиентное элюирование НФ: силикагель октадецилсилильный для хроматографии, 100×4,6 мм, 3 мкм; ПФ А: метанол–вода (90:10); ПФ Б: метанол–2-пропанол (55:45), линейное увеличение доли ПФ Б от 0 до 100% за первые 8 мин анализа; скорость ПФ: 1 мл/мин; объем пробы: 20 мкл; детектор: УФ, 325 нм Procedure 1: isocratic elution under the conditions described for liquid forms of vitamin A. Procedure 2: gradient elution. Column: octadecylsilyl silica gel for chromatography 100×4.6 mm, 3 μm; Mobile phase A: methanol–water (90:10); Mobile phase B: methanol–2-propanol (55:45), a linear increase in the proportion of Mobile phase B from 0 to 100% in the first 8 minutes after the injection; Flow rate: 1 mL/min; Injection volume: 20 μL; Detector: UV, 325 nm
Европейская фармакопея ⁴ European Pharmacopoeia ⁴	«Концентрат витамина А (масляная форма) синтетический»; «Концентрат витамина А (солюбилизат/эмульсия) синтетический»; «Концентрат витамина А (порошок) синтетический» “Vitamin A concentrate (oily form), synthetic”; “Vitamin A concentrate (solubilisate/emulsion) synthetic”; “Vitamin A concentrate (powder form), synthetic”	НФ: силикагель октадецилсилильный для хроматографии, 125×4,0 мм, 5 мкм; ПФ: вода–метанол (5:95); скорость ПФ: 1 мл/мин; объем пробы: 10 мкл; детектор: УФ, 325 нм; время удерживания ретинола около 3 мин; время анализа: 1,5-кратное от времени удерживания пика ретинола Column: octadecylsilyl silica gel for chromatography, 125×4.0 mm, 5 μm; Mobile phase: water–methanol (5:95); Flow rate: 1 mL/min; Injection volume: 10 μL; Detector: UV, 325 nm; Retention time: retinol about 3 min; Run time: 1.5 times the retention time of retinol

Примечание. ВЭЖХ — высокоэффективная жидкостная хроматография; НФ — неподвижная фаза; ПФ — подвижная фаза; УФ — ультрафиолетовый.

Note. HPLC—high performance liquid chromatography; UV—ultraviolet.

В исследование были включены 54 лекарственных препарата, зарегистрированных в Российской Федерации⁵, содержащих витамин А и/или бетакаротен (оказывает А-витаминоподобное действие и применяется также для профилактики и лечения

дефицита витамина А). Из них 43 препарата содержали ретинола ацетат или ретинола пальмитат. Преимущественно препараты относились к группе «Поливитамины» и «Поливитамины+Минералы» (табл. 5).

³ United States Pharmacopoeia. 42nd ed. Rockville, MD; 2019.

⁴ European Pharmacopoeia. 10th ed. Strasbourg: EDQM; 2019.

⁵ <https://grls.rosminzdrav.ru>

При анализе номенклатуры препаратов, содержащих витамин А, было установлено, что наиболее распространенной лекарственной формой являются «таблетки, покрытые пленочной оболочкой». Реже всего встречается витамин А в составе лекарственных форм: «капли для приема внутрь», «лиофилизат для приготовления растворов для внутривенного введения», «раствор для местного и наружного применения», «таблетки шипучие» (табл. 6).

Были проанализированы нормативные документы производителей зарегистрированных на территории Российской Федерации поливитаминных препаратов, содержащих эфиры ретинола и бетакаротен. В этой группе препаратов наиболее широко

представлены витамины отечественного производства и США. Реже встречаются витамины производства Сербии, Словении, Великобритании, Германии, Швейцарии, Турции, Белоруссии, Италии и Франции (табл. 7).

В результате анализа нормативной документации производителей препаратов витамина А было выявлено, что ретинола ацетат/пальмитат в поливитаминных препаратах определяют преимущественно методом обращенно-фазовой ВЭЖХ (с одновременным определением токоферола ацетата); бетакаротен определяют преимущественно методом спектрофотометрии в видимой области (табл. 8).

Таблица 5. Формы витамина А в препаратах, зарегистрированных в Российской Федерации

Table 5. Vitamin A forms used in medicinal products authorised in the Russian Federation

Форма витамина А в препарате Vitamin A form used in the product	Количество препаратов Number of products
Бетакаротен Beta carotene	11
Ретинола ацетат Retinyl acetate	18
Ретинола пальмитат Retinyl palmitate	15
Ретинола ацетат + Бетакаротен Retinyl acetate + Beta carotene	8 (из них в 3 препаратах оба компонента нормируются суммарно) 8 (the total content of the two components is controlled in 3 out of 8 products)
Ретинола ацетат и/или ретинола пальмитат Retinyl acetate and/or retinyl palmitate	2

Таблица 6. Многокомпонентные лекарственные препараты, содержащие витамин А, и их лекарственные формы

Table 6. Multi-component products containing vitamin A, and their dosage forms

Лекарственная форма Dosage form	Количество наименований препаратов, содержащих эфиры ретинола и бетакаротен Number of products containing retinol esters and beta carotene	Количество наименований препаратов содержащих только ретинола ацетат/пальмитат Number of products containing only retinyl acetate/palmitate
Драже Dragee	3	3
Капли для приема внутрь Oral drops	1	1
Лиофилизат для приготовления раствора для внутривенного введения Lyophilisate for solution for intravenous administration	1	1
Капсулы Capsules	10	2
Мазь для наружного применения Cutaneous ointment	2	2
Раствор для местного и наружного применения Solution for topical administration	1	1
Сироп для детей Syrup for children	1	1
Таблетки, покрытые пленочной оболочкой Film-coated tablets	17	16
Таблетки жевательные Chewable tablets	7	6
Таблетки, покрытые оболочкой Coated tablets	9	9
Таблетки шипучие Effervescent tablets	1	1

Так как наиболее распространенным методом анализа эфиров ретинола является ВЭЖХ, были проанализированы соответствующие ВЭЖХ-методики определения эфиров ретинола в препаратах (табл. 9) и выявлены следующие особенности:

- наиболее распространенным режимом элюирования при анализе эфиров ретинола в поливитаминных препаратах является изократический;
- из возможных сорбентов преимущественно используется силикагель октадецилсилильный (С18);
- наиболее часто используемой подвижной фазой является метанол;
- помимо обращенно-фазового варианта хроматографии достаточно часто используется нормально-фазовая хроматография с сочетанием аминопропилсилильного силикагеля в качестве

неподвижной фазы и гексана в качестве подвижной фазы.

ВЫВОДЫ

1. На основании проведенных информационно-аналитических исследований установлено, что лекарственные препараты на основе ретинола ацетата, ретинола пальмитата представлены преимущественно в лекарственной форме «таблетки» отечественного и зарубежного производства и относятся к группам: «Поливитамин», «Поливитамин+минералы», «Поливитамин+прочие препараты».

2. Наиболее часто используемым аналитическим методом для установления подлинности и содержания ретинола и его эфиров

Таблица 7. Страны, в которых производятся препараты витамина А, зарегистрированные на отечественном рынке

Table 7. Countries that produce multivitamin products containing vitamin A, which are authorised in the Russian Federation

Страны, витамины которых представлены на отечественном рынке Countries that produce vitamins which are authorised in Russia	Количество наименований препаратов, содержащих эфиры ретинола и бетакаротен Number of products containing retinol esters and beta carotene	Количество наименований препаратов, содержащих только эфиры ретинола Number of products containing only retinol esters
Россия / Russia	34	34
США / USA	13	9
Словения / Slovenia	7	6
Белоруссия / Republic of Belarus	5	1
Великобритания / United Kingdom	4	2
Италия / Italy	3	3
Германия / Germany	2	2
Сербия / Serbia	1	1
Швейцария / Switzerland	1	1
Турция / Turkey	1	1
Франция / France	1	1

Таблица 8. Методы определения витаминов группы А в препаратах, зарегистрированных в Российской Федерации

Table 8. Test methods used for vitamin A determination in products authorised in Russia

Метод определения Test method	Анализируемое вещество Test substance	
	Бетакаротен Beta carotene	Ретинола ацетат/пальмитат Retinyl acetate/palmitate
СФМ/колориметрия Spectrophotometry/colorimetry	13	8/1
ВЭЖХ HPLC	3	22
ВЭЖХ или СФМ HPLC or spectrophotometry	—	3
ВЭЖХ, одновременно с токоферола ацетатом HPLC, with simultaneous determination of tocopherol acetate	2	17
ВЭЖХ, одновременно с колекальциферолом HPLC, with simultaneous determination of cholecalciferol	—	1
ВЭЖХ, одновременно с токоферола ацетатом и колекальциферолом HPLC, with simultaneous determination of tocopherol acetate and cholecalciferol	—	3
ВЭЖХ, одновременно с бутилгидрокситолуолом и бутилгидроксианизолом HPLC, with simultaneous determination of butylhydroxytoluene and butylhydroxyanisole	—	1

Примечание. ВЭЖХ — высокоэффективная жидкостная хроматография; СФМ — спектрофотометрия.

Note. HPLC—high performance liquid chromatography;

Таблица 9. Наиболее частые сочетания неподвижной и подвижной фаз, используемые при анализе эфиров ретинола методом ВЭЖХ согласно нормативной документации производителей лекарственных средств

Table 9. The most frequent combinations of HPLC stationary and mobile phases used for retinol esters determination, according to product specification files

Неподвижная и подвижная фазы Stationary phase Mobile phase	Изократическое элюирование Isocratic elution	Градиентное элюирование Gradient elution
НФ: силикагель аминопропилсилильный ПФ: гексан Stationary phase: aminopropylsilyl silica gel Mobile phase: hexane	9	—
НФ: С8 ПФ: метанол–вода (98:2) Stationary phase: C8 Mobile phase: methanol-water (98:2)	1	—
НФ: С18 ПФ: метанол–вода (98:2) Stationary phase: C18 Mobile phase: methanol-water (98:2)	2	—
НФ: С18 ПФ: метанол Stationary phase: C18 Mobile phase: methanol	14	—
НФ: С18 ПФ: 2-пропанол–ацетонитрил (1:1) Stationary phase: C18 Mobile phase: 2-propanol–acetonitrile (1:1)	4	—
НФ: С8 ПФ: ацетонитрил–метанол–диоксан–вода (700:300:40:55) Stationary phase: C8 Mobile phase: acetonitrile–methanol–dioxane–water (700:300:40:55)	3	—
НФ: Силикагель 60 ПФ: диоксан-1-октанол-гексан (2:1:97) Stationary phase: silica gel 60 Mobile phase: dioxane–1-octanol–hexane (2:1:97)	1	—
НФ: С18; С8 ПФ: сочетания липофильных растворителей с водой и буферными растворами Stationary phase: C18; C8 Mobile phase: combinations of lipophilic solvents with water and buffers	—	9

Примечание. ВЭЖХ — высокоэффективная жидкостная хроматография; НФ — неподвижная фаза; ПФ — подвижная фаза.
Note. HPLC—high performance liquid chromatography.

является обращенно-фазовая высокоэффективная жидкостная хроматография (возможно одновременное определение с токоферола ацетатом); бетакаротен в лекарственных средствах определяется преимущественно методом спектрофотометрии.

3. При анализе условий определения ретинола методом ВЭЖХ было выявлено, что чаще всего применяется изократический режим элюирования, среди сорбентов преимущественно используется силикагель октадецилсилильный (С18).

4. Полученные результаты могут быть использованы при подготовке проектов фармакопейных статей на лекарственные препараты из группы «Поливитамины», «Поливитамины+минералы», содержащие ретинол.

Вклад авторов. *А. С. Алексеева* — сбор материалов, анализ и систематизация полученных данных, написание текста

статьи; *Т. Б. Шемерянкина* — разработка концепции работы, участие в анализе и систематизации данных, интерпретация результатов работы; *М. Н. Лякина* — редактирование текста, утверждение окончательного варианта статьи для публикации; *М. С. Смирнова* — сбор данных литературы; *Е. П. Федорова* — редактирование текста; *С. Д. Кахраманова* — сбор данных литературы, редактирование текста.

Authors' contributions. *Anastasia S. Alekseeva*—compilation of materials, analysis and systematisation of the obtained data, writing of the text; *Tatiana B. Shemeryankina*— elaboration of the study concept, participation in analysis and systematisation of the obtained data, interpretation of the study results; *Marina N. Lyakina*—editing of the text, approval of the final version of the paper for publication, *Maria S. Smirnova*—compilation of literature data; *Elena P. Fedorova*—editing of the text; *Sabina D. Kakhramanova*— compilation of literature data, editing of the text.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00005-21-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР 121021800098-4).

Acknowledgements. The study reported in this publication was carried out as part of a publicly funded research project No. 056-00005-21-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. 121021800098-4).

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

- Rucker RB, Suttie JW, McCormick DB, eds. *Handbook of Vitamins*. 3rd ed. New York: Taylor & Francis; 2001.
- Ambar, Asghar M, Ameen F, Al-Nadhari S, Waseem A, Yaqoob M, et al. A flow injection chemiluminescence method for the determination of retinol in pharmaceutical formulations by using luminol-diperiodatoargentate (III) reaction. *J Nutr Sci Vitaminol*. 2020;66(1):10–8. <https://doi.org/10.3177/jnsv.66.10>
- Furr HC. Analysis of retinoids and carotenoids: problems resolved and unsolved. *J Nutr*. 2004;134(1):281S–5S. <https://doi.org/10.1093/jn/134.1.281S>
- Конькова ЮВ, Мамаев АВ, Родина НД. Сливочное масло с функциональным обогащением каротиноидсодержащим препаратом растительного происхождения. *Наука и хозяйство*. 2014;(5):71–2. [Kon'kova YuV, Mamaev AV, Rodina ND. Functionally enriched butter with a carotene-containing herbal preparation. *Nauka i khozyaistvo = Science and Economy*. 2014;(5):71–2 (In Russ.)]
- Мирзабекова КА. Возрастная макулярная дегенерация: профилактика и лечение. Обзор. *Офтальмология*. 2014;11(2):4–9. [Mirzabekova KA. Age-related macular degeneration: prevention and treatment. A review. *Oftal'mologiya = Ophthalmology in Russia*. 2014;11(2):4–9 (In Russ.)]
- Patrick L. Beta-carotene: the controversy continues. *Altern Med Rev*. 2000;5(6):530–45. PMID: 11134976
- Громова ОА, Торшин ИЮ, Тетруашвили НК, Коденцова ВМ, Рудаков КВ. Витамин А в акушерстве: фундаментальные и клинические исследования. *Медицинский алфавит*. 2019;1(1):59–69. [Gromova OA, Torshin IYu, Tetruashvili NK, Kodentsova VM, Rudakov KV. Vitamin A in obstetrics: basic and clinical research. *Meditsinskiy alfavit = Medical Alphabet*. 2019;1(1):59–69 (In Russ.)] [https://doi.org/10.33667/2078-5631-2019-1-1\(376\)-59-69](https://doi.org/10.33667/2078-5631-2019-1-1(376)-59-69)
- Панков ДД, Ковригина ЕС, Ключникова ИВ, Панков ДД (мл.). Применение бета-каротина в комплексной терапии острых респираторных инфекций у детей. *Вопросы практической педиатрии*. 2011;6(2):102–6. [Pankov DD, Kovrigina ES, Klyuchnikova IV, Pankov DD (Jr.). Use of beta-carotene in complex therapy of acute respiratory infections in children. *Voprosy prakticheskoy pediatrii = Clinical Practice in Pediatrics*. 2011;6(2):102–6 (In Russ.)]
- Pryor WA, Stahl W, Rock CL. Beta carotene: from biochemistry to clinical trials. *Nutr Rev*. 2000;58(2 Pt 1):39–53. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2000.tb07810.x>
- Omenn GS, Goodman GE, Thornquist MD, Balmes J, Cullen MR, Glass A, et al. Risk factors for lung cancer and for intervention effects in CARET, the Beta-Carotene and Retinol Efficacy Trial. *J Natl Cancer Inst*. 1996;88(21):1550–9. <https://doi.org/10.1093/jnci/88.21.1550>
- Zhang Y, Zhou W, Yan J, Liu M, Zhou Y, Shen X, et al. A review of the extraction and determination methods of thirteen essential vitamins to the human body: an update from 2010. *Molecules*. 2018;23(6):1484. <https://doi.org/10.3390/molecules23061484>
- Weinmann AR, Oliveira MS, Jorge SM, Martins AR. Simultaneous high-performance liquid chromatographic determination of retinol by fluorometry and of tocopherol by ultraviolet absorbance in the serum of newborns. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl*. 1999;729(1–2):231–6. [https://doi.org/10.1016/s0378-4347\(99\)00155-3](https://doi.org/10.1016/s0378-4347(99)00155-3)
- Wu SC, Capomacchia AC, Price JC. Fluorometric determination of all-trans retinol in rat serum. *J Pharm Sci*. 1981;70(6):685–7. <https://doi.org/10.1002/jps.2600700630>
- Tang G, Qin J, Dolnikowski G. Deuterium enrichment of retinol in humans determined by gas chromatography electron capture negative chemical ionization mass spectrometry. *J Nutr Biochem*. 1998;9(7):408–14. [https://doi.org/10.1016/S0955-2863\(98\)00026-6](https://doi.org/10.1016/S0955-2863(98)00026-6)
- Jadoon S, Malik A, Qazi MH, Aziz M. Spectrophotometric method for the determination of Vitamin A and E using Ferrozine-Fe(II) complex. *Asian J Res Chem*. 2013;6(4):334–40.
- Zasada M, Budzisz E, Kolodziejaska J, Kalinowska-Lis U. An evaluation of the physicochemical parameters and the content of the active ingredients in original formulas containing retinol. *J Cosmet Dermatol*. 2020;19(9):2374–83. <https://doi.org/10.1111/jocd.13286>
- Bankson DD, Russell RM, Sadowski JA. Determination of retinyl esters and retinol in serum or plasma by normal-phase liquid chromatography: method and applications. *Clin Chem*. 1986;32(1 Pt 1):35–40. <https://doi.org/10.1093/clinchem/32.1.35>
- Johnson EJ, Krasinski SD, Howard LJ, Alger SA, Dutta SK, Russell RM. Evaluation of vitamin A absorption by using oil-soluble and water-miscible vitamin A preparations in normal adults and in patients with gastrointestinal disease. *Am J Clin Nutr*. 1992;55(4):857–64. <https://doi.org/10.1093/ajcn/55.4.857>
- Scalia S, Ruberto G, Bonina F. Determination of vitamin A, vitamin E and their esters in tablet preparations using supercritical fluid extraction and HPLC. *J Pharm Sci*. 1995;84(4):433–6. <https://doi.org/10.1002/jps.2600840409>
- Wang LH, Huang SH. Determination of vitamins A, D, E, and K in human and bovine serum, and β -Carotene and vitamin A palmitate in cosmetic and pharmaceutical products, by isocratic HPLC. *Chromatographia*. 2002;55(5–6):289–96. <https://doi.org/10.1007/BF02491661>
- Kozhanova LA, Fedorova GA, Baram GI. Determination of water- and fat-soluble vitamins in multivitamin preparations by high-performance liquid chromatography. *J Anal Chem*. 2002;57(1):40–5. <https://doi.org/10.1023/A:1013657607698>
- Midttun Q, Ueland PM. Determination of vitamins A, D and E in a small volume of human plasma by a high-throughput method based on liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom*. 2011;25(14):1942–8. <https://doi.org/10.1002/rcm.5073>
- Temova-Rakuza Z, Srećnik E, Roskar R. Novel HPLC-UV method for simultaneous determination of fat-soluble vitamins and coenzyme Q10 in medicines and supplements. *Acta Chim Slov*. 2017;64(3):523–9. <https://doi.org/10.17344/acsi.2016.2856>
- De la Cruz Quiroz R, Chotyakul N, Saraiva J, Perez-Lamela C, Torres JA. Retention of ascorbic acid, retinol, β -carotene, and α -tocopherol in milk subjected to pressure-assisted thermal processing (PATP). *Food Eng Rev*. 2020. <https://doi.org/10.1007/s12393-020-09242-z>

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Алексеева Анастасия Сергеевна, канд. фарм. наук. *Anastasia S. Alekseeva*, Cand. Sci. (Pharm.). **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-6094-8990>

Шемерянкина Татьяна Борисовна, канд. фарм. наук. *Tatiana B. Shemeryankina*, Cand. Sci. (Pharm.). **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0003-3720-9687>

Лякина Марина Николаевна, доктор фарм. наук. *Marina N. Lyakina*, Dr. Sci (Pharm.). **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-8220-1054>

Смирнова Мария Сергеевна. *Maria S. Smirnova*. **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-0305-5934>

Федорова Елена Павловна, канд. фарм. наук. *Elena P. Fedorova*, Cand. Sci. (Pharm.). **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-4499-2190>

Кахраманова Сабина Джейхуновна. *Sabina D. Kakhramanova*. **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-8160-7829>

Статья поступила 28.05.2021

После доработки 05.08.2021

Принята к печати 20.09.2021

Article was received 28 May 2021

Revised 5 August 2021

Accepted for publication 20 September 2021