

Фотометрическое определение янтарной кислоты в жидких препаратах

В.К. Шорманов¹, О.М. Швец², М.А. Беликова¹, О.В. Тарасова¹

¹Курский государственный медицинский университет,

Российская Федерация, 305004, Курск, ул. К. Маркса, д. 3;

²Курская государственная сельскохозяйственная академия им. проф. И.И. Иванова,

Российская Федерация, 305021, Курск, ул. К. Маркса, д. 70

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Шорманов Владимир Камбулатович – профессор кафедры фармацевтической, токсикологической и аналитической химии Курского государственного медицинского университета (КГМУ), доктор фармацевтических наук. Тел.: +7 (4712) 58-13-23. E-mail: R-WLADIMIR@yandex.ru. *ORCID: 0000-0001-8872-0691*

Швец Ольга Михайловна – доцент кафедры Ветеринарно-санитарной экспертизы и биотехнологии Курской государственной сельскохозяйственной академии (КГСА), доктор ветеринарных наук. Тел.: +7 (4712) 53-15-55. E-mail: shvec_om@kgsha.ru. *ORCID: 0000-0003-1637-7702*

Беликова Марина Александровна – студентка фармацевтического факультета КГМУ. Тел.: +7 (4712) 58-13-23. E-mail: belikmarinal@yandex.ru. *ORCID: 0000-0001-5997-2961*

Тарасова Ольга Валерьевна – доцент кафедры фармацевтической, токсикологической и аналитической химии КГМУ, кандидат фармацевтических наук. Тел.: +7 (4712) 58-13-23. E-mail: tarasova_olga_kursk@mail.ru. *ORCID: 0000-0003-1241-983X*

РЕЗЮМЕ

Введение. Янтарная кислота (ЯК) – вещество, обладающее различными видами биологической активности и входящее в состав многих комплексных препаратов, применяемых в медицинской и ветеринарной практике.

Цель исследования – разработка методики определения ЯК, которая отличалась бы селективностью, достаточной чувствительностью и простотой аппаратного оформления.

Материал и методы. Объекты исследования: ЯК, раствор цитофлавина для инъекций, раствор на основе антисептика-стимулятора Дорогова (АСД-2). В качестве метода анализа рассмотрена фотометрия в видимой области спектра на основе переведения аналита в окрашенный дигидронафтазарин.

Результаты. Предложен модифицированный вариант получения 5,8-диокси-2,3-дигидро-1,4-нафтахинона (дигидронафтазарина) (окрашенной аналитической формы) из ЯК путем ее обработки избытком гидрохинона и концентрированной ($\rho=1,830-1,832$ г/см³) серной кислоты по 30 мин последовательно при температуре 105–110 и 145°С. Окрашенный продукт способен экстрагироваться толуолом. Спектр продукта в среде толуола характеризуется наличием полосы колебательной формы с максимумом при 520 нм. Рассматриваемая хромогенная реакция в предлагаемой модификации протекает количественно. Линейная зависимость между условной концентрацией ЯК в фотометрируемом растворе и оптической плотностью соответствует интервалу 25–250 мкг/мл.

Заключение. Разработаны методики фотометрического определения ЯК в растворе цитофлавина для инъекций и в растворе на основе антисептика Дорогова. Валидационные характеристики методики показали соответствие их критериям линейности, селективности, правильности и прецизионности.

Ключевые слова: янтарная кислота, жидкие препараты, фотометрическое определение, валидация.

Для цитирования: Шорманов В.К., Швец О.М., Беликова М.А., Тарасова О.В. Фотометрическое определение янтарной кислоты в жидких препаратах. Фармация, 2020; 69 (7): 17–22. <https://doi.org/10.29296/25419218-2020-07-03>

PHOTOMETRIC DETERMINATION OF SUCCINIC ACID IN LIQUID PREPARATIONS

V.K. Shormanov¹, O.M. Shvets², M.A. Belikova¹, O.V. Tarasova¹

¹Kursk State Medical University, 3, K. Marx St., Kursk 305004, Russian Federation;

²Prof. I.I. Ivanov Kursk State Agricultural Academy, 70, K. Marx St., Kursk 305021, Russian Federation

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Shormanov Vladimir Kambulatovich – Professor of Department of Pharmaceutical, Toxicological and Analytical Chemistry, Kursk State Medical University (KSMU), Doctor of Pharmaceutical Sciences. Tel.: +7 (4712) 58-13-23. E-mail: R-WLADIMIR@yandex.ru. *ORCID: 0000-0001-8872-0691*

Shvets Olga Mikhailovna – Associate Professor of Department of Veterinary Sanitary Expertise and Biotechnology, Kursk State Agricultural Academy (KSAA), Doctor of Veterinary Sciences. Tel.: +7 (4712) 53-15-55. E-mail: shvec_om@kgsha.ru. *ORCID: 0000-0003-1637-7702*

Belikova Marina Aleksandrovna – Student of the Faculty of Pharmacy of the KSMU. Tel.: +7 (4712) 58-13-23. E-mail: belikmarinal@yandex.ru. *ORCID: 0000-0001-5997-2961*

Tarasova Olga Valerievna – Associate Professor of the Department of Pharmaceutical, Toxicological and Analytical Chemistry KSMU, PhD. Tel.: +7 (4712) 58-13-23. E-mail: tarasova_olga_kursk@mail.ru. *ORCID: 0000-0003-1241-983*

SUMMARY

Introduction. Succinic acid is a substance having various types of biological activity and is part of many combination preparations used in medical and veterinary practice.

Objective: to develop a procedure for the determination of succinic acid that would be distinguished by selectivity, sufficient sensitivity, and simplicity of instrumentation.

Material and methods. The investigation objects were succinic acid, a cytoflavin solution for injections, and Dorogov's antiseptic stimulator 2 (DAS-2)-based solution. Photometry in the visible region of the spectrum based on the conversion of the analyte into stained dihydronaphthazarin is considered as an analysis method.

Results. The investigators proposed a modified version of obtaining 5,8-dioxy-2,3-dihydro-1,4-naphthaquinone (dihydronaphthazarin) (a stained analytical form) from succinic acid through its treatment with excess hydroquinone and concentrated ($\rho=1.830-1.832 \text{ g/cm}^3$) sulfuric acid for 30 minutes sequentially at temperatures of 105–110 and 145°C. The stained product is able to be extracted with toluene. The spectrum of the product in the toluene medium is characterized by the presence of a vibrational band with a maximum at 520 nm. The considered chromogenic reaction in the proposed modification proceeds quantitatively. The linear relationship between the reference succinic acid concentration in the photometric solution and the optical density corresponds to the range of 25–250 $\mu\text{g/ml}$.

Conclusion. Procedures were developed for the photometric determination of succinic acid in the cytoflavin solution for injection and in DAS-2-based solution. The validation characteristics of the procedure showed the agreement of their criteria for linearity, selectivity, correctness, and precision.

Key words: succinic acid, liquid preparations, photometric determination, validation.

For reference: Shormanov V.K., Shvets O.M., Belikova M.A., Tarasova O.V. Photometric determination of succinic acid in liquid preparations. *Farmatsiya*, 2020; 69 (7): 17–22. <https://doi.org/10.29296/25419218-2020-05-03>

Введение

Янтарная кислота (ЯК) (бутандицикслота) – белый порошок или бесцветные прозрачные кристаллы ($t_{\text{пл.}} 185-187^\circ\text{C}$) без запаха, хорошо растворимые в горячей воде, этиловом спирте и ацетоне, труднорастворимые – в холодной воде и эфире, почти нерастворимы в низших углеводородах, бензоле, хлороформе [1, 2].

ЯК обладает антигипоксическим, антиоксидантным, цитопротекторным, диуретическим действием, нормализует энергетический метаболизм, интенсифицирует детоксикацию и элиминацию токсикантов, оказывает неселективное антимикробное действие в отношении ряда микроорганизмов [3]. Она не относится к лекарственным средствам, являясь биодобавкой. Вместе с тем она входит в состав многих комплексных препаратов, применяемых в медицинской и ветеринарной практике [4, 5]. Широкое применение ЯК в виде препаратов для внутреннего введения в организм обуславливает необходимость совершенствования способов ее определения.

Для определения ЯК в субстанции описано применение нейтрализации гидроксидом натрия в водной среде. Данная методика малочувствительна, малоселективна и не может быть применена для определения ЯК в присутствии кислот и оснований. Дорогостоящим и сложным является

анализ органических кислот, в том числе ЯК, методом анионообменной ВЭЖХ при использовании супрессионной системы и кондуктометрического детектора [6].

Определение ЯК методом спектрофотометрии по собственному поглощению и методом ВЭЖХ с УФ-детектированием часто основано на регистрации оптической плотности в области 210 нм [7–11]. При этом не удается достичь высокой чувствительности определения и обеспечить анализ ЯК в препаратах, содержащих вспомогательные вещества, наполнители и вытяжки из биологических тканей с большим фоновым поглощением в ближнем кварцевом ультрафиолете.

Известны методики определения ЯК, основанные на реакциях осаждения в виде солей свинца, бария, кальция, отличающиеся трудоемкостью, продолжительностью и недостаточной точностью [7]. Как правило, трудоемки и сложны методики анализа рассматриваемого соединения на основе масс-спектрометрии и сочетания пиролиза или твердофазной экстракции с газовой хроматографией [12, 13].

Цель настоящего исследования – разработка методики определения ЯК, которая отличалась бы селективностью, достаточной чувствительностью и простотой аппаратного оформления.

Материал и методы

Объектами исследования являются ЯК («чистый для анализа», содержание основного вещества – 99,9%) и жидкие препараты, в состав которых входит ЯК (табл. 1).

Для обеспечения селективности и необходимой чувствительности определения ЯК в жидких препаратах нами предложен вариант фотометрического определения аналита по окрашенному продукту конденсации янтарного ангидрида, получаемого в процессе определения, с гидрохиноном в среде концентрированной серной кислоты [14, 15]. Изучены возможность извлечения окрашенного продукта из реакционной среды органическими экстрагентами и светопоглощение экстрактов дигидронафтазарина в интервале 340–600 нм. Исследована устойчивость окрашенного продукта реакции в среде органического экстрагента во времени и наличие линейной зависимости оптической плотности окрашенных растворов от концентрации аналита.

Результаты и обсуждение

В предлагаемой модификации проведения данных процессов ЯК обрабатывали гидрохиноном и серной кислотой ($\rho=1,830-1,832 \text{ г/см}^3$) по 30 минут последовательно при температурах 105–110 и 145°C. На первой стадии образовывался янтарный ангидрида, а на второй – он конденсировался с гидрохиноном с образованием 5,8-диокси-2,3-дигидро-1,4-нафтохинона (дигидронафтазарина).

Образующийся дигидронафтазарин способен экстрагироваться аренами, в частности, толуолом, окрашивая экстракт в красный цвет. Поглощение дигидронафтазарина в среде толуола характеризуется наличием в видимой области спектра полосы с максимумом при 520 нм. Полуширина полосы на половине высоты равна 4647 см^{-1} , волновое число – 19231 см^{-1} , фактор асимметрии пика – 0,98. Оптическая плотность толуольного раствора продукта реакции стабильна как минимум 1 ч. Рассматриваемая реакция в предлагаемой модификации протекает количественно. Установлено наличие линейной зависимости между ус-

ловной концентрацией ЯК в фотометрируемом растворе (25–250 мкг/мл) и оптической плотностью этого раствора. Зависимость описывается уравнением:

$$A = 0,00169 \cdot C - 0,0037,$$

где A – оптическая плотность, C – условная концентрация аналита в фотометрируемом растворе (мкг/мл).

Методика определения ЯК в растворе ЦФДИ. 2,5 мл раствора ЦФДИ доводили до метки водой в мерной колбе вместимостью 25 мл. 0,75 мл полученного раствора вносили в термостойкую стеклянную колбу объемом 50 мл и испаряли растворитель на кипящей водяной бане. К остатку в колбе прибавляли 1 г гидрохинона, 5 мл серной кислоты ($\rho=1,830-1,832 \text{ г/см}^3$). Смесь нагревали 30 мин при 105°C, затем еще 30 мин при 140°C, охлаждали, разбавляли водой до 50 мл и встряхивали 4 мин с 50 мл толуола, экстрагируя дигидронафтазарин. Толуольный экстракт фотометрировали на фотоэлектроколориметре КФК-2 при 540 нм в кюветах с толщиной рабочего слоя 50 мм на фоне толуола.

Количественное содержание ЯК в растворе ЦФДИ рассчитывали по формуле:

$$X, \text{ г} = \frac{(A + 0,0037) \cdot 10 \cdot 25 \cdot 50}{0,00169 \cdot 2,5 \cdot 0,75 \cdot 10^6} = \frac{(A + 0,0037) \cdot 0,00666}{0,00169}$$

где A – оптическая плотность фотометрируемого раствора.

Как свидетельствуют полученные результаты количественного определения ЯК в растворе ЦФДИ (табл. 2), содержание ЯК в 10 мл дан-

Таблица 1

Жидкие препараты, содержащие янтарную кислоту

Table 1

Liquid preparations containing succinic acid

№	Препарат	Состав
1	Раствор цитофлавина для инъекций (ЦФДИ)	ЯК 1,0 г, никотинамид 0,1 г, рибоксин (инозин) 0,2г, рибофлавина мононуклеотид (рибофлавин) 0,02 г, вспомогательные вещества (N-метилглюкамин (меглумин) 1,65 г, натрия гидроксид 0,34 г), вода для инъекций до 10,0 мл
2	Раствор на основе антисептика-стимулятора Дорогова (АСД-2)	АСД-2 4,0 г, ЯК 1,0 г, новокаина гидрохлорид 0,25 г, вода очищенная до 100,0 мл

ной препаративной формы (номинальный объем 1 ампулы) составляет 0,98458–1,01625 г. Это укладывается в нормы допустимых отклонений, регламентируемых нормативным документом (НД): 0,94–1,06 г или 1,00±0,06 г.

Методика определения янтарной кислоты в растворе на основе АСД-2. 0,75 мл раствора на основе АСД-2 вносили в термостойкую стеклянную колбу вместимостью 50 мл и дальнейшие операции осуществляли по схеме, описанной выше. Количественное содержание ЯК в растворе на основе АСД-2 рассчитываем по формуле:

$$X, \text{ г} = \frac{(A + 0,0037) \cdot 100 \cdot 50}{0,00169 \cdot 0,75 \cdot 10^6} = \frac{(A + 0,0037) \cdot 0,00666}{0,00169}$$

где А – оптическая плотность фотометрического раствора.

Результаты количественного определения ЯК в растворе на основе АСД-2 показали что, содержание ЯК в 100 мл данной препаративной формы (номинальный объем 1 флакона) составляет 0,98506–1,01746 г. Это укладывается в нормы допустимых отклонений, регламентируемых НД (0,94–1,06 г или 1,00±0,06 г).

На следующем этапе исследования была проведена валидация разработанных методик. Для оценки валидации по критерию линейности готовили модельные смеси каждой из жидких пре-

паративных форм с различным содержанием ЯК (80, 90, 100, 110 и 120% от номинального количества), после чего воспроизводили разработанные и описанные выше методики, регистрируя аналитический сигнал в области 540 нм. По результатам измерений строили регрессионные прямые и рассчитывали их уравнения методом наименьших квадратов. Линии регрессии для методик определения ЯК в растворе ЦФДИ и в растворе на основе АСД-2 описываются соответственно уравнениями:

$$A = 0,24879 \cdot C + 0,00053 \text{ (коэффициент корреляции } r = 0,99761),$$

$$A = 0,26046 \cdot C - 0,01064 \text{ (коэффициент корреляции } r = 0,99652).$$

При проведении валидации по критерию селективности исследовали модельные смеси каждого из рассматриваемых жидких препаратов, включающие все ингредиенты прописи, кроме ЯК. Воспроизводили соответствующую методику фотометрического определения в соответствии с вышеописанной схемой и исследовали особенности поглощения полученного толуольного экстракта в интервале длин волн 340–600 нм. Полученные таким образом спектральные кривые не содержат выраженных полос поглощения, отражают весьма низкий уровень светопоглощения в исследуемом интервале длин волн, а оптическая плотность в области аналитического максимума в обоих случаях не превышает 0,02 ед.о.п. Это ха-

Таблица 2

Определение янтарной кислоты в анализируемых жидких препаратах

Table 2

Determination of succinic acid in the analyzed liquid preparations

Раствор цитофлавина для инъекций					Раствор на основе антисептика Дорогова				
№	Содержание ЯК в 10 мл препарата (1 ампула), г	Взято на анализ разведенного в 10 раз препарата, мл	Найдено		N	Содержание ЯК в 100 мл препарата (1 флакон), г	Взято на анализ препарата, мл	Найдено	
			в анализируемом объеме, г	в пересчете на 10 мл препарата, г				в анализируемом объеме, г	в пересчете на 100 мл препарата, г
1	1,0	0,75	7,51922·10 ⁻³	1,00256	1	1,0	0,75	7,38797·10 ⁻³	0,98506
2	1,0	0,75	7,55057·10 ⁻³	1,00674	2	1,0	0,75	7,44639·10 ⁻³	0,99285
3	1,0	0,75	7,38437·10 ⁻³	0,98458	3	1,0	0,75	7,40394·10 ⁻³	0,98719
4	1,0	0,75	7,47144·10 ⁻³	0,99619	4	1,0	0,75	7,63097·10 ⁻³	1,01746
5	1,0	0,75	7,62189·10 ⁻³	1,01625	5	1,0	0,75	7,58724·10 ⁻³	1,01163
Интервал содержания ЯК в растворе цитофлавина для инъекций в соответствии с НД 0,94 – 1,06 г					Интервал содержания ЯК в растворе на основе антисептика Дорогова в соответствии с НД 0,94 – 1,06 г				

рактирует разработанные методики фотометрического определения ЯК в жидких препаратах как селективные.

Далее исследовалась правильность для каждой из разработанных методик. Готовили модельные смеси компонентов исследуемой жидкой препаративной формы с различным содержанием ЯК (80, 90, 100, 110 и 120% от номинального) и с постоянным, соответствующим прописи препаративной формы, содержанием других компонентов.

Определение ЯК той или иной разработанной методикой на каждом уровне содержания аналита проводили трижды. Количество ЯК (в единицах массы) при исследовании раствора ЦДФИ и раствора на основе АСД-2 рассчитывали по приведенным выше формулам. Процент восстановления в обоих случаях рассчитывали по формуле:

$$R = x \cdot 100\% / m,$$

где x – найденное количество ЯК в модельной смеси (г); m – заданное (введенное в модельную смесь) количество аналита (г).

Полученные результаты показали, что методики отвечают критерию правильности, т.к. разброс значений процента восстановления на всех уровнях концентрации аналита в обоих случаях находится в пределах 98,0–102,0%, а значения относительного стандартного отклонения составляют не более 1,98%.

Изучение валидации по критерию прецизионности сводилось к установлению соответствия разработанных методик установленным нормам воспроизводимости и сходимости. Устанавливая соответствия каждой из методик необходимому уровню внутрилабораторной воспроизводимости, в двух различных лабораториях на двух разных фотометрах два аналитика в разные дни (следующие друг за другом) проводили по шесть определений ЯК в рассматриваемом жидком препарате. Показано, что методики соответствуют критерию внутрилабораторной воспроизводимости, т.к. значения относительного стандартного отклонения не превышают 1,50%.

Валидируя каждую методику по критерию сходимости, одним аналитиком проводилось шесть определений ЯК в исследуемом препарате в одной и той же лаборатории с использованием одних и тех же фотометра и реактивов в течение необходимого промежутка времени. При этом определение аналита в рассматриваемых препаратах проводилось в соответствии с описанными

схемами. Методики удовлетворяли критерию сходимости.

Таким образом, обе разработанные методики являются приемлемыми по валидационным показателям линейности, селективности, правильности и прецизионности. Они могут применяться для определения ЯК в рассмотренных жидких лекарственных формах.

Заключение

Для фотометрического определения ЯК предложен модифицированный вариант цветной реакции образования дигидронафтаризарина. Определены оптимальные условия проведения аналитического варианта реакции и рассчитан ряд основных оптических характеристик окрашенного продукта. На основе рассматриваемой хромогенной реакции разработаны методики количественного фотометрического определения ЯК в растворе цитофлавина для инъекций и в растворе на основе антисептика Дорогова. Валидационные мероприятия показали их соответствие критериям линейности, селективности, правильности и прецизионности.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest

Литература

1. Succinic Acid. PubChem. [Electronic resource]. Access mode: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/succinic_acid#section=Top [circulation date September 5 2020].
2. Sheng X., Luo W., Wang Q. Determination and Correlation for the Solubilities of Succinic Acid in Cyclohexanol + Cyclohexanone + Cyclohexane Solvent Mixtures. J. Chem. Eng. Data. 2018; 63 (3): 801–11. DOI:10.1021/acs.jced.7b00956
3. Шишкова Ю.С., Симонян Е.В., Абрамовских О.С. и др. Изучение антимикробной активности некоторых двухосновных карбоновых кислот в сочетании с прополисом. Медицинский альманах. 2014; 1 (31): 99–101.
4. Коваленко А.П., Белякова Н.А., Романцов М.Г., Алексеева Л.С. Фармакологическая активность янтарной кислоты и ее лекарственные формы. Врач. 2000; 4: 26–7.
5. Семиголовский Н.Ю., Колбасов С.Ю., Лисицын Д.В., Фазылов М.Ф. Повышение защитных свойств милдроната. Вестник Санкт-Петербургского университета. Серия 11. 2008; 1: 41–6.
6. Geng X., Zhang S., Wang Q., Zhao Z. Determination of organic acids in the presence of inorganic anions by ion chromatography with suppressed conductivity detection. Journal of Chromatography A. 2008; 1192: 187–90.

7. Аристова Н.И., Панова Э.П., Чирва В.Я. Определение янтарной кислоты в винах хроматографическими методами. Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, Химия». 2011; 24 (63) 1: 180–4.

8. Воробьев А.Н., Петров А.Ю. Использование метода ВЭЖХ для количественного определения циннаризина и кислоты янтарной при совместном присутствии. Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». 2009; 2: 130–3.

9. Tašev K., Stefova M., Ivanova-Petropulos V. HPLC method validation and application for organic acid analysis in wine after solid-phase extraction. Macedonian Journal of Chemistry and Chemical Engineering. 2016; 35 (2): 225–33. DOI:10.20450/mjcc.2016.1073

10. Захарова А.М., Карцова Л.А., Гринштейн И.Л. Определение органических кислот, углеводов и подсластителей в пищевых продуктах и биологически активных добавках методом высокоэффективной хроматографии. Аналитика и контроль. 2013; 17 (2): 204–10.

11. Дзюба В.Ф., Сливкин А.И., Суслина С.Н. и др. Разработка методов стандартизации новых ноотропных препаратов на основе пантогама и кислоты янтарной с использованием физико-химических методов. Вестник ВГУ. Серия: «Химия. Биология. Фармация». 2011; 1: 177–85.

12. Hida M., Mitsui T., Fujimura Y. Determination of succinic acid by pyrolysis-gas chromatography in the presence of sodium sulfite and iron powder. Journal of Chromatography A. 1991; 585 (2): 345–7. DOI:10.1016/0021-9673(91)85101-K

13. Vidal L., Parshintsev J., Hartonen K. et al. Ionic liquid-functionalized silica for selective solid-phase extraction of organic acids, amines and aldehydes. J. Chromatogr. A. 2012; 1226: 2–10. DOI:10.1016/j.chroma.2011.08.075

14. Коренман И.М. Фотометрический анализ. Методы определения органических соединений. М.: Химия, 1975: 359.

15. Полудек-Фабини Р., Бейрих Т. Органический анализ. Л.: Химия, 1981; 624.

References

1. Succinic Acid. PubChem. [Electronic resource]. Access mode: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/succinic_acid#section=Top [circulation date September 5 2020].
2. Sheng X., Luo W., Wang Q. Determination and Correlation for the Solubilities of Succinic Acid in Cyclohexanol + Cyclohexanone + Cyclohexane Solvent Mixtures. J. Chem. Eng. 2018; 63 (3): 801–11. DOI:10.1021/acs.jced.7b00956
3. Shishkova Yu.S., Simonyan E.V., Abramovskih O.S. et al. The study of the antimicrobial activity of certain dibasic carboxylic acids in combination with propolis. Medicinskij al'manah. 2014; 1 (31): 99–101 (in Russian)
4. Kovalenko A.P., Belyakova N.A., Romancov M.G., Alekseeva L.S. Pharmacological activity of succinic acid and its dosage forms. Vrach. 2000; 4: 26–7 (in Russian)

5. Semigolovskij N.Yu., Kolbasov S.Yu., Lisicyn D.V., Fazylov M.F. Improving the protective properties of Mildronate. Vestnik Sankt-Peterburgskogo universiteta. Seriya 11. 2008; 1: 41–6 (in Russian)

6. Geng X., Zhang S., Wang Q., Zhao Z. Determination of organic acids in the presence of inorganic anions by ion chromatography with suppressed conductivity detection. J. of Chromatography A. 2008; 1192: 187–90.

7. Aristova N.I., Panova E.P., Chirva V.Ya. Determination of succinic acid in wines by chromatographic methods. Uchyonye zapiski Tavricheskogo nacional'nogo universiteta im. V.I. Vernadskogo. Seriya «Biologiya. Khimiya». 2011; 24 (63) 1: 180–4 (in Russian)

8. Vorob'ev A.N., Petrov A.Yu. The use of the HPLC method for the quantitative determination of cinnarizine and succinic acid in the joint presence. Kurskij nauchno-prakticheskij vestnik «Chelovek i ego zdorov'e». 2009; 2: 130–3. (in Russian)

9. Tašev K., Stefova M., Ivanova-Petropulos V. HPLC method validation and application for organic acid analysis in wine after solid-phase extraction. Macedonian Journal of Chemistry and Chemical Engineering. 2016; 35 (2): 225–33. DOI:10.20450/mjcc.2016.1073

10. Zaharova A.M., Kartsova L.A., Grinshtejn I.L. Determination of organic acids, carbohydrates and sweeteners in foods and dietary supplements by high performance chromatography. Analitika i kontrol'. 2013; 17 (2): 204–10 (in Russian)

11. Dzyuba V.F., Slivkin A.I., Suslina S.N. et al. Development of standardization methods for new nootropic drugs based on pantogam and succinic acid using physicochemical methods. Vestnik VGU. Seriya: «Khimiya. Biologiya. Farmatsiya». 2011; 1: 177–85 (in Russian)

12. Hida M., Mitsui T., Fujimura Y. Determination of succinic acid by pyrolysis-gas chromatography in the presence of sodium sulfite and iron powder. J. of Chromatography A. 1991; 585 (2): 345–7. DOI:10.1016/0021-9673(91)85101-K

13. Vidal L., Parshintsev J., Hartonen K. et al. Ionic liquid-functionalized silica for selective solid-phase extraction of organic acids, amines and aldehydes. J. Chromatogr. A. 2012; 1226: 2–10. DOI:10.1016/j.chroma.2011.08.075

14. Korenman I.M. Photometric analysis. Methods for the determination of organic compounds. Moscow: Khimiya, 1975: 359 (in Russian)

15. Polyudek-Fabini R., Bejrih T. Organic analysis. Leningrad: Khimiya, 1981; 624 (in Russian)

Поступила 14 сентября 2020г.

Received 14 September 2020

Принята к публикации 12 октября 2020 г.

Accepted 12 October 2020