

ТЕСТ «РАСТВОРЕНИЕ» КАК ЭЛЕМЕНТ КОМПЛЕКСНОЙ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА КАПСУЛ, СОДЕРЖАЩИХ СЕКОИЗОЛАРИЦИРЕЗИНОЛ

Е.В. Игнатьева¹, З.С. Шпрах^{1,2}, И.В. Ярцева¹, Е.В. Санарова¹

¹ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478 Москва, Каширское ш., 24;

²ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет); Россия, 119991 Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2

Контакты: Елена Владимировна Игнатьева chem_analysis@ronc.ru

Введение. Тест «Растворение» — один из основных методов оценки качества твердых дозированных лекарственных форм, который позволяет охарактеризовать лекарственный препарат как с технологической, так и с биофармацевтической точки зрения. Данное испытание также может использоваться для сравнительных исследований биодоступности лекарственных препаратов *in vitro*.

Цель исследования — разработка теста «Растворение» для лекарственного препарата «Секоизоларицирезинол, капсулы 100 мг».

Материалы и методы. В работе использованы: «Секоизоларицирезинол, капсулы 100 мг»; кислота хлористоводородная (х. ч.); Твин-80 (Полисорбат LAUROPAN T/80, Италия); вода очищенная (pH 6,5); 0,1 М и 0,2 М растворы хлористоводородной кислоты; фосфатный буферный раствор (pH 6,8). Приборы и аппаратура: тестер для проверки растворения ERWEKA серии 700, тип — лопастная мешалка (ERWEKA, Германия); спектрофотометр регистрирующий Cary-100 (Varian, США); pH-метр HANNA pH 211 (Hanna Instruments, Германия); весы Sartorius 2405 (Sartorius AG, Германия).

Результаты. С учетом требований Государственной Фармакопеи XIV издания к твердым дозированным лекарственным формам разработана методика теста «Растворение» для лекарственного препарата «Секоизоларицирезинол, капсулы 100 мг».

Выводы. Выбраны оптимальные условия проведения испытания «Растворение» для капсул, содержащих 100 мг секоизоларицирезинола. Для количественной оценки высвобождения секоизоларицирезинола из капсул разработана аналитическая методика, позволяющая контролировать содержание фармацевтической субстанции в различных средах растворения. На основании полученных экспериментальных данных разработана методика теста «Растворение» для лекарственного препарата «Секоизоларицирезинол, капсулы 100 мг».

Ключевые слова: секоизоларицирезинол, капсулы, растворение, среда растворения, количественное определение

DOI: 10.17650/1726-9784-2019-18-1-95-100

TEST “DISSOLUTION” AS AN INTEGRAL PART OF QUALITY COMPLEX EVALUATION OF CAPSULES WITH SEKOISOLARICIRE SINOL

E. V. Ignatieva¹, Z. S. Shprakh^{1,2}, I. V. Yartseva¹, E. V. Sanarova¹

¹N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russian Federation; 24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115478, Russia;

²Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation; Build. 2, 8 Trubetskaya St., Moscow 119991, Russia

Background. Test “Dissolution” is one of the main methods for quality evaluation of solid dosage drug forms, which enables characterization of the drug both in technological and biopharmacological aspects. The test may be also used for comparative studies of drugs bioavailability *in vitro*.

Objective. Development of the “Dissolution” test for the drug Secoisolariciresinol, capsules 100 mg.

Materials and methods. The study used: Secoisolariciresinol, capsules 100 mg; hydrochloric acid (c. p.); Twin-80 (Polysorbate LAUROPAN T/80, Italy); purified water (pH 6.5); 0.1 M and 0.2 M solutions of hydrochloric acid; phosphate buffer solution (pH 6.8). Equipment and devices: dissolution tester ERWEKA, series 700, type — paddle mixer (ERWEKA, Germany); recording spectrophotometer Cary-100 (Varian, USA); pH-meter HANNA pH 211 (Hanna Instruments, Germany); analytical balances Sartorius 2405 (Sartorius AG, Germany).

Results. Methodology for performing the “Dissolution” test for the drug Secoisolariciresinol, capsules 100 mg was developed according to Russian State Pharmacopoeia (XIV) requirements for solid dosage drug forms.

Conclusions. Optimal conditions were chosen for performing the study “Dissolution” for capsules containing 100 mg of secoisolariciresinol. Analytical methodology was designed for quantitative assessment of secoisolariciresinol release from capsules, which enables accurate control of pharmaceutical substance content in different dissolution media. Methodology for the “Dissolution” test of the drug Secoisolariciresinol, capsules 100 mg was developed on the base of the obtained experimental data.

Key words: secoisolariciresinol, capsules, dissolution, dissolution medium, assay

Введение

Тест «Растворение» является одним из основных аналитических испытаний для всех дозированных твердых лекарственных форм (ЛФ) для внутреннего применения (таблеток, драже, капсул, гранул) [1–4]. Данное испытание используется на протяжении всего жизненного цикла лекарственного препарата (ЛП): как при разработке лекарственного средства (ЛС) для выбора оптимального состава ЛФ, оценки качества готового ЛС и стабильности препарата, так и в процессе производства ЛС и при обращении на фармацевтическом рынке для гарантии постоянства качества. Особое место тест «Растворение» занимает в предварительной оценке биодоступности воспроизведенных ЛС при подтверждении биоэквивалентности.

Применение данного теста позволяет установить скорость и степень высвобождения действующего вещества в среду растворения из твердой дозированной ЛФ в нормируемых условиях [5, 6], что в некоторой степени имитирует поведение ЛФ в условиях желудочно-кишечного тракта человека.

Для инновационных ЛС разработка методик теста «Растворение» является наиболее сложным процессом, при этом дизайн исследований и их объем определяются физико-химическими и фармакокинетическими свойствами активного вещества. Выбор методики испытания должен учитывать результаты экспериментов на животных: полученные экспериментально основные фармакокинетические параметры лекарственного вещества позволяют обосновать условия проведения теста, прежде всего среду растворения. Технология производства и состав ЛФ определяют выбор прибора и гидродинамические параметры (скорость вращения аппарата) испытания. Нормы теста «Растворение» — время растворения (время отбора проб) и количество активного вещества, перешедшее в среду растворения к определенному моменту времени, — устанавливают на основании экспериментальных исследований в соответствии с требованиями Общей фармакопейной статьи «Растворение для твердых дозированных лекарственных форм» [7].

Оценка соотношения между полученными фармакокинетическими параметрами и нормами теста «Растворение» позволяет определить область применения методики: четкая корреляция между результатами экспериментов *in vitro* и *in vivo* может сделать в последующем необязательным проведение исследований биоэквивалентности в случае изменения состава ЛП или процесса его производства [8]. При отсутствии корреляции тест может служить только методом контроля качества препарата [4].

В настоящее время разработка теста «Растворение» невозможна без оценки характеристик активной суб-

станции в соответствии с биофармацевтической классификационной системой (БКС), предложенной G.L. Amidon и соавт. и принятой FDA, ВОЗ и ЕМА [9]. БКС — это система научной классификации, в которой фармацевтические субстанции разделены на 4 класса по важнейшим биофармацевтическим свойствам: растворимости в водных растворах и степени проницаемости через биомембрану [10]. Использование БКС позволяет разработать спецификации теста «Растворение» *in vitro*, способные выявлять изменения, которые могут влиять на эффективность и безопасность ЛС.

Природные полифенолы класса лигнанов хорошо известны в качестве природных антиоксидантов, проявляющих в зависимости от используемой дозы эстрогенную или антиэстрогенную активность [11, 12]. В ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России разработана ЛФ для одного из представителей этого класса соединений — секоизолафизедрина (СЕКО), полученного выделением из сучковых зон лиственницы и пихты [13]. ЛФ СЕКО представляет собой твердые желатиновые капсулы, содержащие 100 мг активного вещества и вспомогательные вещества: крахмал, тальк, стеарат магния [14, 15].

Доклинические исследования препарата показали его высокую противоопухолевую эффективность на эстрогензависимых экспериментальных опухолях животных и подкожных ксенографтах рака молочной железы человека [16–18].

Целью настоящего исследования являлась разработка надежной и воспроизводимой методики теста «Растворение» для капсул, содержащих 100 мг СЕКО, в соответствии с требованиями Общей фармакопейной статьи «Растворение для твердых дозированных лекарственных форм» [7].

Материалы и методы

Препараты и реактивы. СЕКО, капсулы 100 мг; кислота хлористоводородная (х. ч.); Твин-80 (Полисорбат LAUROPAN T/80, Италия).

При разработке методики использовали следующие среды растворения:

- вода очищенная (рН 6,5);
- 0,1 М и 0,2 М растворы хлористоводородной кислоты;
- фосфатный буферный раствор (рН 6,8);
- растворы Твина-80 в 0,1 М и 0,2 М растворах хлористоводородной кислоты.

Приборы и аппаратура. Тестер для проверки растворения ERWEKA серии 700, тип — лопастная мешалка (ERWEKA, Германия); спектрофотометр регистрирующий Cary-100 (Varian, США); рН-метр HANNA pH 211 (Hanna Instruments, Германия); весы Sartorius 2405 (Sartorius AG, Германия).

Скорости вращения лопастной мешалки: 50 и 100 об/мин.

Объемы растворителя: 500 и 900 мл.

Время отбора проб: от 45 до 120 мин.

Количественное определение СЕКО, высвободившегося из капсул в среду растворения, проводили методом прямой спектрофотометрии в одной временной точке [19].

Результаты и обсуждение

Разработка методики теста «Растворение» включает в себя выбор среды растворения, типа тестера для проверки растворения, а также выбор подходящей гидродинамики (скорости вращения корзинки или лопасти).

Среду растворения для разработки методики теста выбирали с учетом свойств СЕКО в соответствии с БКС ЛС [9, 10].

СЕКО плохо растворим в воде и хлористоводородной кислоте. Доклинические исследования фармакокинетики препарата показали, что процесс прохождения СЕКО через органы желудочно-кишечного тракта после однократного перорального введения характеризуется высокой скоростью и полнотой всасывания. То есть препарат относится ко II классу БКС фармацевтических субстанций: вещество с низкой растворимостью в водных растворах и высокой проницаемостью через биомембраны. Для фармацевтических субстанций II класса тест «Растворение» *in vitro* наиболее полно отражает абсорбцию *in vivo*, поскольку для таких веществ стадия высвобождения активного вещества из ЛФ и растворения в физиологических средах в желудочно-кишечном тракте является лимитирующей для абсорбции в системный кровоток [20]. Изучение таких препаратов в тесте «Растворение» требует модификации среды растворения, так как применение буферных растворов не обеспечивает их высвобождение из ЛФ. Обычно в таком случае для создания оптимальной среды используют комбинацию кислоты или буферного раствора и низких концентраций поверхностно-активного вещества.

Важнейшей характеристикой среды являются условия предельного растворения: объем среды растворения должен превышать объем, необходимый для получения насыщенного раствора лекарственного вещества, по крайней мере в 3 раза, а оптимальный объем среды растворения может быть рассчитан из величины биофармацевтической растворимости субстанции для данной среды [5].

На начальном этапе исследования, принимая во внимание необходимость использования большого объема растворителя, в качестве среды растворения использовали воду, 0,1 М хлористоводородную кислоту и фосфатный буфер (объем растворителя — 500 мл). В соответствии с рекомендациями Государст-

венной Фармакопеи XIV (ГФ XIV) [21] испытание проводили при температуре 37 °С и скорости вращения лопастной мешалки 50 и 100 об/мин. Отбор пробы проводили через 45 мин. В этих условиях количество активного вещества, перешедшее в растворитель, оказалось незначительным и не удовлетворяло требованиям испытания (табл. 1).

Таблица 1. Результаты испытания «Растворение» для ЛФ «Секо-изоларицирезинол, капсулы 100 мг» в водных средах

Среда растворения	Объем среды растворения, мл	Скорость вращения, об/мин	Время наблюдения, мин	Количество высвободившейся фармацевтической субстанции, %
Вода	500	50	45	14,7
0,1 М хлористоводородная кислота	500	100	45	32,3
Фосфатный буферный раствор	500	100	45	28,1

Примечание. Результаты получены для серии 1 при температуре 37 °С.

Использование в качестве среды растворения 0,1 М хлористоводородной кислоты с одновременным увеличением объема растворителя до 900 мл позволило повысить выход фармацевтической субстанции в среду растворения почти в 2 раза; тем не менее и этот результат был неудовлетворительным. Более высокие значения высвобождения активного вещества были получены при применении 0,2 М хлористоводородной кислоты (около 50 % через 45 мин наблюдения и около 80 % через 120 мин наблюдения) (табл. 2).

Таблица 2. Результаты испытания «Растворение» для ЛФ «Секо-изоларицирезинол, капсулы 100 мг» в водных растворах кислоты хлористоводородной

Среда растворения	Объем среды растворения, мл	Время наблюдения, мин	Количество высвободившейся фармацевтической субстанции, %
0,1 М хлористоводородная кислота	900	45	48,3
	900	60	56,7
	900	90	65,0
	900	120	73,7
0,2 М хлористоводородная кислота	900	45	51,0
	900	90	71,5
	900	120	81,5

Примечание. Результаты получены для серии 1 при температуре 37 °С и скорости вращения лопастной мешалки 100 об/мин.

Для увеличения скорости высвобождения СЕКО в среду растворения добавляли неионогенное поверхностно-активное вещество Твин-80 [21]. В испытании использовали 0,2 % растворы Твина-80 в 0,1 М и 0,2 М хлористоводородной кислоте (табл. 3). Как видно из табл. 3, в обеих средах при увеличении времени отбора пробы до 2 ч количество СЕКО, высвободившегося в среду растворения, составило более 75 %. Оба раствора находились в физиологическом диапазоне pH (1,0–7,5).

Таблица 3. Результаты испытания «Растворение для ЛФ «Секо-изолацирезинол, капсулы 100 мг» в растворах Твина-80

Среда растворения	Объем среды растворения, мл	Время наблюдения, мин	Количество высвободившейся фармацевтической субстанции, %
Твин-80, 0,2 % водный раствор	900	45	49,1
Твин-80, 0,2 % раствор в 0,1 М HCl	900	45	44,0
		90	65,0
		120	82,1
Твин-80, 0,2 % раствор в 0,2 М HCl	900	45	54,1
		90	74,7
		120	87,0

Примечание. Результаты получены для серии 1 при температуре 37 °C и скорости вращения лопастной мешалки 100 об/мин.

Учитывая результаты эксперимента и рекомендации ГФ XIV [7] для проведения испытания «Растворение» для капсул СЕКО выбраны следующие оптимальные условия:

- среда растворения – 0,2 % раствор Твина-80 в 0,1 М хлористоводородной кислоте;
- объем среды растворения – 900 мл;
- температура проведения теста – 37 °C;
- скорость вращения лопастной мешалки – 100 об/мин;
- время проведения теста – 2 ч.

Для определения степени высвобождения СЕКО из капсул использовали метод прямой спектрофотометрии, который считается методом выбора количественной оценки в тесте «Растворение» и отличается высокой достоверностью, воспроизводимостью, точностью и простотой исполнения [4, 19, 22].

Предварительно нами было изучено поглощение растворов вспомогательных веществ и стандартного образца (СО) СЕКО в 0,2 % растворе Твина-80 в 0,1 М хлористоводородной кислоте (рис. 1, 2). СЕКО имеет максимум поглощения при длине волны (280 ± 2) нм, при этом вспомогательные вещества, входящие в состав препарата, не поглощают электромагнитное излучение на указанной длине волны и не мешают определению.

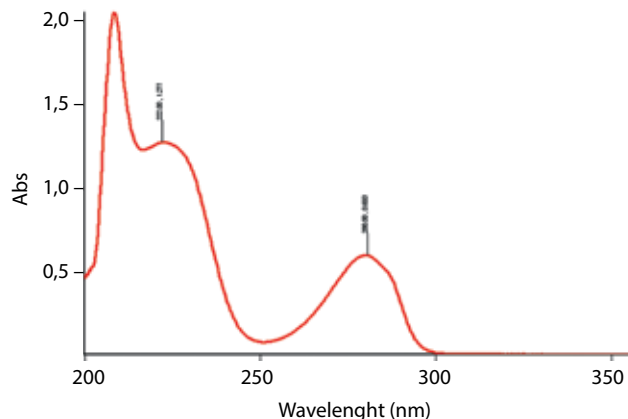


Рис. 1. Электронный спектр поглощения раствора СЕКО (СО) в среде растворения 0,1 М HCl + 0,2 % Твин-80

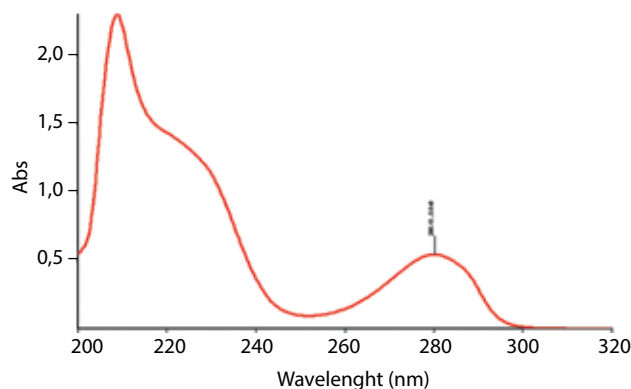


Рис. 2. Электронный спектр поглощения раствора ЛФ СЕКО в среде растворения 0,1 М HCl + 0,2 % Твин-80

Мы исследовали также зависимость оптической плотности от концентрации растворов СЕКО в 0,2 % растворе Твина-80 в 0,1 М хлористоводородной кислоте в максимуме поглощения. Линейная зависимость оптической плотности растворов от концентрации СЕКО была подтверждена в пределах интервала от $2,4 \times 10^{-2}$ до $4,0 \times 10^{-2}$ мг/мл (рис. 3). Коэффициент корреляции составлял 0,9999.

При проведении испытания капсулу препарата помещали в стакан тестера, содержащий 900 мл среды растворения. Через заданное время отбирали пробу раствора объемом 50 мл, которую фильтровали через фильтр «Миллипор». В колбу вместимостью 25 мл помещали 12,5 мл фильтрата и доводили средой растворения до метки. В качестве раствора СО использовали раствор, содержащий 4 мг СЕКО в 100 мл среды растворения. Измерение оптической плотности испытуемого раствора и раствора СО проводили относительно среды растворения в максимуме при длине волны 280 нм. Далее рассчитывали количество СЕКО, перешедшее в раствор, в процентах.

С помощью разработанной методики по показателю «Растворение» проведен анализ 3 серий

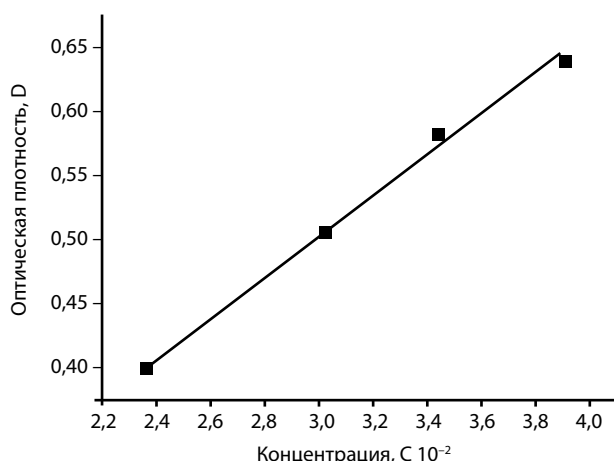


Рис. 3. Зависимость оптической плотности стандартных растворов ЛФ СЕКО в среде растворения 0,1 М НСl + 0,2 % Твин-80 от концентрации

ЛФ «Секоизолаирирезинол, капсулы 100 мг». Все изученные серии в выбранных условиях удовлетворяли требованиям ГФ XIV: в среднем не менее 75 % действующего вещества, содержащегося в ЛФ, перешло в среду растворения (табл. 4). Следует отметить, однако, что результаты для серии 3 отличаются от результатов серий 1 и 2 и близки к 100 %. Возможно, это связано с тем, что гранулят при производстве этой серии был лучше высушен (потеря в массе при высушивании содержимого капсулы составила 0,5 % в отличие от серий 1 и 2, где значение этого показателя составило 5,8 и 5,6 % соответственно).

Заключение

В результате проведенных исследований выбраны оптимальные условия, в которых в среду растворения из капсул, содержащих 100 мг СЕКО, высвобождается более 75 % активного вещества. Для количественной оценки высвобождения СЕКО из капсул разработана аналитическая методика, позволяющая с высокой достоверностью и точностью

Таблица 4. Результаты испытания «Растворение» для ЛФ «Секоизолаирирезинол, капсулы 100 мг»

Серия	Среднее содержание СЕКО в капсуле, мг	Количество СЕКО, перешедшее в раствор	
		мг	%
1	102,5	77,1	75,3
		86,2	84,1
		82,0	80,0
		72,8	71,0
		79,6	77,7
Ср. = 77,6			
2	96,6	70,8	73,3
		75,6	78,3
		68,4	70,8
		73,5	76,1
		77,1	79,8
Ср. = 75,7			
3	98,6	99,6	101,0
		97,8	99,2
		91,2	92,5
		94,9	96,3
		96,4	97,8
Ср. = 97,4			

Примечание. Результаты получены при температуре 37 °C и скорости вращения лопастной мешалки 100 об/мин.

контролировать содержание активного вещества в среде растворения. На основании полученных экспериментальных данных разработана методика проведения испытания «Растворение» для ЛФ «Секоизолаирирезинол, капсулы 100 мг».

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. FIP Guidelines for Dissolution Testing of Solid Oral Products. Dissolution Technol 1997;4:5–14.
2. Guidance for Industry. Immediate Release Solid Oral Dosage Forms. Scale-Up and Postapproval Changes: Chemistry, Manufacturing, and Controls, In Vitro Dissolution Testing, and In Vivo Bioequivalence Documentation. September 1997.
3. Guidance on the Investigation of Bioequivalence. European Medicines Agency (EMA). Committee for Medicinal Products of Human Use (CHMP), 2010.
4. Смехова И.Е., Перова Ю.М., Кондратьева И.А. и др. Тест «Растворение» и современные подходы к оценке эквивалентности лекарственных препаратов (обзор). Разработка и регистрация лекарственных средств 2013;1(2):50–61. [Smekhova I.E., Perova Yu.M., Kondratieva I.A. et al. Dissolution test and modern approaches to assessment of equivalence of medicines (review). Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Development and Registration of Medicines 2013;1(2):50–61. (In Russ.)].
5. USP 33 – NF 28 Monograph 1092 “Dissolution Procedure: Development and Validation”.
6. Recommendations on dissolution testing. PHARMEUROPA 2008;20(3):525–7.
7. ОФС 1.4.2.0014.15 «Растворение для твердых дозированных лекарственных форм». Государственная Фармакопея Российской Федерации,

- XIV изд. Т. 2. 2018. [Monograph 1.4.2.0014.15 "Dissolution for the solid dosed dosage forms". St. Ph. XIV edn. Vol. 2. 2018. (In Russ.)].
8. ICH Q8 R2. Pharmaceutical Development EMEA/CHMP/167068/2004-ICH.
 9. Amidon G.L., Lennerns H., Shah V.P., Crison J.R. A theoretical basis for a biopharmaceutics drug classification: the correlation of *in vitro* drug product dissolution and *in vivo* bioavailability. *Pharm Res* 1995;12(3):413–20. PMID: 7617530.
 10. Reddy B.B.K., Karunakar A. Biopharmaceutics classification system: a regulatory approach. *Dissolution Technol* 2011;February:31–3.
 11. Saarinen N.M., Huovinen R., Wärrä A. et al. Enterolactone inhibits the growth of 7,12-dimethylbenz(a) anthracene-induced mammary carcinomas in the rat. *Mol Cancer Ther* 2002;1(10):869–76. PMID: 12492120.
 12. Niemeyer H.B., Honig D.M., Kulling S.E., Metzler M. Studies of the metabolism of the plant lignans secoisolariciresinol and matairesinol. *J Agric Food Chem* 2003;51(21):6317–25. DOI: 10.1021/jf030263n. PMID: 14518962.
 13. Нифантьев Н.Э., Яшунский Д.В., Меньшов В.М. и др. Способ выделения секоизоларицирезинола и дигидрокверцетина из древесины. Патент на изобретение РФ, 2009, № 2359666. [Nifantsev N.E., Yashunsky D.V., Menshov V.M. et al. Way of allocation of a secoisolariciresinol and dihydroquercetin from wood. The Patent for the invention of the Russian Federation, 2009, No. 2359666. (In Russ.)].
 14. Орлова О.Л., Полозкова А.П., Трещалина Е.М. и др. Средство для лечения эстрогензависимых опухолей. Патент на изобретение РФ, 2012, № 2510268. [Orlova O.L., Polozkova A.P., Treshchalina E.M. et al. Means for treatment of estrogen-dependent tumors. Patent for the invention of the Russian Federation, 2012, No. 2510268. (In Russ.)].
 15. Борисова Ю.А., Шпрах З.С., Смирнова Г.Б. и др. Разработка пероральной лекарственной формы секоизоларицирезинола под контролем эффективности. Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН 2014;25(3–4):51–4. [Borisova Yu.A., Shprakh Z.S., Smirnova G.B. et al. Development of an oral dosage form of a secoisolariciresinol under control of efficiency. *Vestnik RONC im. N.N. Blokhina RAMN = Bulletin of N.N. Blokhin RCRC of the RAMS* 2014;25(3–4):51–4. (In Russ.)].
 16. Борисова Ю.А., Смирнова Г.Б., Райхлин Н.Т. и др. Результаты скрининга фитоантиэстрогена секоизоларицирезинола на эстрогензависимой аденокарциноме молочной железы Ca755. Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН 2014;25(1–2):26–30. [Borisova Yu.A., Smirnova G.B., Raykhlin N.T. et al. Results of screening of phytoantiestrogen secoisolariciresinol on an estrogen-dependent mammary adenocarcinoma Ca755. *Vestnik RONC im. N.N. Blokhina RAMN = Bulletin of N.N. Blokhin RCRC of the RAMS* 2014;25(1–2):26–30. (In Russ.)].
 17. Борисова Ю.А., Смирнова Г.Б., Калишьян М.С. и др. Результаты доклинического изучения нового фитоантиэстрогена секоизоларицирезинола на опухолевых моделях *in vivo*. Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН 2014;25(3–4):43–50. [Borisova Yu.A., Smirnova G.B., Kalishyan M.S. et al. Results of preclinical studying of new phytoantiestrogen secoisolariciresinol on the tumor models *in vivo*. *Vestnik RONC im. N.N. Blokhina RAMN = Bulletin of N.N. Blokhin RCRC of the RAMS* 2014;25(3–4):43–50. (In Russ.)].
 18. Борисова Ю.А., Смирнова Г.Б., Андропова Н.В. Результаты доклинического изучения секоизоларицирезинола на подкожных ксенографтах рака молочной железы человека. Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина 2015;26(доп.):47–51. [Borisova Yu.A., Smirnova G.B., Andronova N.V. Results of preclinical studying of a secoisolariciresinol on subcutaneous xenografts of human breast cancer. *Vestnik RONC im. N.N. Blokhina = Bulletin of N.N. Blokhin RCRC* 2015;26(suppl.):47–51. (In Russ.)].
 19. Игнатъева Е.В., Дмитричева Н.Д., Ярцева И.В., Шпрах З.С. Количественное определение секоизоларицирезинола в лекарственной форме. Российский биотерапевтический журнал 2014;13(1):140. [Ignatyeva E.V., Dmitricheva N.D., Yartseva I.V., Shprakh Z.S. Quantitative definition of a secoisolariciresinol in a dosage form. *Rossiysky bioterapevtichesky zhurnal = Russian Journal of Biotherapy* 2014;13(1):140. (In Russ.)].
 20. Раменская Г.В., Шохин И.Е., Савченко А.Ю., Волкова Е.А. Испытание «Растворение» в средах, моделирующих физиологические условия, как способ оценки поведения лекарственных средств *in vivo*. Биомедицинская химия 2011;57(5):482–9. [Ramenskaya G.V., Shokhin I.E., Savchenko A.Yu., Volkova E.A. Dissolution test in biorelevant media as a prognostic tool for modeling of drug behavior *in vivo*. *Biomeditsinskaya khimiya = Biomedical Chemistry* 2011;57(5):482–9. (In Russ.)].
 21. Дубовик Н.С. Разработка методики испытания «Растворение». В сб.: Тест «Растворение» в разработке и регистрации лекарственных средств. Научно-практическое руководство для фармацевтической отрасли. М.: Фармконтракт, 2015. С. 41–56. [Dubovik N.S. Development of techniques of test "Dissolution". In: The "Dissolution" test in development and registration of medicines. Scientific practical guidance for the pharmaceutical industry. Moscow: Pharmcontract, 2015. Pp. 41–56. (In Russ.)].
 22. Шпрах З.С., Игнатъева Е.В., Ярцева И.В. и др. Разработка и валидация методики количественного определения цифетрилина в таблетках. Российский биотерапевтический журнал 2016;15(3):55–62. [Shprakh Z.S., Ignatyeva E.V., Yartseva I.V. et al. Development and validation of Cyphetrylin assay in tablets. *Rossiysky bioterapevtichesky zhurnal = Russian Journal of Biotherapy* 2016;15(3):55–62. (In Russ.)].

ORCID авторов/ORCID of authors

З.С. Шпрах/Z.S. Shprakh: <https://orcid.org/0000-0003-3034-750X>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.