<https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-1-107-113>
УДК 615.072

Оригинальная статья/Research article

Стандартизация лекарственного препарата «Чемерицная вода», получаемого на основе чемерицы Лобеля (*Veratrum lobelianum* Bernh.), по показателю «Количественное определение»

Е. В. Мельник^{1*}, М. В. Белова^{1,2}, И. А. Тюрин², Г. В. Раменская¹

1 – ФГАУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), 119991, Россия, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

2 – ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н. В. Склифосовского Департамента здравоохранения города Москвы» (ГБУЗ «НИИ СП им. Н. В. Склифосовского ДЗМ»), 129090, Россия, г. Москва, Большая Сухаревская пл., д. 3

*Контактное лицо: Мельник Елизавета Валерьевна. E-mail: melnik.elizaveta.v@gmail.com

ORCID: Е. В. Мельник – <https://orcid.org/0000-0002-9727-9452>; М. В. Белова – <https://orcid.org/0000-0002-0861-5945>; И. А. Тюрин – <https://orcid.org/0000-0002-4071-1099>;
Г. В. Раменская – <https://orcid.org/0000-0001-8779-3573>.

Статья поступила: 15.01.2021. Статья принята в печать: 16.02.2021. Статья опубликована: 25.02.2021

Резюме

Введение. Согласно Государственной фармакопее Российской Федерации XIV издания оценка качества лекарственного растительного сырья (ЛРС) «Чемерицы Лобеля корневища с корнями» проводится титриметрическим методом по сумме алкалоидов. Для лекарственного препарата «Чемерицная вода», который производится из данного ЛРС, также отсутствуют селективные и чувствительные методики количественного определения действующих веществ при помощи инструментальных методов анализа. В этой связи является актуальным изучение алкалоидного состава чемерицной воды и разработка современной методики количественного определения индивидуального алкалоида для целей стандартизации данного лекарственного препарата.

Цель. Разработка подхода к стандартизации лекарственного препарата «Чемерицная вода» по показателю «Количественное определение».

Материалы и методы. Были разработаны методика определения алкалоидов чемерицы в исследуемых образцах лекарственного препарата методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемным масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-МС/МС), а также методика количественного определения иервина, основного алкалоида в составе чемерицной воды, методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с диодно-матричным детектированием (ВЭЖХ-ДАД).

Результаты и обсуждение. В результате ВЭЖХ-МС/МС-анализа были определены три основных алкалоида в составе чемерицной воды – иервин, протовератрин А и протовератрин В. По результатам количественной оценки иервин, как преобладающий в составе чемерицной воды алкалоид, был выбран для дальнейшей разработки более доступной методики анализа методом ВЭЖХ-ДАД. Данная методика была валидирована по параметрам специфичности, линейности, правильности и прецизионности. Были определены концентрации иервина в семи испытуемых образцах чемерицной воды различных производителей.

Заключение. Наибольшая концентрация иервина в исследуемых образцах чемерицной воды составила 170 мкг/мл, наименьшая – 136 мкг/мл. С целью стандартизации чемерицной воды предлагается ввести показатель качества «Количественное определение». Содержание иервина должно быть не менее 136 мкг/мл. Данный показатель может быть определен методом ВЭЖХ-ДАД.

Ключевые слова: чемерицная вода, чемерица, иервин, алкалоиды, ВЭЖХ-ДАД, ВЭЖХ-МС/МС, валидация.

Конфликт интересов: конфликта интересов нет.

Вклад авторов. Е. В. Мельник и И. А. Тюрин разработали аналитическую методику и провели ее валидацию. М. В. Белова и Г. В. Раменская участвовали в обработке полученных результатов. Все авторы участвовали в написании статьи, а также в обсуждении результатов.

Для цитирования: Мельник Е. В., Белова М. В., Тюрин И. А., Раменская Г. В. Стандартизация лекарственного препарата «Чемерицная вода», получаемого на основе чемерицы Лобеля (*Veratrum lobelianum* Bernh.), по показателю «Количественное определение». *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2021;10(1):107–113. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-1-107-113>

Quantitative Content Parameter in the Standardization of *Veratrum Aqua*, *Veratrum Lobelianum* Bernh. Based Drug

Elizaveta V. Melnik^{1*}, Maria V. Belova^{1,2}, Igor A. Tyurin², Galina V. Ramenskaya¹

1 – I. M. Sechenov First MSU of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University), 8/2, Trubetskaya str., Moscow, 119991, Russia

2 – N. V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine of the Moscow Health Department, 3, Bolshaya Sukharevskaya sq., Moscow, 129090, Russia

*Corresponding author: Elizaveta V. Melnik. E-mail: melnik.elizaveta.v@gmail.com

ORCID: Elizaveta V. Melnik – <https://orcid.org/0000-0002-9727-9452>; Maria V. Belova – <https://orcid.org/0000-0002-0861-5945>; Igor A. Tyurin – <https://orcid.org/0000-0002-4071-1099>;
Galina V. Ramenskaya – <https://orcid.org/0000-0001-8779-3573>.

Received: 15.01.2021. Revised: 16.02.2021. Published: 25.02.2021

Abstract

Introduction. According to the XIV Edition of the Russian Federation State Pharmacopoeia, the quality control of the «*Veratrum Lobelianum* rhizome and roots» herbal substance is carried out through the determination of the alkaloid sum by means of the titration-based method. There are no selective and sensitive instrumental methods for the quantitative analysis of *veratrum aqua* active ingredients either. *Veratrum aqua* is produced from the mentioned above herbal substance. Therefore, the study of *veratrum aqua* alkaloid composition is relevant, as well as the development of a modern analytical method for individual alkaloid determination that can be implemented in *veratrum aqua* standardization.

© Мельник Е. В., Белова М. В., Тюрин И. А., Раменская Г. В., 2021

© Melnik E. V., Belova M. V., Tyurin I. A., Ramenskaya G. V., 2021

Aim. To develop an approach to the quantitative analysis in Veratrum Aqua standardization.

Materials and methods. Two analytical methods were developed: one for the veratrum alkaloid determination in veratrum aqua samples by means of high performance liquid chromatography coupled with tandem mass-spectrometry (HPLC-MS/MS), another – for jervine, the main veratrum aqua alkaloid, quantitation by means of HPLC with diode-array detector (HPLC-DAD).

Results and discussion. Three main alkaloids, namely jervine, protoveratrine A and protoveratrine B, were identified in veratrum aqua. Jervine was found to be the most abundant one, hence it was chosen for the further development of a more affordable HPLC-DAD method. This method was validated for specificity, linearity, accuracy and precision. Jervine concentrations were measured in seven veratrum aqua samples produced by different manufacturers.

Conclusion. The highest jervine concentration among the examined samples was found to be 170 µg/ml, the lowest – 136 µg/ml. It is proposed to implement the following quantitative content parameter in veratrum aqua standardization: «Quantitative test. Jervine content should be not less than 136 µg/ml». This parameter is to be determined by HPLC-DAD.

Keywords: veratrum aqua, veratrum, jervine, alkaloids, HPLC-DAD, HPLC-MS/MS, validation.

Conflict of interest: no conflict of interest.

Contribution of the authors. Elizaveta V. Melnik and Igor A. Tyurin developed and validated the analytical method. Maria V. Belova and Galina V. Ramenskaya participated in the processing of the data obtained. All authors participated in writing the manuscript as well as the discussion of the results.

For citation: Melnik E. V., Belova M. V., Tyurin I. A., Ramenskaya G. V. Quantitative content parameter in the standardization of Veratrum Aqua, *Veratrum lobelianum* Bernh. based drug. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug development & registration*. 2021;10(1):107–113. (In Russ.). <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-1-107-113>

ВВЕДЕНИЕ

На сегодняшний день единственным представителем рода Чемерица (*Veratrum*, семейство Лилейные – *Liliaceae*), разрешенным к использованию в фармацевтической практике в России, является чемерица Лобеля (*Veratrum Lobelianum* Bernh.) [1]. Из лекарственного растительного сырья (ЛРС) «Чемерицы Лобеля корневища с корнями» производят лекарственный препарат «Чемеричная вода», представляющий собой настойку чемерицы, разбавленную водой очищенной в соотношении 1:1 [2]. Чемеричная вода используется наружно в качестве противопаразитарного (противопедикулезного) средства. Основными действующими веществами, содержащимися во всех частях растения, являются стероидные алкалоиды. Все алкалоиды чемерицы обладают высокой токсичностью, поэтому употребление самого растения или его препаратов приводит к острому отравлению, требующему немедленного оказания медицинской помощи [3]. Согласно [4, 5] в состав алкалоидов, содержащихся в чемерице Лобеля, входят иервин, псевдоиервин, цевадин, протовератрины А и В и др.

Согласно Государственной Фармакопее XIV издания для ЛРС «Чемерицы Лобеля корневища с корнями» количественное определение проводят методом кислотно-основного титрования по содержанию суммы алкалоидов в пересчете на протовератрин (не менее 1,0 %). В доступной отечественной литературе отсутствует информация о стандартизации чемеричной воды по показателю «Количественное определение», а также о количественном составе отдельных алкалоидов в составе лекарственного препарата. В связи с этим представляет интерес определение основных

индивидуальных алкалоидов в составе чемеричной воды и выбор алкалоида, содержащегося в наибольшем количестве в данном лекарственном препарате. Такой алкалоид можно использовать в качестве показателя, контролируемого при стандартизации чемеричной воды.

Цель работы – разработать подход к стандартизации лекарственного препарата «Чемеричная вода» по показателю «Количественное определение». Достижение поставленной цели требовало решения следующих задач:

- определение основных алкалоидов в образцах чемеричной воды различных производителей методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с tandemным масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-МС/МС) с количественной оценкой и последующим выбором алкалоида, содержащегося в наибольшем количестве;
- разработка методики количественного определения основного алкалоида в составе чемеричной воды методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с диодно-матричным детектированием (ВЭЖХ-ДАД), ее валидация и установление нижнего порогового значения содержания выбранного алкалоида в чемеричной воде.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Оборудование

Определение алкалоидов чемерицы методом ВЭЖХ-МС/МС проводили с использованием жидкостного хроматографа Agilent 1260 Infinity II с масс-спектрометром Agilent 6460, программное обеспечение MassHunter Workstation Software ver. B.09.00 (все

Agilent Technologies, США). Определение алкалоидов чемерицы методом ВЭЖХ-ДАД проводили с использованием жидкостного хроматографа Agilent 1200 Series с диодно-матричным детектором Agilent G1315D, программное обеспечение OpenLAB CDS ChemStation Edition ver. C.01.04 (все Agilent Technologies, США). Сверхчистую воду получали при помощи системы очистки воды HPLC CB-2303 (Adrona, Латвия).

Реактивы и растворы

Использовались реактивы: муравьиная кислота LC-MS-grade (Sigma-Aldrich, США), ацетонитрил HPLC-grade (J.T. Baker, Польша), метанол HPLC-grade (J.T. Baker, Польша), диметилсульфоксид (х.ч., ООО ТД «ХИММЕД», Россия). Использовались стандартные образцы: иервин (содержание иервина 100 %, срок годности до 02.2022, Sigma-Aldrich, США), протовератрин А (содержание протовератрина А 99 %, срок годности до 09.2022, PhytoLab GmbH & Co. KG, Германия), хинидин безводный (внутренний стандарт (ВС) методики, содержание хинидина 88 %, срок годности до 07.2022, Sigma-Aldrich, США). Исходные стандартные растворы готовили путем растворения 1 мг иервина (здесь и далее: точная навеска) в 1 мл метанола, 1 мг протовератрина А в 0,99 мл диметилсульфоксида, 1 мг хинидина в 0,88 мл метанола. Концентрации исходных стандартных растворов были равны 1 мг/мл.

Объектами исследования являлись образцы чемеричной воды четырех отечественных производителей различных серий (образцы № 1-7).

Условия проведения анализа методом ВЭЖХ-МС/МС

Предварительно все образцы чемеричной воды были профильтрованы через мембранный фильтр (CHROMAFIL® Xtra PA 20/25, Macherey-Nagel, Германия). Пробоподготовка образцов при первичном поиске алкалоидов в составе чемеричной воды заключалась в 10-кратном разбавлении смесью ацетонитрил/вода (1:2), а затем в 1000-кратном разбавлении при количественном определении алкалоидов. Хроматографическое разделение проводили на колонке Poroshell 120 EC-C18 (4,6 × 100 мм, 2,7 мкм) с предколонкой Poroshell 120 EC-C18 (4,6 × 5 мм, 4 мкм, обе Agilent Technologies, США). Подробные условия хроматографического разделения и tandemного масс-спектрометрического детектирования алкалоидов чемерицы описаны в работе [6].

Условия проведения анализа методом ВЭЖХ-ДАД

Пробоподготовка проводилась следующим образом: в стеклянную вials вносили 100 мкл предварительно профильтрованного исследуемого образца чемеричной воды (либо калибровочного раствора), добавляли 40 мкл ВС (рабочий стандартный раствор хинидина с концентрацией 200 мкг/мл) и полученную

смесь выпаривали в токе азота при комнатной температуре. Тем самым удалялась спирто-водная основа чемеричной воды. Затем сухой остаток реконструировали в 1 мл смеси ацетонитрил/вода (1:2).

Одновременное детектирование иервина и ВС проводили при длине волны 250 нм (диапазон 2 нм). Подвижная фаза состояла из элюента А (0,2 % муравьиная кислота в воде) и элюента В (0,1 % муравьиная кислота в ацетонитриле). Хроматографическое разделение проводили на указанной выше колонке с предколонкой Poroshell 120 EC-C18. Температура термостата колонки составила 40 °С, скорость потока – 0,8 мл/мин, объем вводимой пробы – 2 мкл, общее время хроматографирования – 13 минут. Режим элюирования представлен в таблице 1.

Таблица 1. Программа градиентного элюирования для определения иервина методом ВЭЖХ-ДАД

Table 1. Gradient elution program for HPLC-DAD jervine determination

Время, мин Time, min	Подвижная фаза А, % Mobile phase A, %	Подвижная фаза В, % Mobile phase B, %
0:00	90	10
1:00	90	10
1:10	80	20
8:00	60	40
8:10	10	90
9:00	10	90
9:10	90	10
10:00	90	10
13:00	90	10

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Определение основных алкалоидов чемерицы методом ВЭЖХ-МС/МС

В ходе первой части исследования был проанализирован алкалоидный состав образцов чемеричной воды различных производителей, разбавленных в 10 раз смесью ацетонитрил/вода (1:2), методом ВЭЖХ-МС/МС. Для этого проводили масс-спектрометрическое определение в режиме полного сканирования, а также в режиме мониторинга множественных реакций (multiple reaction monitoring, MRM). MRM-переходы были выбраны на основании литературных данных [7, 8]. Было установлено, что основными алкалоидами в составе чемеричной воды являются иервин, протовератрин А и протовератрин В. Время удерживания иервина составило 6,9 мин, протовератрина А – 9,2 мин, протовератрина В – 7,6 мин (рисунок 1). При анализе образцов чемеричной воды не были обнаружены вератридин, цевалин, псевдоиервин, вератрозин, вератрамин.

Затем была проведена количественная оценка содержания иервина и протовератрина А в образцах чемеричной воды. Вследствие отсутствия стандартного образца протовератрина В, его количественное определение не проводилось. В качестве пробоподготовки исследуемые образцы разбавляли в 1000 раз

Рисунок 1. Хроматограмма образца чемеричной воды

A – иервин; B – протOVERATРИН A; C – протOVERATРИН B

Figure 1. Veratrum Aqua chromatogram

A – jervine; B – protoveratrine A; C – protoveratrine B

смесью ацетонитрил/вода (1:2). Готовили калибровочные образцы (5 уровней) с концентрациями иервина 100, 137,5, 175, 212,5, 250 мкг/мл и с концентрациями протOVERATРИНА A 40, 55, 70, 85, 100 мкг/мл. Калибровочные кривые строили методом абсолютной калибровки. Пробоподготовка калибровочных образцов проводилась таким же способом, как и для образцов чемеричной воды. В выбранном диапазоне концентраций наблюдалась линейная зависимость отклика детектора от концентрации алкалоида в образце. Данная методика не валидировалась.

По результатам анализа были определены наибольшие и наименьшие концентрации иервина и протOVERATРИНА A в образцах чемеричной воды различных производителей. Для иервина наибольшая концентрация составила 170 мкг/мл, наименьшая – 136 мкг/мл. Для протOVERATРИНА A наибольшая концентрация составила 77 мкг/мл, наименьшая – 69 мкг/мл. Исходя из вышесказанного, иервин как алкалоид, превалирующий в составе чемеричной воды, был выбран для дальнейшей разработки методики ВЭЖХ-ДАД-анализа.

Разработка методики

количественного определения иервина в чемеричной воде методом ВЭЖХ-ДАД

Вследствие того, что диодно-матричный детектор обладает более низкой чувствительностью в сравнении с масс-спектрометрическим детектором, пробоподготовка была изменена с 1000-кратного до 10-кратного разбавления испытуемых и калибровочных образцов. Помимо этого, в данную пробоподготовку было включено использование ВС для того, чтобы учесть возможные потери анализов.

Методика хроматографического разделения анализов была оптимизирована под задачи ВЭЖХ-ДАД-анализа. Режим градиентного элюирования был изменен для лучшего разделения иервина и ВС от сторонних компонентов чемеричной воды, а также примеси дигидрохинидина. Хроматограммы чистого растворителя [смесь ацетонитрил/вода (1:2)], калибровочного образца и образца чемеричной воды представлены на рисунках 2, 3, 4 соответственно. При данных условиях время удерживания иервина составляло 7,7 мин, хинидина – 4,2 мин, дигидрохинидина – 4,5 мин.

Валидация методики количественного определения иервина в чемеричной воде методом ВЭЖХ-ДАД

Валидация аналитической методики включала оценку правильности, прецизионности, специфичности и линейности согласно требованиям руководства В.В. Береговых [9]. Специфичность методики определялась путем сравнения хроматограмм чистого растворителя, калибровочного образца и образца чемеричной воды (рисунки 2–4). На хроматограмме чистого растворителя отсутствовали пики с временами удерживания, соответствующими иервину и ВС.

Линейность методики была подтверждена в диапазоне концентраций 80–160 % (уровни диапазона 80, 100, 120, 140, 160 %) от выбранного нормируемого значения концентрации иервина. На основании результатов ВЭЖХ-МС/МС-анализа было выбрано наименьшее содержание иервина в испытуемых образцах чемеричной воды, равное 136 мкг/мл.

Калибровочные образцы готовили путем серии разведений исходного стандартного раствора иервина (концентрация 1 мг/мл) с концентрациями 109, 136, 163, 190, 218 мкг/мл. Разведение проводили сверхчистой водой с целью моделирования спирто-водной основы чемеричной воды.

Наблюдалась линейная зависимость в диапазоне концентраций от 80 до 160 % нормируемой концентрации иервина, которая описывалась уравнением $y = 0,0071x + 0,003$. Квадрат коэффициента корреляции был равен 0.9994. Калибровочный график представлен на рисунке 5.

Правильность и прецизионность методики была подтверждена путем трехкратного повторения аналитической методики для всех уровней диапазона методики ($n = 15$). Правильность методики оценивалась путем сравнения экспериментально полученных значений с истинными теоретическими значениями. Правильность была рассчитана как отношение среднего значения экспериментально полученных концентраций иервина к теоретическому содержанию иервина

Рисунок 2. Хроматограмма чистого растворителя (смесь ацетонитрил/вода, 1:2)

Figure 2. Pure solvent chromatogram (mixture of acetonitrile/water, 1:2)

Рисунок 3. Хроматограмма калибровочного образца

1 – иервин; 2 – ВС

Figure 3. Calibration sample chromatogram

1 – jervine; 2 – IS

Рисунок 4. Хроматограмма образца чемеричной воды

1 – иервин; 2 – ВС

Figure 4. Veratrum Aqua chromatogram

1 – jervine; 2 – IS

Рисунок 5. Калибровочный график зависимости отношения площади пика иервина к площади пика ВС ($S_{\text{иервин}}/S_{\text{ВС}}$) от концентрации иервина (C) в анализируемом образце (мкг/мл)

Figure 5. The calibration curve constructed by plotting the ratio of jervine to IS peak area ($S_{\text{jervine}}/S_{\text{IS}}$) versus jervine concentration (C) in the analyzed sample ($\mu\text{g/ml}$)

в образцах для каждого из уровней диапазона методики. Правильность составила 99,08–100,49 %. Оценку прецизионности проводили путем вычисления относительного стандартного отклонения экспериментально полученных значений концентраций иервина. Полученные значения находились в диапазоне 0,61–1,85 %. Результаты оценки правильности и прецизионности методики представлены в таблице 2.

Содержание иервина было определено в трех параллельных пробах каждого из испытуемых образцов чемеричной воды ($n = 3$). По результатам измерений было рассчитано среднее значение содержания иервина, которое и принималось за итоговый результат анализа. Были получены следующие результаты содержания иервина в испытуемых образцах чемеричной воды (мкг/мл): 151, 136, 165, 139, 166, 164, 170.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в испытуемых образцах чемеричной воды содержание иервина, полученное по результатам ВЭЖХ-МС/МС-анализа, подтвердилось данными ВЭЖХ-ДАД-анализа. Наибольшая концентрация иервина составила 170 мкг/мл, наименьшая – 136 мкг/мл. Вследствие того, что все испытуемые образцы были приобретены в аптеке, то есть находились в гражданском обороте лекарственных препаратов, они должны соответствовать всем требуемым показателям качества. Исходя из этого, наименьшую концентрацию иервина, полученную в данном исследовании, следует принять за нижнее пороговое значение содержания иервина в чемеричной воде. Для стандартизации лекарственного препарата «Чемеричная вода»

предлагается ввести показатель качества: «Количественное определение. Содержание иервина должно быть не менее 136 мкг/мл».

Таблица 2. Результаты оценки правильности и прецизионности определения иервина методом ВЭЖХ-ДАД

Table 2. The results of accuracy and precision for HPLC-DAD jervine determination.

Уровень диапазона методики, % Concentration level, %	Теоретическое содержание иервина, мкг/мл Nominal jervine concentration, (µg/ml)	Найдено, мкг/мл Found, (µg/ml)	Правильность, % Accuracy, %	Относительное стандартное отклонение, % Relative standard deviation, %
80	109	110	99,08	1,85
		106		
		108		
100	136	134	100,49	1,84
		137		
		139		
120	163	161	99,80	1,77
		166		
		161		
140	190	191	100,18	0,61
		191		
		189		
160	218	219	99,69	1,33
		214		
		219		

ЛИТЕРАТУРА

1. Чемерицы Лобеля корневища с корнями. ФС.2.5.0104.18. Государственная фармакопея Российской Федерации XIV издание: официальный текст. XIV изд. М.: Федеральная электронная медицинская библиотека; 2018. Доступно по: <http://www.femb.ru/femb/pharmacopea.php> Ссылка активна на 14.02.2021.
2. Государственный реестр лекарственных средств. Доступно по: <https://grls.rosminzdrav.ru/Default.aspx> Ссылка активна на 14.02.2021.
3. Мишина Т.П., Лукьянова И.Ю., Бидерман Ф.М., Афанасьева И.В. Отравление чемерицей. *Скорая медицинская помощь*. 2013;14(3):48-51.
4. Li H.-J., Jiang Y., Li P. Chemistry, bioactivity and geographical diversity of steroidal alkaloids from the Liliaceae family. *Natural Product Reports*. 2006;23(5):735-752. DOI: 10.1039/b609306j.
5. Shakirov R., Yunusov S.Yu. Alkaloids of Veratrum, Petilium, and Korolkowia. *Chemistry of Natural Compounds*. 1980;16(1):1-16. DOI: 10.1007/BF00564867.
6. Melnik E.V., Belova M.V., Potkhveriya M.M., Simonova A.Yu., Tyurin I.A., Ramenskaya G.V. Veratrum Alkaloid Determination in Four Cases of Veratrum Aqua Poisonings. *Journal of Analytical Toxicology*. 2021;1-18. DOI: 10.1093/jat/bkab019.
7. Grobosch T., Binscheck T., Martens F., Lampe D. Accidental Intoxication with Veratrum album. *Journal of Analytical Toxicology*. 2008;32(9):768-773. DOI: 10.1093/jat/32.9.768.
8. Anwar M., Turner M., Farrell N., Zomlefer W.B., McDougal O.M., Morgan B.W. Hikers poisoned: Veratrum steroidal alkaloid toxicity following ingestion of foraged Veratrum parviflorum. *Clinical Toxicology*. 2018;56(9):841-845. DOI: 10.1080/15563650.2018.1442007.
9. Береговых В.В., ред. Валидация аналитических методик для производителей лекарств. М.: Литтерра. 2008. 132 с.

REFERENCES

1. *Chemericity Lobelya kornevishcha s kornyami* [Veratrum Lobelianum rhizome and roots]. FS.2.5.0104.18. State Pharmacopoeia of the Russian Federation XIV edition: official text. Moscow: Federal'naya elektronnaya medicinskaya biblioteka; 2018. Available at: <http://www.femb.ru/femb/pharmacopea.php> Accessed: 14.02.2021. (In Russ.).
2. *Gosudarstvennyy reestr lekarstvennykh sredstv* [State register of medicines of Russia]. Available at: <https://grls.rosminzdrav.ru/Default.aspx>. Accessed: 14.02.2021. (In Russ.).
3. Mishina T. P., Lukyanova I. Yu., Biederman F. M., Afanaseva I. V. Poisoning hellebore. *Skoraya medicinskaya pomoshch = Emergency medical care*. 2013;14(3):48-51. (In Russ.)
4. Li H.-J., Jiang Y., Li P. Chemistry, bioactivity and geographical diversity of steroidal alkaloids from the Liliaceae family. *Natural Product Reports*. 2006;23(5):735-752. DOI: 10.1039/b609306j.
5. Shakirov R., Yunusov S. Yu. Alkaloids of Veratrum, Petilium, and Korolkowia. *Chemistry of Natural Compounds*. 1980;16(1):1-16. DOI: 10.1007/BF00564867.
6. Melnik E. V., Belova M. V., Potkhveriya M. M., Simonova A. Yu., Tyurin I. A., Ramenskaya G. V. Veratrum Alkaloid Determination in Four Cases of Veratrum Aqua Poisonings. *Journal of Analytical Toxicology*. 2021;1-18. DOI: 10.1093/jat/bkab019.
7. Grobosch T., Binscheck T., Martens F., Lampe D. Accidental Intoxication with Veratrum album. *Journal of Analytical Toxicology*. 2008;32(9):768-773. DOI: 10.1093/jat/32.9.768.
8. Anwar M., Turner M., Farrell N., Zomlefer W. B., McDougal O. M., Morgan B. W. Hikers poisoned: Veratrum steroidal alkaloid toxicity following ingestion of foraged Veratrum parviflorum. *Clinical Toxicology*. 2018;56(9):841-845. DOI: 10.1080/15563650.2018.1442007.
9. Beregovykh V. V. *Validatsiya analiticheskikh metodik dlya proizvoditelei lekarstv* [Validation of analytical procedures for drug manufacturers]. Moscow: Litterra; 2008. 132 p. (In Russ.).