



## VALIDATION OF THE METHOD OF QUANTITATIVE ANALYSIS OF THE LIQUID EXTRACT "EXTRADENT"

**Yuldasheva Shokhidakhon Saitovna**

Acting Associate Professor, PhD, Alfraganus University  
Phone: +998 70 074 27 06/ E-mail: sh.yuldasheva@afu.uz.

**N.A. Yunuskhodjayev**

FTTI.

**Khanifa Inomova**

1st-Year Student, Group 25-15, General Medicine Program  
Alfraganus University

<https://doi.org/10.5281/zenodo.20811883>

### ARTICLE INFO

Received: 02<sup>nd</sup> June 2026

Accepted: 08<sup>th</sup> June 2026

Online: 09<sup>th</sup> June 2026

### KEYWORDS

Extract, analysis,  
validation, liquid,  
quantity, weight,  
flavonoids, method,  
correlation, active  
substance, indicators,  
routine, robinin,  
quercetin.

### ABSTRACT

*This study presents the validation of the quantitative analysis of flavonoids in the liquid extract "Ekstradent" using high-performance liquid chromatography (HPLC). The study emphasizes the relevance of developing effective phytocompositions based on local plant raw materials for the prevention of inflammatory diseases of the oral cavity. The "Ekstradent" extract is derived from stinging nettle (*Urtica dioica* L.) leaves, pot marigold (*Calendula officinalis* L.) flowers, the herbs of water pepper (*Polygonum hydropiper* L.) and shepherd's purse (*Capsella bursa-pastoris* L.). The primary research focus is on flavonoids, whose quantitative determination was performed by HPLC using an Agilent Technologies 1200 chromatograph. During the validation process, parameters such as specificity, repeatability, accuracy, linearity, range of application, and stability were examined. The repeatability of the method was confirmed by a series of eight consecutive measurements, where the relative standard deviation was 0.96545%. Accuracy analysis demonstrated deviations within  $\pm 1\%$  from theoretical values. The linearity of the method was confirmed by a high correlation coefficient (0.99). The method showed stability under varying analytical conditions, including wavelength shifts of  $\pm 1$  nm. The results confirm the suitability of the proposed method for the quantitative analysis of flavonoids in the "Ekstradent" liquid extract. The validation meets modern pharmaceutical analysis requirements and can be used for quality control of this pharmaceutical formulation.*

## ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДА КОЛИЧЕСТВЕННОГО АНАЛИЗА ФЛАВОНОИДОВ В СОСТАВЕ ЖИДКОГО ЭКСТРАКТА «ЭКСТРАДЕНТ»

**Юлдашева Шохидахон Сайтовна**

и.о. доцента Университета Альфраганус, PhD



**ARTICLE INFO**

Received: 02<sup>nd</sup> June 2026

Accepted: 08<sup>th</sup> June 2026

Online: 09<sup>th</sup> June 2026

**KEYWORDS**

Экстракт, анализ,  
валидация, жидкость,  
количество, масса,  
флавоноиды, метод,  
корреляция,  
действующее вещество,  
показатели, рутин,  
робинин, кверцетин.

**ABSTRACT**

*В данном исследовании рассматривается вопрос валидации количественного анализа флавоноидов в жидком экстракте «Экстрадент» с использованием метода высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Актуальность исследования обусловлена необходимостью разработки эффективных фитокомпозиций на основе местного растительного сырья для профилактики воспалительных заболеваний полости рта. Экстракт «Экстрадент» получен из растительного сырья следующих растений: крапива двудомная (*Urtica dioica* L.), цветки календулы (*Calendula officinalis* L.), горец перечный (*Polygonum hydropiper* L.) и пастушья сумка (*Capsella bursa-pastoris* L.). Основным объектом исследования являются флавоноиды. Их количественное определение проводилось методом ВЭЖХ с использованием хроматографа Agilent Technologies 1200. В процессе валидации были изучены такие параметры метода, как специфичность, воспроизводимость, точность, линейность, диапазон применения и устойчивость. Воспроизводимость была подтверждена на основании результатов восьми последовательных измерений, при этом относительное стандартное отклонение составило 0,96545%. Анализ точности показал, что результаты отличаются от теоретических значений в пределах  $\pm 1\%$ . Линейность метода подтверждена высоким коэффициентом корреляции (0,99). Также установлено, что устойчивость метода сохраняется при изменении длины волны детекции в диапазоне  $\pm 1$  нм. Полученные результаты подтверждают пригодность данного метода для количественного анализа флавоноидов в составе жидкого экстракта «Экстрадент». Валидация метода соответствует современным требованиям фармацевтического*



IF = 9.2

анализа и может быть использована для контроля качества данной лекарственной формы.

**Актуальность.** Различные заболевания полости рта могут способствовать развитию других внутренних заболеваний организма. Для их профилактики особое внимание уделяется разработке высокоэффективных фитокомпозиций на основе лекарственных растений местного происхождения, обладающих противовоспалительным и кровоостанавливающим действием. Важными задачами являются подбор состава таких композиций, определение их биологически активных веществ, идентификация основных действующих компонентов современными методами, а также их стандартизация и валидация. С учётом вышеизложенного был разработан жидкий экстракт «Экстрадент», полученный из растительного сырья следующих растений: листья крапивы двудомной (*Urtica dioica* L.), цветки календулы (*Calendula officinalis* L.), горец перечный (*Polygonum hydropiper* L.) и надземная часть пастушьей сумки (*Capsella bursa-pastoris* L.). Для определения основного действующего вещества жидкого экстракта — флавоноидов — был валидирован метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Цель исследования: валидация метода ВЭЖХ для количественного анализа жидкого экстракта

«Экстрадент».

Материалы и методы: условия хроматографирования: хроматограф Agilent Technologies 1200, детектор — спектрофотометрический; колонка — Zorbax Eclipse XDB C18 (150 × 3,0 мм, размер частиц 3,5 мкм); подвижная фаза (А) — 0,05 моль/л буферный раствор ацетата аммония; подвижная фаза (В) — ацетонитрил (для ВЭЖХ); длина волны спектрофотометрического детектора — 370 нм; скорость потока подвижной фазы — 1,0 мл/мин; температура колонки — 40°C; объём вводимой пробы — 20 мкл; время анализа — 20 мин; концентрация определяемого вещества — 0,1 мг/мл (в подвижной фазе). В качестве валидационных характеристик были исследованы специфичность, воспроизводимость, точность, линейность, диапазон применения и устойчивость метода. Воспроизводимость метода

Для изучения воспроизводимости метода было проведено 8 последовательных анализов исследуемого раствора. На основании полученных результатов была выполнена их статистическая обработка и рассчитано относительное стандартное отклонение. Полученное значение относительного стандартного отклонения составило 0,96545%.

**1-й анализ:** 0,763 %

**2-й анализ:** 0,761 %



**3-й анализ:** 0,762 %  
**4-й анализ:** 0,765 %  
**5-й анализ:** 0,771 %  
**6-й анализ:** 0,769 %  
**7-й анализ:** 0,768 %  
**8-й анализ:** 0,769 %

**Точность метода**

Для оценки точности метода были приготовлены растворы с содержанием флавоноидов, соответствующим 75%, 100% и 125% от их количества в лекарственном

средстве. Каждый из растворов анализировался по три раза. Полученные результаты сравнивались с теоретическими значениями, рассчитанными на основе фактически взятой навески. Установлено, что отклонение полученных результатов от теоретически ожидаемых значений составило  $\pm 1\%$ .

Таблица 1.

**Результаты анализа (75%)**

№	Навеска	Теоретическое количество	Фактически определённое количество	% от теоретического	Отклонение (%)
1	0,57 мг	0,57	0,567 мг/мл	99,47 %	0,53 %
2	0,57 мг	0,57	0,565 мг/мл	99,12 %	0,88 %
3	0,57 мг	0,57	0,566 мг/мл	99,29 %	0,71 %

Все 3 результата анализа находятся в пределах  $\pm 1\%$ .

**Таблица**

2.

**Результаты анализа (100%)**

№	Навеска	Теоретическое количество	Фактически определённое количество	% от теоретического	Отклонение (%)
1	0,95 мг	0,95	0,955 мг/мл	100,52 %	0,52 %
2	0,95 мг	0,95	0,951 мг/мл	100,10 %	0,10 %
3	0,95 мг	0,95	0,951 мг/мл	100,10 %	0,10 %

Все 3 результата анализа находятся в пределах  $\pm 1\%$ .

**Линейность метода**

Для оценки линейности были приготовлены стандартные растворы рутина, робинина и кверцетина с концентрациями 50%, 75%, 100%,



IF = 9.2

150% и 200% относительно содержания флавоноидов в лекарственном средстве. Каждый раствор был проанализирован.

На основании полученных данных был построен калибровочный график и рассчитан коэффициент корреляции, который составил **0,99**, что подтверждает хорошую линейность метода.

**Результаты анализа:**

- **Результат 50%:** 0,0038 – 0,00381 мг/мл
- **Результат 75%:** 0,0063 – 0,00571 мг/мл
- **Результат 100%:** 0,0076 – 0,00759 мг/мл
- **Результат 150%:** 0,0114 – 0,01145 мг/мл
- **Результат 200%:** 0,0152 – 0,01522 мг/мл

Если нужно, могу оформить это как полноценный раздел диплома или статьи (с ГОСТ/IMRAD стилем).

**График линейности метода (рутин)**

Для проверки линейности метода по рутину были получены следующие результаты:

- **результаты: 50%:** 0,0068 – 0,00681 мг/мл
- **результаты: 75%:** 0,0072 – 0,00719 мг/мл
- **результаты: 100%:** 0,0081 – 0,00814 мг/мл
- **150%:** 0,0109 – 0,01087 мг/мл
- **результаты: 200%:** 0,0129 – 0,01291 мг/мл

**Рисунок 4.5. График линейности метода (робинин)**

Для робинина были получены следующие результаты:

**результаты 50%:** 0,0047 – 0,00469 мг/мл

- **результаты 75%:** 0,0068 – 0,00681 мг/мл
- **результаты 100%:** 0,0076 – 0,00759 мг/мл
- **результаты 150%:** 0,0121 – 0,0119 мг/мл

**результаты 200%:** 0,0152 – 0,01522 мг/мл

**Рисунок 4.6. График, построенный для проверки линейности метода (Кверцетин)****Область применения метода**

Для изучения области применения метода были использованы результаты анализа, полученные при исследовании точности. В соответствии с этим были приготовлены стандартные растворы кверцетина с концентрациями 75% и 125% относительно содержания флавоноидов в лекарственном средстве. Каждый раствор анализировали по 3 раза.

Полученные результаты сравнивали с теоретическими значениями, рассчитанными на основе фактически взятой навески. Разница между полученными и теоретическими значениями составила ±1%.

**Таблица 4.7**

Результаты анализа (75%)



№	Навеска	Теоретическое количество	Фактически определённое количество	% от теоретического	Отклонение (%)
1	0.57 мг	0.57	0.567 мг/мл	99.47 %	0.53 %
2	0.57 мг	0.57	0.565 мг/мл	99.12 %	0.88 %
3	0.57 мг	0.57	0.566 мг/мл	99.29 %	0.71 %

Все 3 результата анализа находятся в пределах  $\pm 1\%$ .

Результаты анализа (125%)

Таблица 4.8

№	Навеска	Теоретическое количество	Фактически определённое количество	% от теоретического	Отклонение (%)
1	0.95 мг	0.95	0.955 мг/мл	100.52 %	0.52 %
2	0.95 мг	0.95	0.951 мг/мл	100.10 %	0.10 %
3	0.95 мг	0.95	0.951 мг/мл	100.10 %	0.10 %

Все 3 результата анализа также находятся в пределах  $\pm 1\%$ .

#### Стабильность метода

При изучении стабильности метода в процессе анализа изменяли длину волны на  $\pm 1$  нм.

**Результаты анализа при 369 нм:**

- 1 анализ: 0.762%
- 2 анализ: 0.765%
- 3 анализ: 0.761%

#### Результаты анализа при 371 нм:

нм:

- 1 анализ: 0.760%
- 2 анализ: 0.763%
- 3 анализ: 0.767%

В ходе проведённых анализов существенных отклонений не наблюдалось, что подтверждает стабильность метода при изменении длины волны в диапазоне  $\pm 1$  нм.

- **Валидационные результаты анализа**

№	Параметры	Критерий оценки
1	Специфичность метода	Подтверждена



2	Воспроизводимость метода	RSD = 0,93463%
3	Точность метода	±1% (не более)
4	Линейность метода	Корреляция = 0,99
5	Диапазон применения	±1%
6	Устойчивость метода	±1 нм

При валидации метода высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения количества флавоноидов в составе жидкого экстракта «Экстрадент» все шесть валидационных параметров соответствовали установленным критериям оценки.

Это, в свою очередь, подтверждает возможность применения данного метода для количественного определения флавоноидов в жидком экстракте «Экстрадент», а также свидетельствует о его валидированности.

### Результаты

Для изучения специфичности метода были приготовлены плацебо и исследуемые растворы, после чего проведён анализ. Установлено, что данный метод является специфичным именно для определения флавоноидов.

Для оценки воспроизводимости было выполнено 8 последовательных анализов исследуемого раствора. На основании статистической обработки результатов рассчитано относительное стандартное отклонение, составившее 0,96545%.

Для оценки точности были приготовлены растворы с содержанием флавоноидов 75%, 100% и 125% относительно их содержания в лекарственном средстве. Каждый из растворов анализировался трижды. Полученные результаты показали, что отклонение от теоретических значений составляет ±1%.

Для оценки линейности были приготовлены стандартные растворы рутин, робинина и кверцетина с концентрациями 50%, 75%, 100%, 150% и 200%. На основе полученных данных был построен калибровочный график и рассчитан коэффициент корреляции, равный 0,99.

### Выводы

Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии для количественного определения флавоноидов в жидком экстракте «Экстрадент» был успешно валидирован. В результате установлено, что разработанный метод соответствует требованиям по шести основным валидационным параметрам и является пригодным для применения.



IF = 9.2

# EURASIAN JOURNAL OF MEDICAL AND NATURAL SCIENCES

Innovative Academy Research Support Center

[www.in-academy.uz/index.php/ejmns](http://www.in-academy.uz/index.php/ejmns)

## References:

1. Скляревская Н.В., Пахомова Л.А. Определение флавоноидов в траве пастушьей сумки: разработка методики и её валидация // Фармация. – 2017. – Т. 66. – №4. – С. 20–24.
2. Афанасьева П.В., Куркин В.А., Куркина А.В. Оптимизация подходов к стандартизации фитопрепаратов на основе календулы лекарственной // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2015. – Т. 17. – №5(3). – С. 930–934.