

## РАЗРАБОТКА МЕТОДИК ИДЕНТИФИКАЦИИ И КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФЛАВОНОИДОВ В ТРАВЕ ЧИНЫ КЛУБНЕНОСНОЙ (*LATHYRUS TUBEROSUS* L.)

**Р.А. Бубенчиков**

д.фарм.н., доцент,  
кафедра фармакогнозии и ботаники, Курский государственный медицинский университет  
E-mail: bubenjikova.ksmu@yandex.ru

**О.Н. Кулик**

аспирант,  
кафедра фармакогнозии и ботаники, Курский государственный медицинский университет  
E-mail: bubenjikova.ksmu@yandex.ru

**К.Р. Бубенчикова**

студентка,  
Курский государственный медицинский университет  
E-mail: bubenjikova.ksmu@yandex.ru

**Актуальность.** Чина клубненосная (*Lathyrus tuberosus* L.) применяется в народной медицине как вяжущее средство, однако до настоящего времени не установлены действующие вещества этого растения и не проведена его стандартизация.

**Цель работы.** Разработка методик идентификации и количественного определения флавоноидов в траве чины клубненосной.

**Материалы и методы.** Объект исследования – трава чины клубненосной, заготовленная в 2018–2019 гг. В основу метода качественной идентификации флавоноидов положена тонкослойная хроматография, количественное определение флавоноидов осуществляли спектрофотометрическим методом.

**Результаты.** Для качественной идентификации использованы пластинки Sorbfil на алюминиевой подложке, объем нанесения извлечения – 10 мкл, подвижная фаза: бутанол–уксусная кислота–вода (4:1:2), стандартное вещество – рутин, цинарозид; детектирование выполняли 5%-ным раствором хлористого алюминия. Проведена валидация методики. Для количественного определения флавоноидов разработана спектрофотометрическая методика определения в пересчете на рутин. Установлены оптимальные условия экстрагирования.

**Выводы.** Разработаны методики качественной идентификации и количественного определения флавоноидов в траве чины клубненосной. Содержание флавоноидов представлено от  $1,88 \pm 0,07\%$  до  $2,40 \pm 0,04\%$ .

**Ключевые слова:** чина клубненосная, бобовые, флавоноиды, стандартизация, хроматография, спектрофотометрия.

**Для цитирования:** Бубенчиков Р.А., Кулик О.Н., Бубенчикова К.Р. Разработка методик идентификации и количественного определения флавоноидов в траве чины клубненосной (*Lathyrus tuberosus* L.). Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2020;23(6):22–27. <https://doi.org/10.29296/25877313-2020-06-04>

Чина клубненосная (*Lathyrus tuberosus* L.) относится к семейству бобовые (Fabaceae L), которое включает в себя более 100 видов растений, относящихся к роду чина (*Lathyrus* L.). На территории черноземной полосы России произрастают чина лесная, чина луговая, чина гороховидная, чина клубненосная, душистый горошек и др. [1].

Чина клубненосная (в народе ее еще называют земляным орешком или чиной розовой) относится к многолетникам, достигающим в длину 30–100 см. Стебли ребристые, четырехгранные, простертые. Листочки продолговато-эллиптические, однопарные, зеленого цвета с усиками. Соцветие – рыхлая кисть, состоящая из 3–8 небольших цветков, длиной до 2 см ярко-розового цвета.

Плод – боб продолговато-линейной формы, голый. Чина клубненосная начинает цвести с июня по октябрь, а плодоносить – с июля [1, 2]. Растение распространено на Кавказе, в Малой и Средней Азии, Сибири. В России встречается во всех южных областях Средней России, на черноземной почве. Произрастает в посевах зерновых, вдоль дорог, по лугам, полянам, опушкам, на сорных местах [2].

В народной медицине используют отвар корней, обладающий вяжущим действием (при дизентерии, колитах и т.д.). Свежие молодые листья добавляют в салат [3]. В траве чины клубненосной выявлено наличие дубильных веществ, тритерпеновых соединений, полисахаридов, флавоноидов [4–6]. До настоящего времени не установлены

действующие вещества чины клубненосной и не проведена стандартизация этого растения.

Цель исследования – разработка методик идентификации и количественного определения флавоноидов травы чины клубненосной, как одной из групп биологических активных веществ.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объект исследования – измельченная трава чины клубненосной. Сырье заготавливали в период массового цветения в 2018–2019 гг. в Курской области (Мантуровский район). Заготовку осуществляли при благоприятной погоде, срезанное сырье помещали в тряпичные мешки и доставляли к месту сушки. Сырье чины клубненосной измельчали раскладывали тонким слоем и сушили на воздухе в тени, затем просеивали (сито с ячейкой 1 мм), выделяли среднюю пробу [6, 7].

Структура фармакопейной статьи предусматривает раздел «Определение подлинности биологически активных веществ», в котором приводятся качественные реакции и исследование действующих веществ с помощью методов хроматографии. Для хроматографического исследования травы чины клубненосной использовали метод тонкослойной хроматографии. Разработку метода идентификации травы чины клубненосной проводили по флавоноидным соединениям – одной из групп биологически активных веществ. Методику идентификации флавоноидов разрабатывали по следующим направлениям: определение способа экстрагирования; выбор стандартных веществ; установление хроматографических пластинок; определение системы растворителей; установление аликвоты извлечения для нанесения на хроматографическую пластинку; выбор проявляющего реактива.

Для установления способа экстрагирования применяли методы, наиболее часто используемые в ГФ XIV издания [8]. Далее проводили экстракцию из измельченного сырья четырьмя способами.

Способ 1 – к 1,0 г сырья добавляли 100 мл 70%-ного этилового спирта и нагревали при кипении на водяной бане с обратным холодильником в течение 60 мин.

Способ 2 – к 1,0 г сырья добавляли 10 мл 96%-ного этилового спирта и нагревали при кипении на водяной бане с обратным холодильником в течение 10 мин.

Способ 3 – к 1,0 г сырья добавляли 10 мл 70%-ного этилового спирта и нагревали при кипении

на водяной бане с обратным холодильником в течение 10 мин.

Способ 4 – к 1,0 г сырья добавляли 10 мл 50%-ного этилового спирта, помещали на водяную баню, далее присоединяли к обратному холодильнику, время экстракции – 10 мин.

Полученные извлечения охлаждали до температуры окружающей среды, очищали при помощи фильтрования.

Стандартные вещества устанавливали на основе изучения литературных данных; в качестве веществ-свидетелей были выбраны фармакопейные стандартные образцы (ФСО) – рутина (Sigma-Aldrich), цинарозида (фирма «Фитопанacea»), кверцетина (USP reference standard). Для хроматографирования использовали пластинки со слоем силикагеля «Sorbfil ПТСХ-АФ-А-УФ 10×20» на различных основах и различных серий: алюминиевой и полимерной (полиэтилентерефталат). В качестве подвижной фазы использовались системы растворителей: бутанол – уксусная кислота – вода (4:1:2), этилацетат – бутанол-муравьиная кислота – вода (30:10:5:5), этилацетат – метанол – вода (77:12:11), этилацетат – муравьиная кислота – вода (65:15:20). Подвижная фаза проходила расстояние 7–8 см. На хроматографическую пластинку нанесение стандартных растворов и исследуемых извлечений проводили с помощью микрошприца в объемах для исследуемых извлечений – 10, 20, 30, 50 мкл и стандартных растворов – 10 мкл. Затем пластину помещали в хроматографическую камеру. Сухую пластинку, просматривали в УФ-свете, в дальнейшем обрабатывали 5%-ным раствором алюминия хлорида, высушивали (0,5 ч) и просматривали в ультрафиолетовом свете (длина волны 365 нм), отмечая появление характерных пятен и их цвет.

Разработанная методика количественного определения включала в себя: установление наиболее оптимальных условий экстракции флавоноидных соединений, максимума поглощения комплекса флавоноидов с алюминия хлоридом и изучение условий спектрофотометрирования данного комплекса.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Извлечение, полученное Способом 2 экстракции, имеет лучшее разделение зон флавоноидов, поэтому был выбран этот способ экстрагирования как более эффективный, требующий меньше усилий и содержащий меньше сопутствующих веществ.

Исследование систем растворителей показало, что бутанол – уксусная кислота (4:1:2) дает лучшее разделение флавоноидных соединений, что и было использовано в дальнейшем. Для исследования использованы хроматографические пластинки со слоем силикагеля «Sorbfil ПТСХ-АФ-А-УФ 10×20» на алюминиевой основе.

На хроматографическую пластинку наносили аликвоты исследуемых растворов по 10, 20, 30 и 50 мкл. В ходе эксперимента выявлено, что оптимальный объем для нанесения на хроматографическую пластинку – 10 мкл. Данный объем извлечения позволяет получить воспроизводимые и репрезентативные хроматограммы.

Для проявления зон флавоноидов выбран 5%-ный раствор алюминия хлорида в спирте этиловом 70%-ном, поскольку в результате химической реакции образуются соединения, имеющие желто-зеленую флуоресценцию в УФ-свете.

Для идентификации флавоноидов сырья чины клубненосной использованы стандартные образцы флавоноидных соединений, содержащиеся в траве чины клубненосной: СО рутина, СО цинарозида, СО кверцетина. На хроматограмме выявлены четыре основные характерные зоны, две из которых по флуоресценции и окрашиванию зон соответствовали рутину и цинарозиду.

Валидацию разработанной методики идентификации флавоноидов проводили по показателям: робастность, специфичность, воспроизводимость [9].

Робастность изучали по влиянию насыщенности хроматографической камеры на разделение флавоноидных соединений. Хроматографическую пластинку после нанесения аликвот исследуемого извлечения из различных серий помещали в камеру различной степени насыщенности, время насыщения – 30 и 60 мин, и хроматограммы сравнивали. В результате установили, что в насыщенной камере наблюдается более четкое разделение, а время насыщения не имеет значения.

Изучение специфичности проводили, сравнивая хроматографический профиль стандартных образцов с зонами испытуемых растворов. Установлено, что стандартные образцы подходят и могут быть использованы для стандартизации сырья чины клубненосной, так как расположение их зон позволяет объективно описывать положение зон флавоноидных веществ относительно веществ-маркеров.

Воспроизводимость данной методики изучалась путем сравнения хроматограмм, полученных

на различных пластинках, в разные дни и проведенные разными аналитиками. Проведенные исследования показали, что полученные хроматографические профили близки по интенсивности окраски, размеру, расположению зон. Идентичные хроматограммы получены в разные дни и разными экспертами.

В процессе исследований сырья чины клубненосной разработана методика, позволяющая идентифицировать сырье по характерному хроматографическому профилю.

**Методика идентификации сырья.** 1,0 г сырья (сито с ячейкой 1 мм) помещают в термостойкую колбу с притертым горлышком, к нему добавляют спирт этиловый в объеме 10 мл, колбу со смесью присоединяют к обратному холодильнику и нагревают 10 мин, пропускают через марлю, затем через бумажный фильтр до получения прозрачного раствора. В качестве раствора сравнения используют 2,5 мг стандартных веществ (рутина, кверцетина, цинарозида) в 10 мл спирта этилового. Полученное извлечение наносят на хроматографическую пластинку на подложке из алюминия со слоем силикагеля «Sorbfil ПТСХ-АФ-А-УФ 10×20». Объем наносимых аликвот составляет 10 мкл (стандартные растворы и исследуемые извлечения). Пластину помещают в предварительно насыщенную хроматографическую камеру с подвижной фазой бутанол – уксусная кислота – вода (4:1:2), после прохождения подвижной фазы пластинку высушивают на воздухе (20–30 мин). При помощи пульверизатора обрабатывают 5%-ным раствором хлористого алюминия и после окончательного высыхания просматривают в УФ-свете при длине волны 365 нм. На исследуемой хроматограмме можно наблюдать четыре зоны желтого цвета, две из которых соответствуют цинарозиду и рутину.

**Методика количественного определения флавоноидов.** Прежде всего определяют максимум поглощения извлечения из травы чины клубненосной с алюминия хлоридом. В качестве экстрагента используют 70%-ный спирт этиловый, соответствующий длине волны 410 нм и равный максимуму поглощения СО рутин с алюминия хлоридом. Следовательно, длина волны 410 нм может быть применена для спектрофотометрического определения флавоноидов в надземной части чины клубненосной в пересчете на рутин (удельный показатель – 260). Далее устанавливают оптимальные условия экстрагирования.

В процессе эксперимента изучены: степень дисперсности сырья, природа и концентрация экстрагента, время экстрагирования. Первоначально сырье чины клубненосной с влажностью 13% бы-

ло измельчено (1, 2 и 3 мм). В итоге наибольший выход флавоноидов из травы чины клубненосной отмечается при измельчении 1 мм и составляет  $2,40 \pm 0,03\%$  (табл. 1).

**Таблица 1. Условия экстракции флавоноидов из травы чины клубненосной**

Параметры экстрагирования	Сумма флавоноидов в пересчете на абсолютно сухое сырье и рутин, %
Измельченность сырья, мм:	
1	$2,40 \pm 0,03$
2	$2,25 \pm 0,07$
3	$2,13 \pm 0,04$
Используемый экстрагент:	
Вода очищенная	$1,71 \pm 0,07$
30%-ный спирт этиловый	$1,83 \pm 0,06$
50%-ный спирт этиловый	$1,98 \pm 0,05$
70%-ный спирт этиловый	$2,40 \pm 0,04$
96%-ный спирт этиловый	$1,20 \pm 0,04$
Время экстрагирования, мин (соотношение: сырье – экстрагент – (1:100), экстрагент – спирт этиловый 70%-ный):	
30	$2,19 \pm 0,05$
45	$2,23 \pm 0,06$
60	$2,33 \pm 0,05$
75	$2,23 \pm 0,07$

Установлено, что наиболее подходящим экстрагентом является 70%-ный спирт этиловый, при его использовании наблюдается высокий уровень извлечения флавоноидных соединений, который составляет  $2,40 \pm 0,04\%$ . Экстрагент более высокой концентрации (96%-ный спирт этиловый) не обеспечил хорошей полноты извлечения флавоноидов из сырья чины клубненосной, поэтому наблюдали низкое содержание флавоноидов  $1,20 \pm 0,04\%$ . Исходя из полученных результатов, в качестве экстрагента флавоноидов выбран спирт этиловый 70%-ный. Экстрагирование биологически активных веществ проводили в течение 30, 45, 60, 75 мин. Показано, что оптимальным временем экстрагирования является 60 мин, содержание флавоноидов составляет  $2,33 \pm 0,07\%$  (табл. 1). При увеличении времени экстракции не наблюдается повышения концентрации фенольных соединений, но имеет место накопление балластных веществ в извлечении.

Следующий этап по разработке методики основывался на изучении полученных комплексов флавоноидов с алюминия хлоридом различной концентрации (табл. 2).

**Таблица 2. Условия спектрофотометрирования комплексов флавоноидов из травы чины клубненосной с алюминия хлоридом**

Концентрация и объем алюминия хлорида для реакции комплексообразования	Сумма флавоноидов в пересчете на абсолютно сухое сырье и рутин, %
Концентрация раствора алюминия хлорида, %:	
1	$2,28 \pm 0,04$
2	$2,23 \pm 0,06$
3	$2,26 \pm 0,05$
4	$2,34 \pm 0,07$
5	$2,32 \pm 0,05$
Объем раствора алюминия хлорида 5%, мл:	
1	$2,32 \pm 0,05$
2	$2,35 \pm 0,08$
3	$2,28 \pm 0,07$
4	$2,31 \pm 0,06$
5	$2,29 \pm 0,06$

В ходе эксперимента установлены условия спектрофотометрирования: наиболее приемлемая концентрация алюминия хлорида составляет 4% в объеме 2 мл. Полученные данные дают возможность разработать методику спектрофотометрического определения суммы флавоноидов в траве чины клубненосной:

**Методика спектрофотометрического определения суммы флавоноидов.** Точную навеску (около 1,0 г) измельченного сырья размером 1 мм и влажностью 13% засыпают колбу вместимостью 250 мл, заливают 100 мл спирта этилового в концентрации 70% и взвешивают, используя для этого тарирные весы ( $\pm 0,01$ ). Взвешенную колбу со смесью помещают на кипящую водяную баню и герметично соединяют с обратным холодильником во избежание потерь спирта. По истечении 60 мин колбу с содержимым снимают с водяной бани, охлаждают на воздухе, вытирают насухо бумажными полотенцами и взвешивают. При изменении массы смеси доводят ее до исходной тем же растворителем, добавляя его по каплям при помощи мерной пипетки. Извлечение фильтруют до прозрачного раствора (раствор А). Далее 2 мл раствора А добавляют в мерную колбу вместимостью

25 мл, добавляют 2 мл раствора хлористого алюминия 4%-ного и раствор кислоты уксусной 3%-ный в объеме 1 мл. Затем спиртом 70%-ным доводят до метки, закрывают плотно стеклянным колпачком и через 30 мин (раствор Б), измеряют при длине волны 410 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм.

Раствор сравнения состоит из 2 мл раствора А, 1 мл раствора кислоты уксусной 3%-ной и спирта этилового 70%-ного. По формуле рассчитывают содержание суммы флавоноидных соединений в пересчете на рутин (%):

$$X = \frac{D \cdot 100 \cdot 25 \cdot 100}{A \frac{1\%}{1 \text{ см}} \cdot a \cdot 2 \cdot (100 - W)},$$

где  $D$  – оптическая плотность исследуемого извлечения (раствора Б);  $\frac{1\%}{1 \text{ см}}$  – удельный показатель поглощения рутина с алюминия хлоридом в спирте этиловом 70%-ном при длине волны 410 нм, равный 260;  $a$  – масса навески сырья, г;  $W$  – влажность сырья, %.

Метрологическая характеристика методики спектрофотометрического определения флавоноидов представлена в табл. 3.

**Таблица 3. Метрологическая характеристика методики спектрофотометрического определения флавоноидов в траве чины клубненосной**

$N$	$f$	$\bar{X}$	$S^2$	$S$	$p, \%$	$X$	$\varepsilon, \%$
5	4	2,40	0,00025	0,01581	95	0,04	1,67
5	4	1,88	0,00093	0,0305	95	0,07	3,72

Примечание:  $N$  – объем выборки;  $f$  – число степеней свободы;  $\bar{X}$  – среднее арифметическое;  $S^2$  – дисперсия;  $S$  – стандартное отклонение;  $p$  – доверительная вероятность;  $X$  – вычисленные значения переменных;  $\varepsilon$  – относительная ошибка.

Содержание флавоноидов в траве чины клубненосной имеет интервал  $1,88\% \pm 0,07\%$  до  $2,40 \pm 0,04\%$ , ошибка единичного определения с вероятностью 95% не превышает 3,72%.

## Выводы

1. Разработана методика идентификации флавоноидов в траве чины клубненосной с использованием метода тонкослойной хроматографии; в качестве стандартных веществ выбраны рутин и цинарозид.
2. Разработана методика спектрофотометрического определения флавоноидов в траве чины клубненосной в пересчете на рутин.

3. Определены приемлемые условия проведения экстракции флавоноидов из сырья: размер частиц – 1 мм, время извлечения – 60 мин, экстрагент – 70%-ный спирт этиловый.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Губанов И.А., Киселева К.В., Новиков В.С., Тихомиров В.Н. Иллюстрированный определитель растений Средней России. М.: Товарищество научных изданий КМК, Институт технологических исследований. 2004; 2:439–447.
2. Маевский П.Ф. Флора средней полосы европейской части России. Изд. 11-е. М.: Товарищество научных изданий КМК. 2014. С. 157–159.
3. Махлаюк В.П. Лекарственные растения в народной медицине. Саратов, 1991. 544 с.
4. Бубенчикова, В.Н., Кулик О.Н. Исследование дубильных веществ чины клубненосной (*Lathyrus tuberosus* L.) XXVI

- Российский национальный конгресс «Человек и лекарство», 2019. 101 с.
5. Бубенчикова, В.Н. Изучение тритерпеновых соединений травы тимьяна Маршалла. Всеросс. науч.-практ. конф. с междунар. участием «Традиции и инновации фармацевтической науки и практики». Курск, 2011. С. 207–309.
  6. Зайчикова, С.Г. Изучение липидного и флавоноидного состава образцов некоторых видов рода чины (*Lathyrus*)./ Химико-фармацевтический журнал. 2001; 5:36–38.
  7. Государственная Фармакопея Российской Федерации XIV изд. Т. 4. «Лекарственное растительное сырье». М.: ФЭМБ.
  8. Государственная фармакопея Российской Федерации. МЗ РФ. XIII изд. Т.2. М.: ФЭМБ, 2015. 1040 с.
  9. Руководство ИСН «Валидация аналитических методик. Содержание и методология» Q2(R1). Фармация. 2008; 4:3–10.

Поступила после доработки 17 марта 2020 г.

## DEVELOPMENT OF THE METHODS OF IDENTIFICATION AND QUANTITATIVE DETERMINATION OF FLAVONOIDS IN THE HERB OF THE GROUNDNUT PEAVINE (*LATHYRUS TUBEROSUS* L.)

© Authors, 2020

### R.A.h Bubenchikov

Dr.Sc. (Pharm.), Associate Professor, Department of Pharmacognosy and Botany, Kursk State Medical University  
E-mail: bubenchikova.ksmu@yandex.ru

### O.N. Kulik

Post-graduate Student, Department of Pharmacognosy and Botany, Kursk State Medical University  
E-mail: bubenchikova.ksmu@yandex.ru

### K.R. Bubenchikova

Student, Kursk State Medical University  
E-mail: bubenchikova.ksmu@yandex.ru

**Relevance.** The article is devoted to the standardization of the raw material of the groundnut peavine to the legume family (Fabaceae). The groundnut peavine (*Lathyrus tuberosus* L.) is a perennial herbaceous plant that grows widely in the chernozem zone of Russia.

**Objective.** The aim of the work was the development of methods of identification and quantitative determination of flavonoids in the herb of groundnut peavine.

**Material and methods.** The object of study is the grass of the groundnut peavine, harvested during flowering in 2018-2019. The basis for qualitative definition of flavonoids is thin-layer chromatography, the basis of quantitative determination is spectrophotometric method.

**Results.** When conducting quality identification installed the following conditions were established: Sorbfil plates on an aluminum substrate, the volume of application of the studied extraction — 10 ml, mobile phase: e butanol-acetic acid-water (4: 1: 2), the standard substance is rutin, cinaroside; detection treatment with 5% solution of aluminum chloride. Validation of the methodology. For the quantitative determination of flavonoids, a spectrophotometric determination method was developed in terms of rutin. The optimal extraction conditions were established.

**Conclusion.** The procedure has been developed a technique for the qualitative identification and quantitative determination of flavonoids in the groundnut peavine herb. The content of flavonoids ranged from 1,88%±0,07% to 2,40±0,04%.

**Key words:** Groundnut peavine, Fabaceae, flavonoids, standardization, chromatography, spectrophotometry.

**For citation:** Bubenchikov R.A., Kulik O.N., Bubenchikova K.R. Development of the methods of identification and quantitative determination of flavonoids in the herb of the groundnut peavine (*Lathyrus tuberosus* L.). Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry. 2020;23(4):22–27. <https://doi.org/10.29296/25877313-2020-04-04>

## REFERENCES

1. Gubanov I.A., Kiseleva K.V., Novikov V.S., Tihomirov V.N. Iljustrirannyj opredelitel' rastenij Srednej Ros-sii. M.: Tovarishhestvo nauchnyh izdanij KMK, Institut tehnologicheskijh issledovanij. 2004; 2:439-447.
2. Maevskij P.F. Flora srednej polosy evropejskoj chasti Rossii. Izd. 11-e. M.: Tovarishhestvo nauchnyh izdanij KMK. 2014. S. 157-159.
3. Mahlajuk V.P. Lekarstvennye rastenija v narodnoj medicine. Saratov, 1991. 544 s.
4. Bubenchikova, V.N., Kulik O.N. Issledovanie dubil'nyh veshhestv chiny klubnenosnoj (*Lathyrustuberosus* L.) XXVI Rossijskij nacional'nyj kongress «Человек и лекарство», 2019. 101 с.
5. Бубенчикова, В.Н. Изучение тритерпеновых соединений травы тим'яна Маршалла. Всеросс. науч.-практ. конф. с междунар. участием «Традиции и инновации фармацевтической науки и практики». Курск, 2011. С. 207-309.
6. Зайчикова, С.Г. Изучение липидного и флавоноидного состава образцов некоторых видов рода чины (*Lathyrus*). Химико-фармацевтический журнал. 2001; 5:36-38.
7. Государственная Фармакопея Российской Федерации XIV изд. Т. 4. «Лекарственное растительное сырье». М.: ФЭМБ.
8. Государственная фармакопея Российской Федерации. МЗ РФ. XIII изд. Т.2. М.: ФЭМБ, 2015. 1040 с.
9. Руководство ИСН «Валидация аналитических методик. Содержание и методология» Q2(R1). Фармация. 2008; 4:3-10.