

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПОДЛИННОСТИ ГОЛУБИКИ БОЛОТНОЙ ЛИСТЬЕВ МЕТОДОМ ТОНКОСЛОЙНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

А.А. Шамилов

к.фарм.н., доцент кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов, Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО ВолгГМУ МЗ РФ (г. Пятигорск, Россия)
E-mail: shamilovxii@yandex.ru

В.Н. Бубенчикова

д.фарм.н., профессор, зав. кафедрой фармакогнозии и ботаники, ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Курск, Россия)
E-mail: bubenhikova.ksmu@yandex.ru

Е.Р. Гарсия

преподаватель кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов и кафедры неорганической, физической и коллоидной химии, Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО ВолгГМУ МЗ РФ (г. Пятигорск, Россия)
E-mail: x-pharm@mail.ru

Х.А. Ибаева

аспирант, кафедра фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов, Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО ВолгГМУ МЗ РФ (г. Пятигорск, Россия)
E-mail: ibaeva.hadizhat@mail.ru

М.В. Ларский

к.фарм.н., зав. кафедрой фармацевтической химии, Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО ВолгГМУ МЗ РФ (г. Пятигорск, Россия)
E-mail: m.v.larsky@pmedpharm.ru

Актуальность. Разработка новых и совершенствование существующих методик определения подлинности и оценки качества нового лекарственного растительного сырья (ЛРС), а также известных фармакопейных видов ЛРС подразумевают определение мажорного или маркерного соединения, по которому проводится сквозная стандартизация ЛРС и будущих лекарственных средств на его основе.

Цель исследования – разработка методики определения подлинности голубики болотной листьев методом тонкослойной хроматографии по маркерному соединению – хлорогеновой кислоте.

Материал и методы. Анализ проводили методом тонкослойной хроматографии с водно-спиртовым извлечением (экстрагент – спирт этиловый 70%-ный), полученным из воздушно-сухих листьев голубики болотной. Подобраны оптимальные условия разделения маркерного компонента – хлорогеновой кислоты, от сопутствующих соединений: смесь растворителей, детектирующий реактив, объем наносимой пробы, тип хроматографической пластинки.

Результаты. Определение основной группы биологически активных веществ методом тонкослойной хроматографии в голубике болотной листьях возможно проводить в следующих условиях: хроматографическая пластинка, в качестве сорбента – силикагель, нанесенный на алюминиевую или полимерную подложку, элюент – безводная муравьиная кислота–ледяная уксусная кислота–вода–этилацетат (7,5:7,5:18:67), детектирующий реактив – пары аммиака и алюминия хлорид спиртовой раствор 2%, оптимальный объем пробы – 7,5 мкл спиртового раствора, оптимальный объем стандартного образца хлорогеновой кислоты – 5 мкл, время насыщения камеры парами элюента – 30 мин, время элюирования – 55–60 мин, время выдерживания пластинки в сушильном шкафу после обработки алюминия хлоридом спиртовым раствором 2% – 3 мин.

Выводы. Для определения подлинности лекарственного растительного сырья – голубики болотной листья, разработана методика определения маркерного компонента – хлорогеновой кислоты, методом тонкослойной хроматографии как экспресс-метода, используемого в Государственной фармакопее Российской Федерации, а также фармакопеех других стран.

Ключевые слова: голубика болотная, листья, подлинность, хлорогеновая кислота, тонкослойная хроматография.

Для цитирования: Шамилов А.А., Бубенчикова В.Н., Гарсия Е.Р., Ибаева Х.А., Ларский М.В. Разработка методики определения подлинности голубики болотной листьев методом тонкослойной хроматографии. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2022;25(11):10–15. <https://doi.org/10.29296/25877313-2022-11-02>

Контроль качества лекарственного растительного сырья (ЛРС) включает в себя оценку подлинности используемого в производстве ЛРС с использованием простых, быстрых, воспроизводимых и точных методик. В Государственной фармакопее Российской Федерации XIV издания (ГФ РФ XIV изд.) основным методом определения подлинности ЛРС является тонкослойная хроматография (ТСХ). Для четырех объектов предложены методики на основе высокоэффективной жидкостной хроматографии и для двух объектов – газожидкостной хроматографии [1]. ТСХ является менее затратным методом по временному и по экономическому ресурсу для определения подлинности сырья. При этом контроль качества необходимо проводить по маркерному или мажорному компоненту, наличие которого в сырье подтверждает его подлинность [2]. Голубика болотная (семейство Вересковые) интересна в качестве источника биологически активных веществ (БАВ) наряду с другими фармакопейными видами вересковых [3]. Ведущей группой БАВ в листьях голубики болотной являются фенольные соединения: флавоноиды производные кверцетина, лютеолина, гидроксикоричные кислоты, в том числе коричная, хлорогеновая, кофейная; кумарины – дигидрокумарины умбеллиферон [4, 5]. Листья известны антикатарактальным, противодиабетическим, гепатопротекторным, иммуномодулирующим [6], мочегонным и актопротекторным [7] действием и могут заготавливаться наряду с плодами.

Ц е л ь и с с л е д о в а н и я – разработка методики оценки подлинности голубики болотной листьев методом тонкослойной хроматографии.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектом исследования служили образцы листьев голубики болотной *Vaccinium uliginosum* L., собранные в нескольких регионах Российской Федерации в фазу плодоношения в местах естественного произрастания. Листья сушили воздушно-теневым способом.

Пробоподготовку извлечения с максимальным содержанием фенольных соединений проводили согласно ранее разработанной методике [8].

Полученное извлечение в объеме 2,5, 5,0, 7,5 и 10 мкл наносили с помощью микрошприца Hamilton Gastight Syringe вместимостью 10 мкл (Phenomenex, США) на хроматографические пластинки марки Sorbfil (Россия) ПТСХ-П-В-УФ и ПТСХ-АФ-А-УФ размером 100×100 мм (тип сорбента: силикагель СТХ-1ВЭ и силикагель СТХ-1А;

зернение: 8–12 и 5–17 мкм; толщина слоя: 100 и 110 мкм, связующее: силиказоль; УФ индикатор: УФ-254; тип подложки: ПЭТФ и Al). Использовали растворители марки х.ч. (ЗАО «Вектон», СПб, Россия). Зоны адсорбции просматривали в видимом и УФ-свете (при обработке парами аммиака и алюминия хлоридом спиртовым раствором 2%). Использовали стандартный образец (СО) хлорогеновой кислоты (Chlorogenic acid CRS, code: Y0000569, 97.1%, Ph. Eur. Reference Standard).

Приготовление раствора СО хлорогеновой кислоты: точную навеску стандартного образца в количестве 0,02 г помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, добавляют 20 мл спирта этилового 70%-ного для полного растворения хлорогеновой кислоты. Раствор доводят до метки спиртом этиловым 70%-ным и перемешивают. Срок хранения раствора 3 мес. в плотно закупоренной посуде в прохладном, защищенном от света месте [1].

Валидационную оценку разработанной методики проводили по показателям специфичность, робастность (устойчивость), воспроизводимость [1, 11, 12].

Статистическую обработку результатов выполняли Microsoft Excel 2016.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На начальном этапе подобраны оптимальные условия разделения хлорогеновой кислоты (ХК), являющейся маркерным соединением и доминирующим в сумме фенольных соединений в извлечении из листьев голубики болотной [8], от сопутствующих соединений при испытании 10 элюирующих систем (табл. 1), выбранных согласно литературным данным [1, 9, 10].

Зоны адсорбции проявляли различными провяителями, оценивая контрастность, специфичность и доступность детектирующего реактива (табл. 2).

По ТСХ-профилю зон адсорбции, полученному на хроматограммах, оптимальное разделение хлорогеновой кислоты в извлечении из голубики болотной листьев наблюдали в системе «безводная муравьиная кислота–ледяная уксусная кислота–вода–этилацетат» (7,5:7,5:18:67) и последовательной обработке пластинки парами аммиака и алюминия хлоридом спиртовым раствором 2% (рис. 1). Пары аммиака являются специфическим реактивом для детекции фенолокислот; применение алюминия хлорида позволяет визуализировать сопутствующие фенольные соединения, такие как флавоноиды [13].

Таблица 1. Хроматографические параметры хлорогеновой кислоты в различных элюирующих системах

| № п/п | Элюент | $R_f \pm 0,02$ стандартный образец | $R_f \pm 0,02$ исследуемое извлечение |
|-------|---|---------------------------------------|--|
| 1 | Безводная муравьиная кислота–вода–этилацетат (10:10:84) | 0,50 | 0,49 |
| 2 | Безводная муравьиная кислота–вода–этилацетат (8:8:84) | 0,47 | 0,48 |
| 3 | Безводная муравьиная кислота–ледяная уксусная кислота–вода–этилацетат (11:11:27:100) | 0,64 | 0,66 |
| 4 | Безводная муравьиная кислота–ледяная уксусная кислота–вода–этилацетат (7:7:14:72) | 0,48 | 0,49 |
| 5 | Безводная муравьиная кислота–ледяная уксусная кислота–вода–этилацетат (7,5:7,5:18:67) | 0,81 | 0,80 |
| 6 | Безводная муравьиная кислота–ледяная уксусная кислота–вода–этилацетат (7:7:14:72) | 0,75 | 0,75 |
| 7 | Вода–метанол–этилацетат (8:15:77) | 0,17 | 0,19 |
| 8 | Безводная муравьиная кислота–ледяная уксусная кислота–вода–этилацетат (11:11:26:100) | 0,63 | 0,65 |
| 9 | Безводная муравьиная кислота–метанол–вода–этилацетат (2,5:4:4:50) | 0,51 | 0,51 |
| 10 | Вода–ацетонитрил–ледяная уксусная кислота (78:19:31) | Нет разделения | Нет разделения |

Таблица 2. Характеристика детектирующих реагентов для определения хлорогеновой кислоты в голубики болотной листьях методом ТСХ

| № п/п | Детектирующий реагент | Окрашивание хроматографических зон |
|-------|--|------------------------------------|
| 1 | Видимый свет | Серое окрашивание |
| 2 | УФ-свет (254) | Светло-зеленое свечение |
| 3 | Пары аммиака водного раствора 25% | Серое окрашивание |
| 4 | Пары аммиака водного раствора 25% в УФ-свете (254) | Желто-зеленое свечение |
| 5 | Алюминия хлорида спиртового раствора 2% | Не проявляет |
| 6 | Алюминия хлорида спиртового раствора 2% в УФ-свете (254) | Голубое свечение |

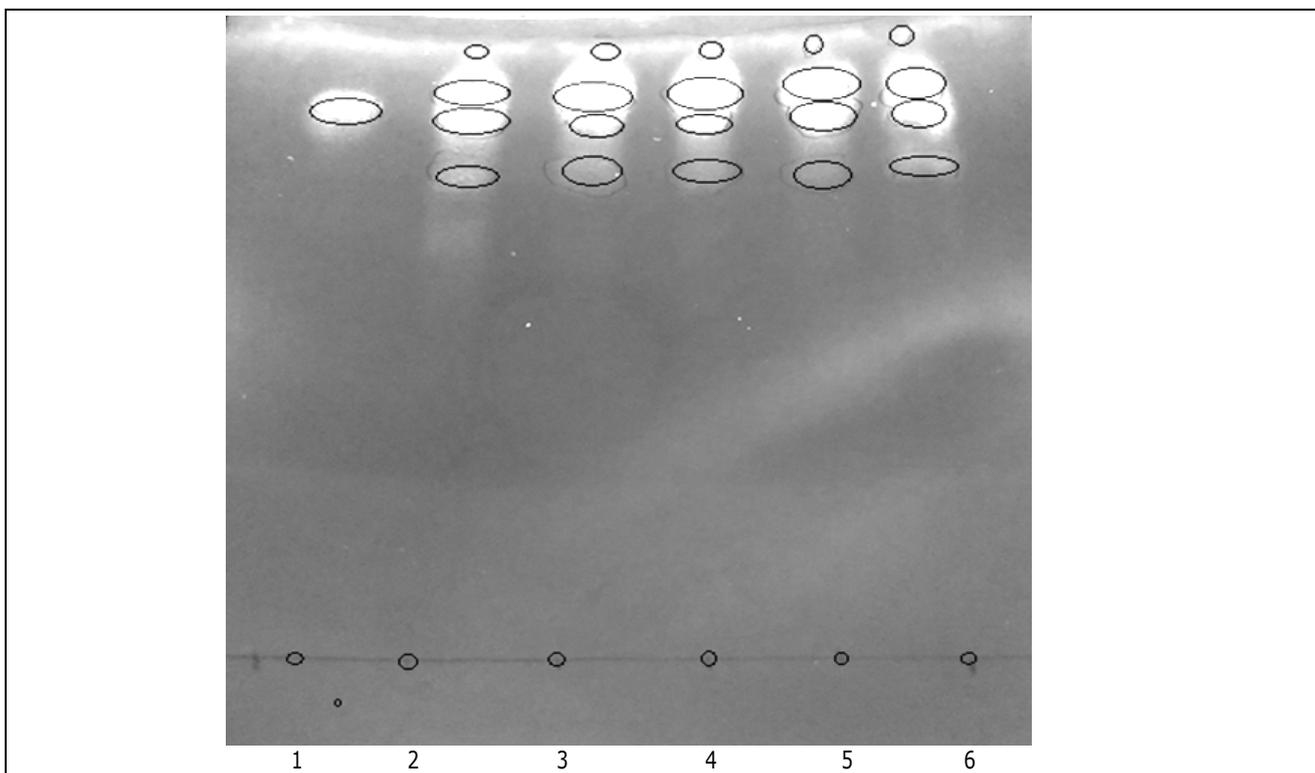


Рис. 1. Хроматограмма с извлечениями из голубики болотной листьев, собранных в разных местах естественного произрастания: 1 – стандартный образец, 2 – Куйвозовское сельское поселение (Ленинградская область), 3 – гора Иремель (Челябинская область), 4 – гора Малый Иремель (Челябинская область), 5 – деревня Шамокша (Ленинградская область), 6 – поселок Визимьяры (Республика Марий Эл)

Оптимальный объем наносимого извлечения составил 7,5 мкл, при нанесении которого наблюдается эффективное разделение хлорогеновой кислоты от сопутствующих соединений с достаточной визуализацией при детекции.

Валидационная оценка методик испытаний на подлинность согласно ГФ РФ XIV изд. включает доказательство специфичности методики [1]. Разработанные условия определения подлинности голубики болотной листьев методом ТСХ позволяют установить присутствие маркерного компонента хлорогеновой кислоты, при этом на хроматограмме наблюдается соответствие зон адсорбции в извлечении из ЛРС и зоны адсорбции СО хлорогеновой кислоты по значению фактора удерживания и окрашиванию при использовании выбранного

детектирующего агента. Параметр «робастность» установлен по влиянию времени насыщения хроматографической камеры на воспроизводимость ТСХ-профиля и эффективность разделения хлорогеновой кислоты от сопутствующих соединений (табл. 3).

Установлено, что оптимальное время насыщения хроматографической камеры не менее 30 мин, в ненасыщенной камере не наблюдается разделение суммы БАВ.

Параметр «воспроизводимость» оценивали по эффективности разделения хлорогеновой кислоты и сопутствующих фенольных соединений на двух типах хроматографических пластин: с полимерной и алюминиевой подложкой. Анализ выполнен в разные дни и разными аналитиками (табл. 4).

Таблица 3. Определение параметра «робастность» методики определения основной группы БАВ в голубике болотной листьях

| № п/п | Время насыщения хроматографической камеры, мин | R _F ±0,02 стандартный образец (n=3) | R _F ±0,02 исследуемое извлечение (n=3) |
|-------|--|--|---|
| 1 | 0 | Нет разделения | Нет разделения |
| 2 | 10 | Нет разделения | Нет разделения |
| 3 | 20 | 0,75 | 0,74 |
| 4 | 30 | 0,81 | 0,80 |
| 5 | 40 | 0,79 | 0,80 |
| 6 | 50 | 0,82 | 0,80 |
| 7 | 60 | 0,81 | 0,80 |

Таблица 4. Определение параметра «воспроизводимость» методики определения основной группы БАВ в голубике болотной листьях

| Аналитик | ПТСХ-П-В | | ПТСХ-АФ-А | |
|----------|--|---|--|---|
| | R _F ±0,02 стандартный образец (n=3) | R _F ±0,02 исследуемое извлечение (n=3) | R _F ±0,02 стандартный образец (n=3) | R _F ±0,02 исследуемое извлечение (n=3) |
| 1 | 0,81 | 0,80 | 0,79 | 0,80 |
| 2 | 0,81 | 0,79 | 0,79 | 0,81 |
| 3 | 0,80 | 0,82 | 0,80 | 0,82 |

Возможно использование сорбента – силикагеля, нанесенного на алюминиевую или полимерную подложку, с получением сходных ТСХ-профилей и значений фактора удерживания при проведении анализа в разные дни и разными аналитиками.

В результате анализа предложены следующие условия определения основной группы БАВ в голубике болотной листьях: сорбент – силикагелевые пластинки марки «Sorbfil» размером 100×100 мм с полимерной ПТСХ-П-В или алюминиевой ПТСХ-АФ-А подложками, элюент – безводная муравьиная кислота–ледяная уксусная кислота–вода–этилацетат (7,5:7,5:18:67), проявители – пары аммиака и алюминия хлорид спиртовой раствор 2%,

оптимальный объем пробы – 7,5 мкл спиртового раствора, оптимальный объем стандартного образца хлорогеновой кислоты – 5 мкл, время насыщения камеры парами элюента – 30 мин, время элюирования – 55–60 мин, время выдерживания пластинки в сушильном шкафу после обработки алюминия хлоридом спиртовым раствором 2% – 3 мин.

Для проявления хроматографических зон адсорбции хроматограмму просматривают в видимом и УФ-свете, далее обрабатывают последовательно парами аммиака и алюминия хлоридом спиртовым раствором 2%. После обработки каждым реактивом хроматограмму повторно просматривают в видимом и УФ-свете.

Наблюдается зона адсорбции с голубой флуоресценцией на уровне зоны адсорбции СО хлорогеновой кислоты. Могут наблюдаться зоны адсорбции с желтой флуоресценцией выше зоны адсорбции хлорогеновой кислоты и со светло-голубой флуоресценцией ниже зоны адсорбции хлорогеновой кислоты.

ВЫВОДЫ

Определение подлинности ЛРС устанавливается по присутствию в извлечении из данного сырья маркерного компонента. В листьях голубики болотной маркерным компонентом является хлорогеновая кислота, содержание которой составляет не менее 1,5%. Для оценки подлинности голубики болотной листьев разработана методика на основе ТСХ, которая соответствует валидационным параметрам «специфичность», «робастность» и «воспроизводимость».

ЛИТЕРАТУРА

1. Государственная фармакопея Российской Федерации: XIV издания. Т. 1, 4. <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>, свободный. Дата обращения: 09.04.2022.
2. Куркин В.А., Рязанова Т.К., Серебрякова А.Д. Разработка подходов к стандартизации коры сирени обыкновенной. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2021; 24(7): 37–44.
3. Фурса Н.С., Бузук Г.Н., Таланова А.А., Иванов А.П., Кузьмичева Н.А., Горькова А.С. Неофициальные виды семейства вересковых как перспективные акваретики и уроантисептики. Вестник фармации. 2016; 3: 59–66.
4. Охрименко Л.П., Калинин Г.И., Лукия Е.А., Коломиец Н.Э. Исследование фенольных соединений листьев голубики, брусники, толокнянки, черники и зимолубки, произрастающих в республике Саха (Якутия). Химия растительного сырья. 2009; 3: 109–115.

5. Павлова Е.Е., Березина Е.В., Мишукова И.В., Брилкина А.А. Анализ содержания фенольных соединений и аскорбиновой кислоты у различных видов голубики (*Vaccinium L.*) в периоды цветения и плодоношения. Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. 2012; 2–3: 222–229.
6. Ma L., Sun Zh., Zeng Ya., et al. Molecular mechanism and health role of functional ingredients in blueberry for chronic disease in human beings. International journal of molecular sciences. 2018; 19(9): 2785.
7. Таланов А.А. Фармакогностическое изучение голубики болотной (*Vaccinium uliginosum L.*): Автореф. дис. ... канд. фармацевт. наук. Пермь. 2013; 24 с.
8. Шамилов А.А., Бубенчикова В.Н., Гарсия Е.Р., Ибаева Х.А., Ларский М.В. Разработка и валидация методики количественного определения фенольных соединений и хлорогеновой кислоты в голубики болотной листьях. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2022; 25(2): 14–23.
9. Тринеева О.В. Разработка теоретических подходов к определению основных групп биологически активных веществ лекарственного растительного сырья методом ТСХ. Разработка и регистрация лекарственных средств. 2021; 10(2): 69–79.
10. European Pharmacopoeia. 8th ed. Strasburg: Council of Europe. 2013; 1–2: 3655 p.
11. Бубенчиков П.А., Кулик О.Н., Бубенчикова К.Р. Разработка методик идентификации и количественного определения флавоноидов в траве чины клубеносной (*Lathyrus tuberosus L.*). Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2020; 23(6): 22–27.
12. Руководство ИСН «Валидация аналитических методик. Содержание и методология» Q2(R1). Фармация. 2008; 4: 3–10.
13. Waksmundzka-Hajnos M., Sherma J., Kowalska T. Thin Layer Chromatography in Phytochemistry. London; New York: CRC Press Taylor & Francis Group, 2008; 874 p.

Поступила 13 мая 2022 г.

DEVELOPMENT OF AN IDENTIFICATION METHOD VACCINIUM ULIGINOSUM LEAVES BY THIN-LAYER CHROMATOGRAPHY

© Authors, 2022

A.A. Shamilov

Ph.D. (Pharm.), Associate Professor, Department of Pharmacognosy, Botany and Technology of Phytopreparations, Pyatigorsk Medical-Pharmaceutical Institute, Branch of Volgograd State Medical University (Pyatigorsk, Russia)
E-mail: shamilovxii@yandex.ru; ORCID iD 0000-0002-6730-9518

V.N. Bubenichikova

Dr.Sc. (Pharm.), Professor, Head of Department of Pharmacognosy and Botany, Kursk State Medical University (Kursk, Russia)
E-mail: bubenichikova.ksmu@yandex.ru; ORCID iD 0000-0001-9682-0684

E.R. Garsiya

Lecturer, Department of Pharmacognosy, Botany and Technology of Phytopreparations and Department of Inorganic, Physical and Colloidal Chemistry, Pyatigorsk Medical-Pharmaceutical Institute, Branch of Volgograd State Medical University (Pyatigorsk, Russia)

E-mail: x-pharm@mail.ru; ORCID iD 0000-0003-3217-0680

Kh. A. Ibaeva

Post-graduate Student, Department of Pharmacognosy, Botany and Technology of Phytopreparations, Pyatigorsk Medical-Pharmaceutical Institute, Branch of Volgograd State Medical University (Pyatigorsk, Russia)
E-mail: ibaeva.hadizhat@mail.ru

M.V. Larsky

Ph.D. (Pharm.), Head of Department of Pharmaceutical Chemistry, Pyatigorsk Medical-Pharmaceutical Institute, Branch of Volgograd State Medical University (Pyatigorsk, Russia)
E-mail: m.v.larsky@pmedpharm.ru; ORCID iD0000-0002-4406-7165

Relevance. Development of new methods and improvement of existing methods of identification and quality control new and pharmacopoeia plant raw material involve detection of major or marker component. End-to-end standardization of plant raw material and drugs from these plant material can be carried out on this component.

Aim. Development of qualitative control analysis of *Vaccinium uliginosum* leaves by marker component – chlorogenic acid – using thin-layer chromatography.

Material and methods. Qualitative control analysis of *V. uliginosum* leaves was carried out with water-alcohol extract (ethanol 70%) from air-dried leaves. We have selected the best conditions for separating the marker component – chlorogenic acid – from other compounds: mobile phase, detection, application, type of chromatographic plate.

Results. Determination of the main group of biologically active compounds in the *V. uliginosum* leaves by thin-layer chromatography can be carried out under the following conditions: sorbent – silica gel, polymer or aluminum plates, eluent – anhydrous formic acid-glacial acetic acid–water–ethylacetate (7.5:7.5:18:67), detector – ammonia and aluminum chloride alcohol solution 2%, injection volume 7.5 µl of water–ethanol extract, 5 µl of chlorogenic acid standard solution, time of saturation of the chamber with eluent vapors – 30 min, elution time – 55–60 min, storing time in the dish drying cabinet after treat with a aluminum chloride alcohol solution 2% 3 min.

Conclusions. We have developed qualitative control method of plant raw material – *Vaccinium uliginosum* leaves–by marker component chlorogenic acid using thin-layer chromatography.

Key words: *Vaccinium uliginosum*, leaves, qualitative control analysis, chlorogenic acid, thin-layer chromatography.

For citation: Shamilov A.A., Bubenchikova V.N., Garsiya E.R., Ibaeva Kh.A., Larsky M.V. Development of an identification method *Vaccinium uliginosum* leaves by thin-layer chromatography. Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry. 2022;25(11):10–15. <https://doi.org/10.29296/25877313-2022-11-02>

REFERENCES

- Gosudarstvennaja farmakopeja Rossijskoj Federacii: XIV izdanija. T. 1, 4. <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>, svobodnyj. Data obrashhenija: 09.04.2022.
- Kurkin V.A., Rjazanova T.K., Serebrjakova A.D. Razrabotka podhodov k standartizacii kory sireni obyknovennoj. Voprosy biologicheskoi, medicinskoj i farmacevticheskoi himii. 2021; 24(7): 37–44.
- Fursa N.S., Buzuk G.N., Talanova A.A., Ivanov A.P., Kuz'micheva N.A., Gor'kova A.S. Neoficinal'nye vidy semejstva vereskovykh kak perspektivnye akvaretiki i uroantiseptiki. Vestnik farmacii. 2016; 3: 59–66.
- Ohrimenko L.P., Kalinkina G.I., Luksha E.A., Kolomic N.Je. Issledovanie fenol'nykh soedinenij list'ev golubiki, brusniki, toloknjanki, cherniki i zimoljubki, proizrastajushchih v respublike Saha (Jakutija). Himija rastitel'nogo syr'ja. 2009; 3: 109–115.
- Pavlova E.E., Berezina E.V., Mishukova I.V., Brilkina A.A. Analiz sodержaniya fenol'nykh soedinenij i askorbinovoi kisloty u razlichnykh vidov golubiki (*Vaccinium L.*) v periody cvetenija i plodonoshenija. Vestnik Nizhegorodskogo universiteta im. N.I. Lobachevskogo. 2012; 2–3: 222–229.
- Ma L., Sun Zh., Zeng Ya., et al. Molecular mechanism and health role of functional ingredients in blueberry for chronic disease in human beings. International journal of molecular sciences. 2018; 19(9): 2785.
- Talanov A.A. Farmakognosticheskoe izuchenie golubiki bolotnoj (*Vaccinium uliginosum L.*): Avtoref. dis. ... kand. farmacevt. nauk. Perm'. 2013; 24 s.
- Shamilov A.A., Bubenchikova V.N., Garsiya E.R., Ibaeva H.A., Larskij M.V. Razrabotka i validacija metodiki kolichestvennogo opredelenija fenol'nykh soedinenij i hlorogenovoi kisloty v golubiki bolotnoj list'jah. Voprosy biologicheskoi, medicinskoj i farmacevticheskoi himii. 2022; 25(2): 14–23.
- Trineeva O.V. Razrabotka teoreticheskikh podhodov k opredeleniju osnovnykh grupp biologicheski aktivnykh veshhestv lekarstvennogo rastitel'nogo syr'ja metodom TSH. Razrabotka i registracija lekarstvennykh sredstv. 2021; 10(2): 69–79.
- European Pharmacopoeia. 8th ed. Strasbourg: Council of Europe. 2013; 1–2: 3655 p.
- Bubenchikov R.A., Kulik O.N., Bubenchikova K.R. Razrabotka metodik identifikacii i kolichestvennogo opredelenija flavonoidov v trave chiny klubnenosnoj (*Lathyrus tube-rosus L.*). Voprosy biologicheskoi, medicinskoj i farmacevticheskoi himii. 2020; 23(6): 22–27.
- Rukovodstvo ICH «Validacija analiticheskikh metodik. Soderzhanie i metodologija» Q2(R1). Farmacija. 2008; 4: 3–10.
- Waksmundzka-Hajnos M., Sherma J., Kowalska T. Thin Layer Chromatography in Phytochemistry. London; New York: CRC Press Taylor & Francis Group, 2008; 874 p.