

УДК 615.322

## РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ ЭКСПРЕСС-МЕТОДИКИ ВЫДЕЛЕНИЯ И КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВОДОРАСТВОРИМЫХ ПОЛИСАХАРИДОВ ЛИСТЬЕВ ЛОПУХА БОЛЬШОГО (*ARCTIUM LAPPA* L.)

© Н.А. Дьякова

Воронежский государственный университет, Университетская площадь, 1,  
Воронеж, 394006 (Россия), e-mail: office@main.vsu.ru

Целью исследования являлась разработка экспрессной методики выделения и количественного определения водорастворимых полисахаридов в листьях лопуха большого (*Arctium lappa* L.). Для ускорения процесса извлечения биологически активных веществ из листьев лопуха большого, а также увеличения выхода водорастворимых полисахаридов, решено было использовать ультразвуковую ванну. Варьируя показателями процесса, удалось подобрать условия экстрагирования, при которых процесс извлечения и количественного определения водорастворимых полисахаридов из листьев лопуха большого сводится к 1,5 ч, а именно: измельченность сырья 0.5–1.0 мм, температура – 80 °С, кратность извлечения – 3, длительность экстракций – 15 мин, частота ультразвука – 35 кГц, соотношение сырья и экстрагента – 1 г на 15 мл. Разработанная методика валидирована по показателям повторяемости, правильности, устойчивости и линейности, в результате чего доказано, что она прецизионна в условиях повторяемости, правильна, устойчива и обладает достаточно жесткой линейной зависимостью массы осадка от массы анализируемого сырья при гравиметрическом определении водорастворимых полисахаридов в листьях лопуха большого. Методика может быть использована для экспрессного анализа качества листьев лопуха большого, а также при промышленном получении инулина из данного вида сырья.

*Ключевые слова:* водорастворимые полисахариды, листья лопуха большого, *Arctium lappa* L.

### Введение

Растущий с каждым годом интерес к фитотерапии, объясняемый преимущественно относительной безвредностью и эффективностью лекарственных средств на основе растительного сырья, стимулирует расширение и обновление ассортимента за счет внедрения в научную медицину растений народной медицины [1]. В последние годы наблюдается сокращение запасов, а зачастую и уничтожение многих ценных видов растений в связи с варварским отношением к сырьевому потенциалу нашей страны [2]. Обращают на себя внимание повсеместно произрастающие сорные растения, к числу которых относят лопух большой.

Лопух большой (*Arctium lappa* (L.) Briq. (syn.: *Arctium edule* Beger, *Arctium majus* Bernh., *Lappa edulis* Siebold ex Miq., *Lappa major* Gaertn., *Lappa officinalis* All., *Lappa vulgaris* Hill)) – двухлетнее травянистое растение семейства сложноцветных (*Asteraceae*) [3, 4]. В традиционной медицине широко используются корни лопуха в качестве мочегонного, противовоспалительного средства [5]. При этом в народной медицине применяются и листья лопуха как противовоспалительное, противоопухолевое, наружно-регенерирующее средство [6].

Листья лопуха большого содержат ценный комплекс биологически активных соединений. Согласно данным литературы, в листьях лопуха большого содержатся флавоноиды (до 1.4%), дубильные вещества (до 8.4%), полисахариды (до 6.01%), органические кислоты (до 0.038%) [7–9]. Надземная часть растения имеет большую биологическую массу, соотношение веса листьев к весу корней составляет 2.5 : 1. Опыт народной медицины показал целесообразность применения листьев лопуха большого в виде сока и водных извлечений [10, 11]. В данных лекарственных формах значительна доля водорастворимых полисахаридов (ВРПС), представленных инулином.

Дьякова Нина Алексеевна – ассистент кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии, e-mail: Ninochka\_V89@mail.ru

Инулин в последнее время приобретает все большую популярность в медицинском и фармацевтическом мире. Инулин, являясь сорбентом, выво-

дит из организма массу ненужных организму веществ – от тяжелых металлов, радионуклидов до излишков липопротеинов низкой плотности. Кроме того, способствует развитию бактерий рода *Bifidobacterium*, содержащихся в микрофлоре кишечника, содействуя, таким образом, нормальному функционированию желудочно-кишечного тракта. Инулин стимулирует сократительную способность кишечной стенки, таким образом активизируя перистальтику кишечника. Кроме того, инулин оказывает иммуномодулирующее, гепатопротекторное, противоонкологическое действие [12, 13].

Попытки установления оптимальных условий экстракции листьев лопуха большого уже были предприняты Л.М. Федосеевой с соавторами. Однако в качестве параметра оптимизации служило истощение листьев лопуха большого по содержанию веществ, экстрагируемых водой [14]. Данный показатель в условиях современного развития фитохимии не является объективным.

Целью настоящего исследования являлась доработка методики выделения ВРПС из листьев лопуха большого с целью увеличения выхода ВРПС и сокращения длительности процесса их извлечения, а также разработка методики количественного определения ВРПС в сырье с ее последующей валидацией.

Одним из перспективных физических методов воздействия на вещества с целью интенсификации технологических процессов является метод, основанный на использовании механических колебаний ультразвукового диапазона. Установлено, например, что ультразвуком частотой 19–44 кГц можно извлекать флавоноиды, дубильные вещества, фенольные гликозиды, кумарины, антоцианы из растений с сокращением процесса экстракции на 1–2 порядка [15]. При этом имеет место не только значительное ускорение процесса извлечения из растений полезных веществ, но и увеличение по сравнению с другими методами экстрагирования выхода основного продукта [16–18].

### *Экспериментальная часть*

Для интенсификации процесса извлечения ВРПС применяли ультразвуковую ванну «Град 40-35», взвешивание проводили на аналитических весах «A&D GH-202», высушивание до постоянной массы – в сушильном шкафу «Витязь ГП-40». В качестве экстрагента использовали воду очищенную, остальные параметры процесса подбирались экспериментально.

При разработке методики использовали листья лопуха большого, собранные в период цветения в экологически чистом месте произрастания в Воронежской области, варьировали измельченностью сырья, температурным режимом экстрагирования, кратностью и длительностью экстрагирования, соотношением сырья и экстрагента, а также частотой ультразвука. Все определения проводили в трех повторностях.

Для того чтобы предлагаемая методика заняла заслуженное место в системе обеспечения качества лекарственных средств, гарантируя достоверные и точные результаты анализа, проведена процедура ее валидации по прецизионности (повторяемости), правильности (точности), устойчивости и линейности.

### *Обсуждение результатов*

Результаты эксперимента приведены в таблицах 1–3.

Таким образом, подобраны оптимальные условия экстрагирования ВРПС из листьев лопуха большого: измельченность сырья 0.5–1.0 мм, температура – 80 °С, кратность извлечения – 3, длительность экстракций – 15 мин, частота ультразвука – 35 кГц, соотношение сырья и экстрагента 1 г на 15 мл. Дальнейшее увеличение времени, кратности экстракции в условиях ультразвуковой ванны приводит, очевидно, к деструкции водорастворимых полисахаридов. Использование ультразвука с частотой выше 40 кГц также приводит к деструкции биологически активных веществ и в технологии фитопрепаратов не применяется [15].

Комплекс проведенных экспериментальных работ дает возможность предложить следующую методику выделения и последующего количественного гравиметрического определения ВРПС в листьях лопуха большого. Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц 0.5–1.0 мм. Около 1 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 15 мл воды очищенной, нагретой до температуры кипения, помещают в ультразвуковую ванну с частотой 35 кГц при температуре 80 °С, экстрагируют 15 мин. Экстракцию повторяют еще 2 раза, прибавляя по 15 мл воды. Водные извлечения объединяют и фильтруют в мерную колбу вместимостью 100 мл через 3 слоя марли с подложенным тампоном ваты, вложенных в стеклянную воронку диаметром 5 см и предварительно промытой водой очищенной. Фильтр промывают водой и доводят объем раствора до метки (раствор А). 25 мл рас-

твора А помещают в коническую колбу на 100 мл, прибавляют 75 мл 95% этилового спирта, перемешивают, охлаждают в морозильной камере при температуре  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  в течение 30 мин. Затем содержимое колбы фильтруют через предварительно высушенный и взвешенный беззольный бумажный фильтр, проложенный в стеклянный фильтр ПОР 16 с диаметром 40 мм, под вакуумом при остаточном давлении 0.4–0.8 атм. Осадок на фильтре последовательно промывают 15 мл раствора 95% этилового спирта в воде очищенной (3 : 1), 10 мл смеси этилацетата и 95% этилового спирта (1 : 1). Фильтр с осадком высушивают сначала на воздухе, затем при температуре 100–105  $^{\circ}\text{C}$  до постоянной массы.

Таблица 1. Результаты количественного определения ВРПС (% в пересчете на абсолютно сухое сырье) в листьях лопуха большого при варьировании измельченностью сырья и температурой ультразвуковой ванны (при трехкратной экстракции по 15 мин с частотой ультразвука 35 кГц, соотношении сырья и экстрагента 1 г на 15 мл)

Температура ультразвуковой бани, $^{\circ}\text{C}$	Измельченность сырья, мм		
	0.2–0.5	0.5–1.0	1.0–2.0
60	7.50±0.56	8.05±0.45	7.17±0.43
70	8.58±0.44	9.48±0.35	9.22±0.45
80	10.65±0.58	11.63±0.36	10.77±0.45

Таблица 2. Результаты количественного определения ВРПС (% в пересчете на абсолютно сухое сырье) в листьях лопуха большого при варьировании кратностью и длительностью экстрагирования (при измельченности сырья 0.5–1.0 мм, температуре ультразвуковой ванны 80  $^{\circ}\text{C}$  с частотой ультразвука 35 кГц, соотношении сырья и экстрагента 1 г на 15 мл)

Длительность экстракции, мин	Кратность экстракции			
	1	2	3	4
10	4.82±0.46	8.26±0.51	10.38±0.52	10.76±0.41
15	5.52±0.39	9.60±0.31	11.63±0.36	9.70±0.37
20	5.70±0.45	8.87±0.37	9.59±0.73	7.49±0.40
30	6.45±0.34	8.48±0.52	7.12±0.29	6.31±0.31

Таблица 3. Результаты количественных определений ВРПС (% в пересчете на абсолютно сухое сырье) в листьях лопуха большого при варьировании соотношением сырья и экстрагента и частотой ультразвука (при трехкратной экстракции по 15 мин, измельченности сырья 0.5–1.0 мм, температуре ультразвуковой ванны 80  $^{\circ}\text{C}$ )

Соотношение сырья и экстрагента (г : мл)	Частота ультразвука, кГц		
	15	25	35
1 : 5	3.23±0.24	3.95±0.25	4.68±0.41
1 : 10	5.62±0.21	6.93±0.31	7.43±0.37
1 : 15	8.56±0.32	9.61±0.47	11.63±0.36
1 : 20	6.01±0.41	7.59±0.23	8.17±0.52

Содержание ВРПС в пересчете на абсолютно сухое сырье вычисляют по стандартной формуле:

$$X = \frac{(m_2 - m_1) \cdot 40000}{m \cdot (100 - W)},$$

где  $m_1$  – масса высушенного фильтра, г;  $m_2$  – масса высушенного фильтра с осадком, г;  $m$  – навеска сырья, г;  $W$  – потеря в массе сырья при высушивании, %.

Предлагаемый способ позволяет интенсифицировать процесс получения ВРПС и снизить время, расходуемое на него до 1.5 ч, а также увеличить выход продукта до 11.63% в пересчете на а.с.с.

Метрологические характеристики приведены в таблице 4 (где  $N$  – число повторностей,  $f$  – число степеней свободы,  $\bar{X}$  – среднее значение определяемой величины,  $S^2$  – дисперсия,  $S$  – стандартное отклонение,  $S_x$  – стандартное отклонение средней величины,  $P$  – доверительная вероятность,  $t(P, f)$  – критерий Стьюдента,  $\Delta x$  – полуширина доверительного интервала величины,  $\varepsilon$  – относительная ошибка среднего результата). Таким образом, относительная ошибка предлагаемой методики при доверительной вероятности 95% составляет 3.11%.

Повторяемость методики определяли в условиях, при которых 6 независимых результатов измерений были получены одним методом в одной лаборатории одним исследователем в пределах короткого промежутка времени (табл. 5) [19].

Статистическая обработка полученных результатов показала, что они достоверны при доверительной вероятности 95%, вычисленное значение величины относительного стандартного отклонения – 0.55% не превышает критериев приемлемости – 2% [20], что свидетельствует о прецизионности методики в условиях повторяемости.

При валидации методики на правильность (точность) (табл. 6) подготавливались модели для анализа, разводя соответствующим инертным разбавителем и получая, таким образом, смеси с 3 уровнями концентрации. В качестве инертного разбавителя использовался тальк. Для каждой из проб проведено 3 параллельных определения [19].

Как следует из представленных в таблице 6 результатов, на всех трех уровнях концентраций анализируемых образцов получают сопоставимые результаты, а относительное стандартное отклонение не превышает 2.5%, что соответствует оптимальной величине RSD и позволяет считать методику правильной [19, 20].

Устойчивость методики изучали по степени воспроизводимости результатов измерений, полученных при анализе одинаковых образцов при разных минимальных изменениях условий выполнения методики. Рассматривали стабильность приготовленных проб и степень влияния условий. Нами было получены извлечения из анализируемого сырья по валидируемой методике, которые в последующем хранились при комнатной температуре и в холодильнике. Гравиметрическое определение ВРПС проводилось сразу после экстрагирования, через 24 ч и через 72 ч [19, 20]. Критерий приемлемости по данному показателю (относительное стандартное отклонение не более 1%) не превышен, что позволяет считать методику устойчивой (табл. 7).

При валидации методики на линейность проводились 9 определений в диапазоне от 50 до 130% номинальной концентрации. Каждое определение выполнялось 1 раз. Расчеты велись с помощью «Excel 2007». Результаты приведены в таблице 8 и на рисунке.

Таблица 4. Метрологические характеристики методики количественного определения ВРПС в листьях лопуха большого

N	f	X	S <sup>2</sup>	S	S <sub>x</sub>	P, %	t <sub>(P,f)</sub>	Δx	ε, %
10	9	11.63	0.02552	0.15975	0.05052	95	2.2622	0.36	3.11

Таблица 5. Результаты оценки повторяемости методики

Номер анализа		1	2	3	4	5	6		
Содержание ВРПС, %		11.53	11.57	11.49	11.68	11.58	11.50		
Метрологические характеристики									
n	f	x	S	S <sub>x</sub>	RSD, %	P, %	t <sub>(P,f)</sub>	Δx	ε, %
6	5	11.56	0.0636	0.0260	0.55	95	2.570	0.16	1.41

Таблица 6. Результаты оценки правильности методики

Номер анализа	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Содержание сырья в пробе	1 : 1	1 : 1	1 : 1	1 : 2	1 : 2	1 : 2	1 : 4	1 : 4	1 : 4
Найдено ВРПС, %	11.43	11.60	11.50	11.74	11.85	11.40	11.83	11.78	11.95
Рассчитано ВРПС, %	11.63								
Открываемость (R), %	98.28	99.74	98.88	100.95	101.89	98.02	101.72	101.29	102.75
Метрологические характеристики	R <sub>cp</sub> =100.39; SD=1.61; RSD=1.61%								

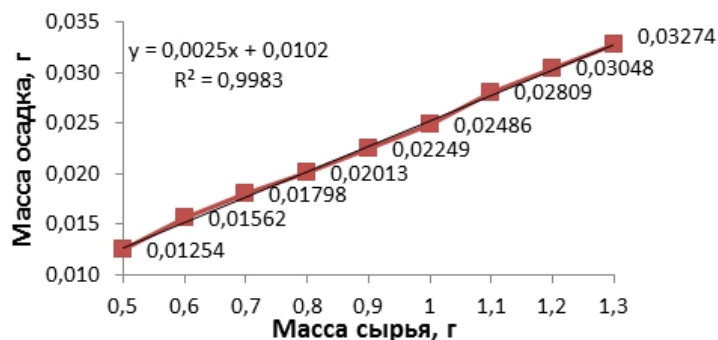
Таблица 7. Результаты оценки устойчивости методики

Номер анализа	1	2	3	4	5	6			
Образец	Хранение в холодильнике			Хранение при комнатной температуре					
	после экстрагирования	через 24 ч	через 72 ч	после экстрагирования	через 24 ч	через 72 ч			
Содержание ВРПС, %	11.67	11.58	11.50	11.64	11.52	11.70			
Метрологические характеристики									
n	f	x	S	S <sub>x</sub>	RSD, %	P, %	t <sub>(P,f)</sub>	Δx	ε, %
6	5	11.60	0.0745	0.0304	0.64	95	2.570	0.19	1.65

Таблица 8. Критерии оценки  
линейности методики

$R^2$	y-intercept	slope
0,9983	0,0025	0,0102

Показатель y-intercept (0.0025) является отражением чувствительности методики, Slope (0,0102) – соответствует значению холостого опыта.  $R^2$  – составил 0.9983, что не менее 0.99, что позволяет утверждать о наличии линейной зависимости массы осадка от массы сырья при гравиметрическом определении ВРПС в листьях лопуха большого [19].



Зависимость массы осадка от массы листьев лопуха большого при гравиметрическом определении ВРПС

### Выводы

Разработана и валидирована по основным параметрам методика экспрессного анализа качества листьев лопуха большого, которая также может быть использована при промышленном получении ВРПС из данного вида сырья. Оптимальные условия экстрагирования, при которых процесс извлечения и количественного определения ВРПС из листьев лопуха большого сводится к 1.5 ч: измельченность сырья 0.2–0.5 мм, температура – 80 °С, кратность извлечения – 3, длительность экстракций – 40 мин, частота ультразвука – 35 кГц, соотношение сырья и экстрагента – 1 г на 10 мл. Разработанная методика прецизионна в условиях повторяемости, правильна, устойчива и обладает достаточно жесткой линейной зависимостью массы осадка от массы анализируемого сырья при гравиметрическом определении водорастворимых полисахаридов в листьях лопуха большого.

### Список литературы

- Тринеева О.В., Сливкин А.И. Определение суммы полисахаридов и простых сахаров в листьях крапивы двудомной // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. 2017. №1. С. 164–169
- Великанова Н.А., Гапонов С.П., Сливкин А.И. Экооценка лекарственного растительного сырья в урбоусловиях г. Воронежа. LAMBERT Academic Publishing, 2013. 211 с.
- Юзепчук С.В., Сергиевская Е.В. Лопух – *Arctium* // Флора СССР Ботанический институт имени В.Л. Комарова Академии наук СССР. М.; Л., 1962. Т. XXVII. С. 97.
- Ботанико-фармакогностический словарь: справочное пособие / под ред. К.Ф. Блиновой, Г.П. Яковлева. М., 1990. 206 с.
- Ковалев О.А., Федосеева Л.М., Биндюк М.А. Изучение антимикробной и противовоспалительной активности средства для лечения заболеваний слизистой оболочки полости рта // Институт стоматологии. 2009. Т. 4. №45. С. 74–75.
- Куркин В.А. Фармакогнозия. Самара, 2004. 1180 с.
- Савина А.А. и др. Сесквитерпеновые лактоны сока из листьев лопуха большого // Химико-фармацевтический журнал. 2006. Т. 40. №11. С. 43–45.
- Ясеняевская А.Л. и др. Определение качественного состава биологически активных веществ в листьях лопуха большого (*Arctium lappa* L.) // Фармацевтические науки: от теории к практике: заочная научно-практическая конференция с международным участием. Астрахань, 2016. С. 163–165.
- Богачева Н.Г., Коняева Е.А., Алентьева О.Г. Стандартизация лекарственного сырья листьев лопуха большого // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2015. №7. С. 30–33.
- Кнауб Н.Н. Фитохимическое исследование и перспективы использования листьев лопуха большого, произрастающего в Алтайском крае, в качестве лекарственного сырья: автореф. дис. ... канд. фарм. наук. Пермь, 2006. 23 с.
- Федосеева Л.М., Кнауб Н.Н., Селигеева Т.Г. Гистохимический анализ листьев и корней лопуха большого (*Arctium lappa* L.), произрастающего на территории Алтайского края // Химия растительного сырья. 2004. №1. С. 61–64.
- Дьякова Н.А. и др. Изучение динамики изменения содержания инулина в корнях лопуха большого (*Arctium lappa* L.) и одуванчика лекарственного (*Taraxacum officinale* Webb.) в процессе вегетации // Вестник ВГУ. Серия: Химия, Биология, Фармация. 2016. №4. С. 133–136.

13. Шушунова Т.Г. и др. Выделение инулина из корней одуванчика лекарственного с использованием ультразвука // Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Создание новых физиологически активных веществ: материалы 6-й Международной научно-методической конференции «Фармобразование-2016». Воронеж: ИПЦ ВГУ, 2016. С. 609–612.
14. Федосеева Л.М., Биндюк М.А. Установление технологических параметров листьев лопуха большого // Химия растительного сырья. 2008. №1. С. 149–150.
15. Молчанов Г.И., Молчанов А.А., Кубалова Л.М. Фармацевтические технологии: современные электрофизические биотехнологии в фармации. Москва, 2011. 307 с.
16. Дьякова Н.А. и др. Разработка методики количественного определения водорастворимых полисахаридов и ее валидация // Современная фармация: проблемы и перспективы развития материалы V межрегиональной научно-практической конференции с международным участием. Владикавказ, 2015. С. 45–48.
17. Дьякова Н.А. и др. Рационализированная методика количественного определения водорастворимых полисахаридов и ее валидация // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. 2015. №2. С. 106–111.
18. Дьякова Н.А. и др. Разработка и валидация экспрессной методики количественного определения водорастворимых полисахаридов в корнях лопуха обыкновенного (*Arctium lappa* L.) // Химико-фармацевтический журнал. 2015. Т. 49. №9. С. 35–38.
19. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII изд-е. М., 2015. Т. 1. 1470 с.
20. Гаврилин М.В., Сенченко С.П. Валидация аналитических методик (методические указания для аспирантов и студентов). Пятигорск, 2008. 37 с.

Поступило в редакцию 2 марта 2018 г.

После переработки 22 июня 2018 г.

Принята к публикации 24 июня 2018 г.

**Для цитирования:** Дьякова Н.А. Разработка и валидация экспресс-методики выделения и количественного определения водорастворимых полисахаридов листьев лопуха большого (*Arctium lappa* L.) // Химия растительного сырья. 2018. №4. С. 81–87. DOI: 10.14258/jcprm.2018042195.

*Dyakova N.A.* DEVELOPMENT AND VALIDATION OF THE EXPRESS TECHNIQUE OF ALLOCATION AND QUANTITATIVE DEFINITION OF WATER-SOLUBLE POLYSACCHARIDES OF LEAVES OF *ARCTIUM LAPPA* L.

*Voronezh State University, Universitetskaya Square, 1, Voronezh, 394006 (Russia), e-mail: office@main.vsu.ru*

Research objective was development of an express technique of allocation and quantitative definition of water-soluble polysaccharides in leaves of a *Arctium lappa* L. For acceleration of process of extraction of biologically active agents of leaves of a *Arctium lappa* and also augmentations of an exit of water-soluble polysaccharides, it was decided to use an ultrasonic bathtub. Varying process indicators, it was succeeded to pick up extraction conditions under which process of extraction and quantitative definition of water-soluble polysaccharides of leaves of a *Arctium lappa* comes down to 1.5 h, namely: an izmelchenost of raw materials of 0.5–1.0 mm, temperature – 80 °C, frequency rate of extraction – 3, duration of extractions – 15 min, ultrasound frequency – 35 kHz, a ratio of raw materials and the ekstragent of 1 g for 15 ml. The developed technique of a validirovan on indicators of repeatability, correctness, fastness and linearity therefore it is proved that it is a pretzionna in the conditions of repeatability, is correct, steady and has rather rigid linear dependence of mass of a deposit on mass of the analyzed raw materials at gravimetric definition of water-soluble polysaccharides in leaves of a *Arctium lappa*. The technique can be used for the express analysis of quality of leaves of a *Arctium lappa* and also at industrial receiving an inulin from this type of raw materials.

*Keywords:* polysaccharides water-soluble, leaves of *Arctium lappa*.

## References

1. Trineeva O.V., Slivkin A.I. *Vestnik Voronezhskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Khimiia. Biologiia. Farmatsiia*, 2017, no. 1, pp. 164–169. (in Russ.).
2. Velikanova N.A., Gaponov S.P., Slivkin A.I. *Ekootsenka lekarstvennogo rastitel'nogo syr'ia v urbousloviakh g. Voronezha*. [Eco-assessment of medicinal plants in the urban environment of Voronezh]. LAMBERT Academic Publishing, 2013, 211 p. (in Russ.).
3. Iuzepchuk S.V., Sergievskaja E.V. *Flora SSSR Botanicheskii institut imeni V.L. Komarova Akademii nauk SSSR*. [Flora of the USSR Botanical Institute named after V.L. Komarov Academy of Sciences of the USSR]. Moscow, Leningrad, 1962, vol. XXVII, p. 97. (in Russ.).
4. *Botaniko-farmakognosticheski slovar': spravocnoe posobie* [Botanico-pharmacognostic dictionary: reference book], ed. K.F. Blinova, G.P. Iakovlev. Moscow, 1990, 206 p. (in Russ.).
5. Kovalev O.A., Fedoseeva L.M., Bindiuk M.A. *Institut stomatologii*, 2009, vol. 4, no. 45, pp. 74–75. (in Russ.).
6. Kurkin V.A. *Farmakognozia*. [Pharmacognosy]. Samara, 2004, 1180 p. (in Russ.).
7. Savina A.A. i dr. *Khimiko-farmatsevticheski zhurnal*, 2006, vol. 40, no. 11, pp. 43–45. (in Russ.).
8. Iaseniavskaja A.L. i dr. *Farmatsevticheskie nauki: ot teorii k praktike: zaochnaia nauchno-prakticheskaia konferentsiia s mezhdunarodnym uchastiem*. [Pharmaceutical Sciences: from theory to practice: extramural scientific-practical conference with international participation]. Astrakhan', 2016, pp. 163–165. (in Russ.).
9. Bogacheva N.G., Koniaeva E.A., Alent'eva O.G. *Voprosy biologicheskoi, meditsinskoi i farmatsevticheskoi khimii*, 2015, no. 7, pp. 30–33. (in Russ.).
10. Knaub N.N. *Fitokhimicheskoe issledovanie i perspektivy ispol'zovaniia list'ev lopukha bol'shogo, proizrastaiushchego v Altaiskom krae, v kachestve lekarstvennogo syr'ia: avtoref. dis. ... kand. farm. nauk*. [Phytochemical study and prospects for the use of burdock leaves, growing in the Altai Territory, as a medicinal raw material: author. dis. ... Candidate of Pharmaceutical Sciences]. Perm', 2006, 23 p. (in Russ.).
11. Fedoseeva L.M., Knaub N.N., Seligeeva T.G. *Khimiia rastitel'nogo syr'ia*, 2004, no. 1, pp. 61–64. (in Russ.).
12. D'iakova N.A. i dr. *Vestnik VGU. Seriya: Khimiia, Biologiia, Farmatsiia*, 2016, no. 4, pp. 133–136. (in Russ.).
13. Shushunova T.G. i dr. *Puti i formy sovershenstvovaniia farmatsevticheskogo obrazovaniia. Sozdanie novykh fiziologicheski aktivnykh veshchestv: materialy 6-i Mezhdunarodnoi nauchno-metodicheskoi konferentsii «Farmobrazovanie-2016»*. [Ways and forms of improving pharmaceutical education. Creation of new physiologically active substances: materials of the 6th International Scientific and Methodological Conference "Pharmaceutical Education-2016"]. Voronezh, 2016, pp. 609–612. (in Russ.).
14. Fedoseeva L.M., Bindiuk M.A. *Khimiia rastitel'nogo syr'ia*, 2008, no. 1, pp. 149–150. (in Russ.).
15. Molchanov G.I., Molchanov A.A., Kubalova L.M. *Farmatsevticheskie tekhnologii: sovremennye elektrofiziicheskie biotekhnologii v farmatsii*. [Pharmaceutical technologies: modern electrophysical biotechnology in pharmacy]. Moskva, 2011, 307 p. (in Russ.).
16. D'iakova N.A. i dr. *Sovremennaia farmatsiia: problemy i perspektivy razvitiia materialy V mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem*. [Modern Pharmacy: Problems and Development Prospects Materials of the V Interregional Scientific and Practical Conference with International Participation]. Vladikavkaz, 2015, pp. 45–48. (in Russ.).
17. D'iakova N.A. i dr. *Vestnik Voronezhskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Khimiia. Biologiia. Farmatsiia*, 2015, no. 2, pp. 106–111. (in Russ.).
18. D'iakova N.A. i dr. *Khimiko-farmatsevticheski zhurnal*, 2015, vol. 49, no. 9, pp. 35–38. (in Russ.).
19. *Gosudarstvennaia farmakopeia Rossiiskoi Federatsii. XIII izdanie*. [State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIII edition]. Moscow, 2015, vol. 1, 1470 p. (in Russ.).
20. Gavrilin M.V., Senchenko S.P. *Validatsiia analiticheskikh metodik (metodicheskie ukazaniia dlia aspirantov i studentov)*. [Validation of analytical methods (guidelines for graduate students and students)]. Piatigorsk, 2008, 37 p. (in Russ.).

Received March 2, 2018

Revised June 22, 2018

Accepted June 24, 2018

**For citing:** Dyakova N.A. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2018, no. 4, pp. 81–87. (in Russ.).  
DOI: 10.14258/jcprm.2018042195.

