

РАЗРАБОТКА ПОДХОДОВ К СТАНДАРТИЗАЦИИ ПУСТЫРНИКА УМЕНЬШЕННОГО (*LEONURUS DEMINUTUS* V. KREZC.) ТРАВЫ

Я.В. Соколова

аспирант, кафедра фармакогнозии и фармацевтической технологии,
Иркутский государственный медицинский университет (г. Иркутск, Россия)
E-mail: sokolovayana@mail.ru

В.М. Минович

д.фарм.н., профессор, зав. кафедрой фармакогнозии и фармацевтической технологии,
Иркутский государственный медицинский университет (г. Иркутск, Россия)
E-mail: mirko02@yandex.ru

Актуальность. Представители рода *Leonurus* являются источниками важных биологически активных соединений, в том числе фенольных. Во флоре Центральной Сибири распространено растение, используемое в народной медицине, – пустырник уменьшенный (*Leonurus deminutus* V. Krecz.). Для внедрения лекарственного растения в медицинскую практику требуется стандартизация его лекарственного растительного сырья (ЛРС).

Цель работы – разработка методики количественного содержания суммы флавоноидов в надземной части *L. deminutus* и валидационная оценка разработанной методики.

Материал и методы. Объектом исследования являлись образцы надземных органов *L. deminutus*, собранные в период цветения в 2021 г. на территории Иркутской области (окрестности п. Усть-Ордынский). Количественное определение суммы флавоноидов выполняли методом дифференциальной спектрофотометрии, подбирали оптимальные условия экстракции, способствующие максимальному выходу флавоноидов. Валидацию проводили согласно требованиям ОФС.1.1.0012.15 Государственной фармакопеи XIV издания.

Результаты. Определены оптимальные условия экстракции для количественного определения флавоноидов в *L. deminutus* траве: экстрагент – спирт этиловый 70%-ный, степень измельченности сырья – 1 мм, соотношение «сырье : экстрагент» – 1:100, время экстракции – 60 мин. При анализе спектров извлечения были установлены аналитическая волна – 400 ± 2 нм и стандартное вещество – цинарозид. Относительная погрешность методики составила $\pm 2,98\%$.

Выводы. Разработана методика количественного определения суммарного содержания флавоноидов в надземной части *L. deminutus*, проведена положительная валидационная оценка разработанной методики. Валидируемая методика отвечает всем критериям приемлемости и может быть рекомендована для включения в нормативную документацию на данное ЛРС.

Ключевые слова: *Leonurus deminutus* V. Krecz., флавоноиды, цинарозид, валидация, УФ-спектрофотометрия.

Для цитирования: Соколова Я.В., Минович В.М. Разработка подходов к стандартизации пустырника уменьшенного (*Leonurus deminutus* V. Krecz.) травы. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2022;25(8):24–30. <https://doi.org/10.29296/25877313-2022-08-03>

Представителем флоры Центральной Сибири является пустырник уменьшенный (*Leonurus deminutus* V. Krecz.) – многолетнее (двулетнее) травянистое растение семейства Lamiaceae Mart., произрастает на степных и щебнистых склонах, вдоль обрывов и дорог, на сорных местах [1, 2]. Известно применение *L. deminutus* в народной медицине в виде настоек и настоев с выраженным седативным и умеренным гипотензивным эффектами при нарушениях сна, одышке, вегетососудистой дистонии [3].

Согласно исследованиям, род *Leonurus* является потенциальным источником фенольных соединений, в том числе, флавоноидов, фенилпропаноидов и фенолкарбоновых кислот [4–6]. Авторами [4] установлено содержание суммы флавоноидов в траве

L. deminutus равное $2,84 \pm 0,08$ мг/г, что сопоставимо с количественным содержанием флавоноидов в фармакопейном виде *Leonurus cardiaca* L. В надземных органах *L. deminutus* содержатся иридоиды, дубильные вещества, алкалоиды, сапонины, флавоноиды (рутин, кверцетин, цинарозид) [7].

Разработка аналитической методики является важным этапом стандартизации сырья и требует подходящих методов для обнаружения и количественного определения действующих веществ. Для установления содержания флавоноидов в растительном материале можно использовать спектрофотометрический метод, отвечающий следующим условиям: простота работы, быстрый анализ, эффективность, доступность приборов и реак-

тивов, а также относительная устойчивость метода [8]. В связи с этим важным является вопрос адаптации спектрофотометрии для нового перспективного лекарственного растительного сырья (ЛРС) – *L. deminutus* и проведения процедуры валидации для оценки надежности полученных результатов.

Цель исследования – разработка методики количественного определения суммы флавоноидов в траве *L. deminutus* и подтверждение результатов путем валидационной экспертизы.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования заготавливали образцы надземных органов *L. deminutus* в июне 2021 г. на территории Центральной Сибири (окрестности п. Усть-Ордынский). Специфичность вида была подтверждена заведующей отделом биоразнообразия и биологических ресурсов Сибирского института физиологии и биохимии растений СО РАН, к.б.н. А.В. Верхожиной.

Для анализа высушенное сырье измельчали (размер частиц 0,5–5,0 мм), экстрагент готовили в диапазоне концентраций от 30 до 90% в соответствии с требованиями Государственной фармакопеи (ГФ) XIV издания [9]. Суммарное содержание флавоноидов в исследуемом сырье определяли на приборе «СФ 2000». В процессе эксперимента были подобраны оптимальные параметры экстракции, способствующие выходу максимального количества флавоноидов из надземных органов *L. deminutus*. В качестве стандартного образца (СО) использовали цинарозид (чистота 98%, Sigma-

Aldrich, CAS № 5373-11-5). Реактивы для анализа: H₂O (ФС 2.2.0020.18 ГФ РФ XIV), C₂H₅OH 96% (ООО «Константа-фарм М», ФС.2.1.0036.15 ГФ РФ XIV), AlCl₃ («хч», ООО «Компонент реактив»), CH₃COOH ледяная («хч», АО «База №1 Химреактивов»). Оценку новой методики проводили в соответствии с ОФС «Валидация аналитических методик» ГФ XIV издания [9].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для решения вопроса стандартизации *L. deminutus* травы и разработки нормативной документации необходимо обосновать подходящую методику количественного определения основных действующих веществ (флавоноидов) в ЛРС.

В ходе выполнения исследования получили извлечение на 70%-ном спирте этиловом из надземных органов *L. deminutus*. Анализ спектральной кривой водно-спиртового раствора в дифференциальном варианте свидетельствовал о батохромном сдвиге спектра извлечения в длинноволновую область с максимальным пиком при длине волны 402±2 нм. Данное значение коррелируется с максимумом спектра спиртового раствора СО цинарозида, который равен 400±2 нм (рис. 1).

Исходя из этого, для проведения данной методики было предложено использовать цинарозид в качестве стандартного вещества и аналитическую длину волны – 400±2 нм.

Установлены надлежащие условия полной экстракции флавоноидов из надземных органов *L. deminutus* (табл. 1).

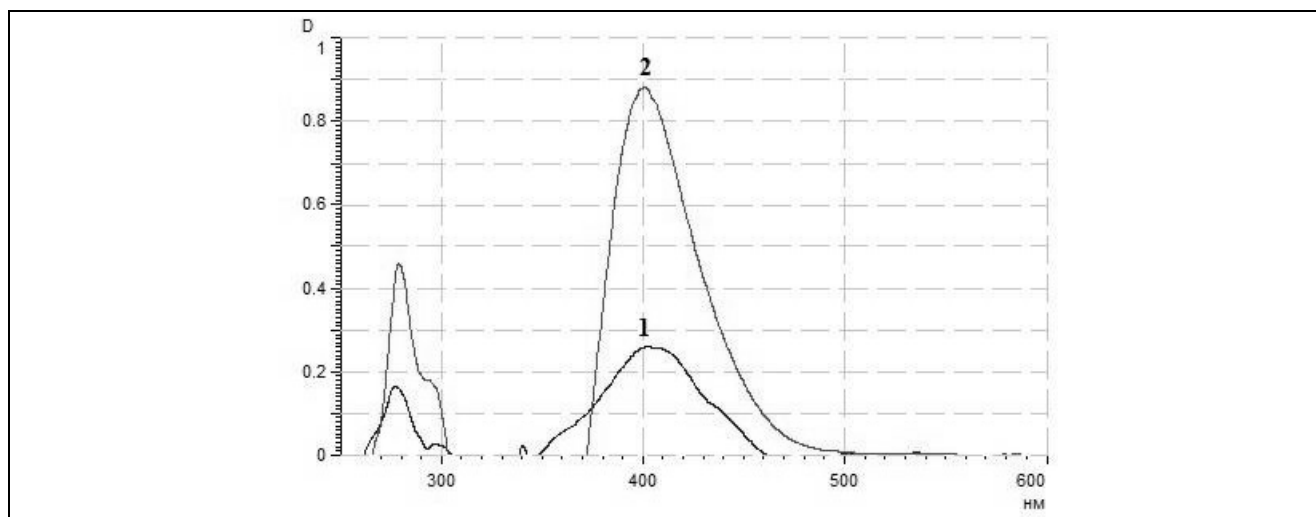


Рис. 1. Электронный дифференциальный спектр в присутствии AlCl₃: 1 – водно-спиртового раствора пустырника уменьшенного травы; 2 – спиртового раствора стандарта цинарозида

Таблица 1. Изучение влияния параметров экстракции на суммарное содержание флавоноидов в траве *L. deminutus*

| № п/п | Параметр | Содержание, % | |
|-------|---|---------------|------------------|
| 1 | Экстрагент (C ₂ H ₅ OH различной концентрации, %) | 30 | 0,83±0,04 |
| | | 40 | 0,99±0,02 |
| | | 50 | 1,01±0,06 |
| | | 60 | 1,03±0,04 |
| | | 70 | 1,07±0,01 |
| | | 80 | 1,04±0,02 |
| | | 90 | 1,01±0,02 |
| 2 | Размер частиц, мм | 0,5 | 0,98±0,01 |
| | | 1,0 | 1,07±0,01 |
| | | 2,0 | 1,04±0,02 |
| | | 3,0 | 1,01±0,05 |
| | | 5,0 | 1,03±0,02 |
| 3 | Соотношение сырья и экстрагента | 1:25 | 0,55±0,11 |
| | | 1:50 | 0,72±0,09 |
| | | 1:100 | 1,07±0,01 |
| | | 1:120 | 0,81±0,07 |
| 4 | Время экстрагирования, мин | 30 | 0,82±0,06 |
| | | 60 | 1,07±0,01 |
| | | 90 | 1,08±0,01 |
| | | 120 | 1,07±0,01 |

Экспериментальные данные показали, что предельный выход флавоноидов возможен при измельчении растительного материала до 1 мм и экстрагировании сырья 70%-ным спиртом этиловым, при их соотношении 1:100 и времени протекания процесса 60 мин.

Методика количественного определения флавоноидов в траве *L. deminutus*. Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм. Около 1,000 г (точная навеска) помещают в колбу коническую вместимостью 250 мл со шлифом, добавляют 100 мл 70%-ного спирта этилового. Колбу закрывают пробкой, взвешивают с точностью до ±0,01 г. Затем присоединяют к обратному холодильнику, нагревают на водяной бане в течение 60 мин и охлаждают. Далее колбу взвешивают с той же пробкой и доводят до первоначальной массы 70%-ным спиртом этиловым. Извлечение пропускают через бумажный фильтр «синяя лента», получают раствор А. Затем 5 мл

полученного раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 5 мл 1%-ного спиртового раствора алюминия хлорида и доводят 96%-ным спиртом этиловым до метки. Раствор перемешивают и оставляют на 45 мин. Оптическую плотность измеряют на спектрофотометре при длине волны 400±2 нм. В качестве сравнения используют следующий раствор: 5 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, добавляют 0,1 мл 15%-ного раствора уксусной кислоты и 96%-ного раствора спирта этилового, доведя спиртом до метки.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на цинарозид и абсолютно сухое сырье в процентах (*X*) вычисляют по формуле

$$X = \frac{D \cdot m_0 \cdot 100 \cdot 25 \cdot 1 \cdot 100 \cdot 100}{D_0 \cdot m \cdot 5 \cdot 25 \cdot 100 \cdot (100 - W)},$$

где *D* и *D*₀ – оптическая плотность испытуемого раствора и раствора СО цинарозида соответственно; *m* и *m*₀ – масса сырья и СО цинарозида

соответственно, г; W – потеря в массе при высушивании сырья, %.

Приготовление раствора СО цинарозида: около 0,01 г (точная навеска) цинарозида помещают в мерную колбу на 100 мл, прибавляют 80 мл 96%-ного спирта этилового и растворяют на кипящей водяной бане. Далее колбу охлаждают и доводят объем раствора 96%-ным спиртом этиловым до метки (раствор А СО). Раствор испытуемого раствора СО готовят по следующей схеме: 1 мл раствора А помещают в колбу вместимостью 25 мл, затем добавляют 1 мл 1%-ного спиртового раствора алюминия хлорида и доводят 96%-ным спиртом этиловым до метки. Раствор сравнения СО: 1 мл раствора А помещают в колбу вместимостью 25 мл, добавляют 0,1 мл 15%-ного раствора уксусной кислоты и доводят до метки 96%-ным раствором спирта этилового. Измеряют оптическую плотность при той же длине волны, что была использована при анализе растворов с извлечением.

При отсутствии стандарта цинарозида допускается использовать теоретическое значение удельного показателя поглощения (334):

$$X = \frac{D \cdot 100 \cdot 25 \cdot 100}{m \cdot 334 \cdot 5 \cdot (100 - W)},$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора; m – масса сырья, г; 334 – удельный показатель поглощения СО цинарозида при 400 ± 2 нм; W – потеря в массе при высушивании сырья, %.

Относительная погрешность методики составила $\pm 2,98\%$ при проведении девяти опытов, независимых друг от друга (табл. 2).

Анализ четырех образцов сырья, заготовленных в июне 2019–2021 гг., показал, что содержание сум

мы флавоноидов в ЛРС находится в диапазоне от $0,66 \pm 0,02\%$ до $1,01 \pm 0,03\%$, рекомендованная норма нижнего предела их количества не менее 0,5%.

Дальнейшее исследование было направлено на обоснование следующих валидационных параметров: специфичность, линейность, правильность, прецизионность, аналитическая область (диапазон применения) [10].

Специфичность подтвердили соответствием максимумов поглощения спектров извлечения из травы *L. deminutus* и стандарта цинарозида в дифференциальном варианте (400 ± 2 нм).

Линейность методики определяли составлением калибровочной кривой путем приготовления шести уровней концентраций цинарозида от номинального содержания флавоноидов в надземной части *L. deminutus*: 75, 100, 125, 150, 175, 250% (табл. 3).

Результаты интерпретировали в виде графика (рис. 2), линейность методики в указанном диапазоне концентраций цинарозида подтверждается уравнением: $y = 0,0339x - 0,0047$ ($r = 0,9993$).

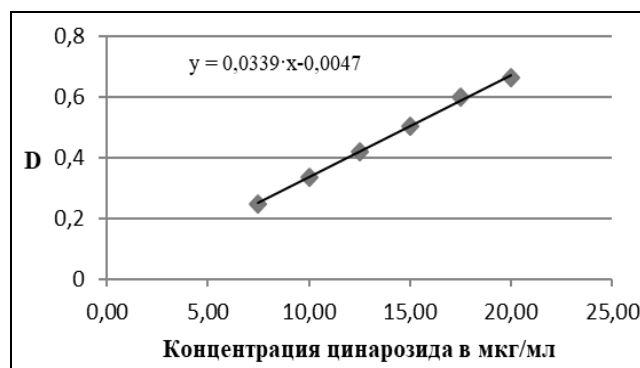


Рис. 2. График зависимости оптической плотности от концентрации стандарта цинарозида

Таблица 2. Метрологические показатели предложенной методики

| f | \bar{x} | S | $S\bar{x}$ | P, % | t(P,f) | $\Delta \bar{x}$ | \bar{E} |
|---|-----------|---------|------------|------|--------|------------------|------------|
| 8 | 1,018 | 0,03951 | 0,01317 | 95 | 2,31 | 0,03 | $\pm 2,98$ |

Таблица 3. Результаты валидационной оценки критерия линейности

| № раствора | Концентрация цинарозида, мкг/мл | Оптическая плотность | Коэффициент корреляции |
|------------|---------------------------------|----------------------|------------------------|
| 1 | 7,5 | 0,247 | 0,9993 |
| 2 | 10,0 | 0,334 | |
| 3 | 12,5 | 0,420 | |
| 4 | 15,0 | 0,505 | |
| 5 | 17,5 | 0,598 | |
| 6 | 20,0 | 0,665 | |

Правильность разработанной методики оценивали методом добавок. Для этого к исследуемому извлечению добавляли СО в необходимом количестве (0,25; 0,50; 0,75 мл). Измерения количественного содержания флавоноидов в пересчете на цинарозид проводили в трех повторностях на каждом уровне концентрации (табл. 5).

Из полученных результатов следует, что средний показатель открываемости 99,75% входит в установленные пределы 100±5% для правильности.

Прецизионность определяли по двум крите-

риям: повторяемости и воспроизводимости. Из табл. 6 следует, что значения RSD в 1-й и во 2-й дни не превышают 4% и соответствуют приемлемому уровню повторяемости.

Значения воспроизводимости также укладываются в регламентируемый диапазон для методики (табл. 7).

Таким образом, линейная зависимость, правильность и прецизионность установлены внутри аналитической области (диапазона применения) в пределах от 0,5 до 1,2%.

Таблица 5. Результаты валидационной оценки критерия правильности (метод добавок)

| Исходная концентрация флавоноидов, мг | Внесено СО, мг | Прогнозируемое значение, мг | Обнаруженное значение, мг | Открываемость, % |
|---------------------------------------|----------------|-----------------------------|---------------------------|------------------|
| 0,5 | 0,025 | 0,525 | 0,510 | 97,14 |
| | | | 0,544 | 103,62 |
| | | | 0,515 | 98,09 |
| 0,5 | 0,05 | 0,550 | 0,570 | 103,63 |
| | | | 0,538 | 97,82 |
| | | | 0,526 | 95,63 |
| 0,5 | 0,075 | 0,575 | 0,581 | 101,04 |
| | | | 0,594 | 96,80 |
| | | | 0,598 | 104,0 |
| Средний показатель открываемости, % | | | | 99,75 |
| RSD, % | | | | 3,34 |

Таблица 6. Результаты валидационной оценки критерия прецизионности (повторяемость)

| 1-й день | | 2-й день | |
|------------|--|------------|--|
| № п/п | Содержание, % | № п/п | Содержание, % |
| 1 | 1,08 | 1 | 0,96 |
| 2 | 1,03 | 2 | 1,02 |
| 3 | 1,00 | 3 | 1,04 |
| 4 | 1,09 | 4 | 0,99 |
| 5 | 1,10 | 5 | 0,95 |
| 6 | 1,04 | 6 | 1,02 |
| Метрология | $\bar{x} = 1,05$ $S = 0,03933$ t -крит. (p.) = 1,86 RSD, % = 3,74 | Метрология | $\bar{x} = 0,99$ $S = 0,03615$ t -крит. (p.) = 2,02 RSD, % = 3,65 |

Таблица 7. Результаты валидационной оценки критерия прецизионности (воспроизводимость)

| Лаборатория X | | Лаборатория Z | |
|---------------|--|---------------|--|
| № п/п | Содержание, % | № п/п | Содержание, % |
| 1 | 1,04 | 1 | 1,04 |
| 2 | 0,97 | 2 | 1,09 |
| 3 | 1,02 | 3 | 0,99 |
| 4 | 1,03 | 4 | 1,02 |
| 5 | 0,99 | 5 | 1,00 |
| 6 | 1,02 | 6 | 1,05 |
| Метрология | $\bar{x} = 1,01$ $S = 0,02476$ t -крит. (р.) = 0,18 RSD, % = 2,45 | Метрология | $\bar{x} = 1,02$ $S = 0,02391$ t -крит. (р.) = 0,82 RSD, % = 2,34 |

ВЫВОДЫ

Проведена оптимизация условий экстракции и разработана методика количественного содержания суммы флавоноидов в траве *L. deminutus* в пересчете на цинарозид при длине аналитической волны 400 ± 2 нм. Относительная погрешность методики составляет $\pm 2,98\%$. Доказано, что валидируемая методика отвечает надлежащим критериям приемлемости, поэтому может быть использована для контроля качества изучаемого ЛРС.

ЛИТЕРАТУРА

1. Крестовская Т.В. Система и конспект рода *Leonurus L.* (Lamiaceae). Новости систематики высших растений. 1989; 26: 142–149.
2. Мальшев Л.И. (ред.) Флора Сибири. Ruyolaceae – Lamiaceae. Т.11. Новосибирск: Наука, 1997; 296 с.
3. Данилова Н.С., Борисова С.З. Растение якутской народной медицины пустырник уменьшенный. Якутский медицинский журнал. 2010; 2(30): 93–95.
4. Olenikov D.N., Chirikova N.K. Caffeoylglucaric acids and other phenylpropanoids from siberian *Leonurus species*. Chemistry of Natural Compounds. 2016; 52(5): 915–917. DOI: 10.1007/s10600-016-1814-1.
5. Zagurskaya Y.V., Vasil'ev V.G., Kukina T.P., Bogatyrev A.L. Flavonoids and hydroxycinnamic acids from *Leonurus quinquelobatus*. Chemistry of Natural Compounds. 2015; 51(1): 156–157. DOI: 10.1007/s10600-015-1227-6. DOI: 10.1007/s10600-015-1227-6.
6. Zhang R.-H., Liu Z.-K., Yang D.-S., Zhang X.-J., Sun H.-D., Xiao W.-L. Phytochemistry and pharmacology of the genus *Leonurus*: The herb to benefit Phytochemistry. 2018; 147: 167–183. DOI: 10.1016/j.phytochem.2017.12.016.
7. Соколова Я.В. Исследование химического состава надземных органов пустырника уменьшенного. Актуальные вопросы современной медицины: Материалы 87-й Всероссийской Байкальской научно-практической конференции молодых учёных и студентов с международным участием, Иркутск, 12–14 октября 2020 года. Под редакцией И.В. Малова, И.Ж. Семинского, А.Г. Макеева, А.А. Долбилкина. Иркутск: Иркутский научный центр хирургии и травматологии. 2021; 231–234.
8. Soares L. F. et al. Determination and validation of spectrophotometric analytical method for quantification of total flavonoids in the leaves of *Azadirachta indica* A. Juss. (Meliaceae) and optimization of the ultrasound-assisted extraction conditions. Research, Society and Development. 2022; 11(3): e9211326135–e9211326135. DOI: 10.33448/rsd-v11i3.26135.
9. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV издание. Том I. М., 2018. Режим доступа: <https://femb.ru/record/pharmacopea14>.

Поступила после доработки 26 мая 2022 г.

THE DEVELOPMENT OF THE METHOD TO QUANTIFY THE AMOUNT OF THE FLAVONOIDS OF *LEONURUS DEMINUTUS* V. KREZC. HERB

© Y.V. Sokolova, V.M. Mirovich, 2022

Y.V. Sokolova

Post-graduate Student, Department of Pharmacognosy and Pharmaceutical Technology, Irkutsk State Medical University (Irkutsk, Russia)
E-mail: sokolovayana@mail.ru

V.M. Mirovich

Dr.Sc. (Pharm.), Professor, Head of the Department of Pharmacognosy and Pharmaceutical Technology, Irkutsk State Medical University (Irkutsk, Russia)
E-mail: mirko02@yandex.ru

Relevance. Representatives of the genus *Leonurus* are sources of important biologically active compounds (BAC), including phenolic ones. In the flora of Central Siberia, a plant of folk medicine is widespread – *Leonurus deminutus* V. Krecz. To introduce a medicinal plant into medical practice, standardization of its medicinal plant raw materials (MPRM) is required.

Objective. The development of the method to quantify the amount of the flavonoids in the aerial part of *L. deminutus* and validation evaluation of the developed method.

Material and methods. The object of the study was samples of aerial organs of *L. deminutus* collected during the blooming period in 2021 on the territory of the Irkutsk region (near the village of Ust-Ordynsky). Quantitative determination of the amount of flavonoids was carried out by differential spectrophotometry, optimal extraction conditions were selected, contributing to the maximum yield of flavonoids. Validation was carried out according to the requirements of the OFS.1.1.0012.15 of the State Pharmacopoeia of the Russian Federation of the XIV edition.

Results. Optimal extraction conditions for the quantitative determination of flavonoids in *L. deminutus* herb: extractant – ethyl alcohol 70%, the degree of grinding of raw materials – 1 mm, the ratio of "raw materials : extractant" – 1:100, extraction time – 60 minutes. When analyzing the extraction spectra, an analytical wave of 400 ± 2 nm and a standard substance, cinaroside, were established. The relative error of the method was $\pm 2,98\%$.

Conclusion. The method to quantify the amount of the flavonoids in the aerial part of *L. deminutus* has been developed, a positive validation assessment of the developed method has been carried out. The validated method meets all the criteria of acceptability and can be recommended for inclusion in the regulatory documentation for this MPRM.

Key words: *Leonurus deminutus* V. Krecz., flavonoids, cinaroside, validation, UV spectrophotometry.

For citation: Sokolova Y.V., Mirovich V.M. The development of the method to quantify the amount of the flavonoids of *Leonurus deminutus* v. Krecz. herb. Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry. 2022;25(8):24–30. <https://doi.org/10.29296/25877313-2022-08-03>

REFERENCES

1. Krestovskaja T.V. Sistema i konspekt roda *Leonurus* L. (Lamiaceae). *Novosti sistematiki vysshih rastenij*. 1989; 26: 142–149.
2. Malyshev L.I. (red.) *Flora Sibiri*. Pyrolaceae – Lamiaceae. T.11. Novosibirsk: Nauka, 1997; 296 s.
3. Danilova N.S., Borisova S.Z. Rastenie jakutskoj narodnoj mediciny pustyrnik umen'shennyj. *Jakutskij medicinskij zhurnal*. 2010; 2(30): 93–95.
4. Olennikov D.N., Chirikova N.K. Caffeoyleglucaric acids and other phenylpropanoids from siberian *Leonurus* species. *Chemistry of Natural Compounds*. 2016; 52(5): 915–917. DOI: 10.1007/s10600-016-1814-1.
5. Zagurskaya Y.V., Vasil'ev V.G., Kukina T.P., Bogatyrev A.L. Flavonoids and hydroxycinnamic acids from *Leonurus quinquelobatus*. *Chemistry of Natural Compounds*. 2015; 51(1): 156–157. DOI: 10.1007/s10600-015-1227-6. DOI: 10.1007/s10600-015-1227-6.
6. Zhang R.-H., Liu Z.-K., Yang D.-S., Zhang X.-J., Sun H.-D., Xiao W.-L. Phytochemistry and pharmacology of the genus *Leonurus*: The herb to benefit. *Phytochemistry*. 2018; 147: 167–183. DOI: 10.1016/j.phytochem.2017.12.016.
7. Sokolova Ja.V. Issledovanie himicheskogo sostava nadzemnyh organov pustyrnika umen'shennogo. Aktual'nye voprosy sovremennoj mediciny: Materialy 87-j Vserossijskoj Bajkal'skoj nauchno-prakticheskoy konferencii molodyh uchjonyh i studentov s mezhdunarodnym uchastiem, Irkutsk, 12–14 oktjabrja 2020 goda. Pod redakciej I.V. Malova, I.Zh. Seminskogo, A.G. Makeeva, A.A. Dolbilkina. Irkutsk: Irkutskij nauchnyj centr hirurgii i travmatologii. 2021; 231–234.
8. Soares L. F. et al. Determination and validation of spectrophotometric analytical method for quantification of total flavonoids in the leaves of *Azadirachta indica* A. Juss. (Meliaceae) and optimization of the ultrasound- assisted extraction conditions. *Research, Society and Development*. 2022; 11(3): e9211326135–e9211326135. DOI: 10.33448/rsd-v11i3.26135.
9. Gosudarstvennaja farmakopeja Rossijskoj Federacii. XIV izdanie. Tom I. M., 2018. Rezhim dostupa: <https://femb.ru/record/pharmacopeia14>.



Лекарственные препараты, разработанные ВИЛАР

Хелепин (таблетки, мазь) рег. №№ 87/1186/10; 87/1186/7 – противовирусное средство при заболеваниях, вызываемых ДНК-геномными вирусами группы герпеса, получаемое из травы дикорастущего растения леспециды копеечниковой (*Lespedeza hedysaroides* (Pall.) Kitag.).

Хелепин Д (таблетки, мазь, глазные капли), рег. №№ 94/108/6; 94/108/7; 99/47/11 – противовирусное средство, получаемое из травы культивируемого растения десмодиума канадского (*Desmodium canadense* D.C.).

Тел. контакта: 8(495)388-55-09; 8(495)388-61-09; 8(495)712-10-45

Факс: 8(495)712-09-18;

e-mail: vilarnii.ru; www.vilarnii.ru