

Р. И. Лукашов

**ФОРМИРОВАНИЕ ПАТТЕРНОВ ИММУНОТРОПНОГО ЭФФЕКТА НА ОСНОВЕ ИСХОДНОГО УРОВНЯ ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ ЛИМФОЦИТОВ**

Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет

*В статье на примере настойки рудбекии шершавой цветков представлено описание двух независимых друг от друга паттернов, различающихся по силе иммунотропного эффекта. Паттерны формируются на основе различий в исходном уровне пролиферативной активности лимфоцитов, что подтверждается результатами дисперсионного, корреляционного и регрессионного анализов. Первый паттерн характеризуется высоким уровнем отклика со стороны спонтанной реакции бласттрансформации лимфоцитов, второй – более низким. Максимальный индекс стимуляции для первого паттерна наблюдается в концентрациях 23,4 и 2,34 нмоль/л, для второго – в концентрации 0,234 нмоль/л.*

*Ключевые слова: паттерн, исходная пролиферативная активность лимфоцитов, иммунотропный эффект.*

**ВВЕДЕНИЕ**

В современных доклинических исследованиях одной из важных характеристик зависимости силы фармакологического эффекта от дозы (или концентрации) лекарственного средства является доза (или концентрация), вызывающая эффект, равный 50% от максимального (или у 50% тест-объектов) ( $ED_{50}$  или  $EC_{50}$ ) [1]. Для ее расчета принято использовать различные методы [2–4]. Конечный результат представляется в виде среднего значения и его полуширины доверительного интервала (или стандартной ошибки) [1]. Для вычислений берут данные, полученные для одной дозы от нескольких тест-объектов (выборка) [1–5]. При этом не учитывается индивидуальный ответ каждого тест-объекта и их биологическое разнообразие в целом. Значения, существенно отличающиеся от других, исключают или преобразуют, добиваясь однородности [5].

Рассчитанное значение  $ED_{50}$  представляет собой среднестатистический результат, который не учитывает исходной чувствительности групп тест-объектов и не отражает принцип независимости испытанной дозы. Полуширина доверительного интервала в таком способе представления результатов теряет биологический смысл, т.к. показывает лишь вариацию силы эффекта у ряда независимых друг от друга тест-объектов.

Логичным представляется группирование результатов исследования с учетом

схожего исходного уровня чувствительности тест-объектов, формируя паттерны фармакологического эффекта. Для каждого паттерна целесообразно рассчитать  $ED_{50}$  и другие параметры, количественно характеризующие фармакологический эффект.

В фармакологии термин «паттерн» встречается при описании теории плеiotропности фармакологического эффекта и подразумевает под собой вид плеiotропного действия биологически активных веществ [6].

Рудбекии шершавой цветки – новое лекарственное растительное сырье, включенное в Государственную фармакопею Республики Беларусь [7]. Для настойки и настоя, полученных на их основе, доказано иммуномодулирующее действие в спонтанной [8] и индуцированной фитогемагглютинином [9] реакции бласттрансформации лимфоцитов (РБТЛ) человека *in vitro*.

Состояние лимфоцитов, как одних из главных клеток системы иммунитета, отражает иммунный статус организма в целом, а сами клетки имеют различный исходный уровень иммунореактивности [10, 11]. Исходный уровень пролиферативной активности лимфоцитов определяет процент иммунобластов в норме [12]. Поэтому интересным представляется изучение влияния исходного уровня пролиферативной активности лимфоцитов на результаты фармакологических исследований, полученных в РБТЛ.

Ранее нами был описан статистически значимый дозозависимый иммунотроп-

ный эффект настойки и настоя рудбекии шершавой цветков в спонтанной РБТЛ человека *in vitro* [8]. При этом отмечено, что настойка с разной силой стимулировала бласттрансформацию лимфоцитов в зависимости от ее исходного уровня в контроле. Поэтому перспективно детальное изучение влияния исходного уровня пролиферативной активности лимфоцитов на количественные характеристики бласттрансформации, индуцированной настойкой рудбекии шершавой цветков.

Цель настоящей работы – на примере настойки рудбекии шершавой цветков сформировать и описать паттерны иммунотропного эффекта, учитывая исходный уровень пролиферативной активности лимфоцитов.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Рудбекии шершавой цветки заготавливали в фазу начала цветения (первая половина июля) в 2011, 2012, 2013, 2014 и 2015 гг. на учебно-полевом участке в п. Улановичи (окрестности г. Витебска). Собранное сырье подвергали воздушно-теневой сушке. Высушенное сырье измельчали до размера частиц, проходящих сквозь сито (2000). Из измельченных цветков получали настойку по ранее описанной технологии [8]. Из полученной настойки отгоняли спирт *P*. Сухой остаток суспендировали в воде для инъекций.

Лимфоциты выделяли из цельной донорской крови по методу *Woum* [13]. Культивирование выделенных лимфоцитов осуществляли в жидкой питательной среде RPMI 1640, которая содержала эмбриональную телячью сыворотку, *натрия гидрокарбонат P* и L-глутамин. Количество клеток в 1 мл питательной среды подсчитывали в камере Горяева.

Растворы, которые вносили в культуру лимфоцитов, готовили методом после-

довательных разведений сухого остатка. Конечные концентрации рассчитывали на сумму флавоноидов и гидроксикоричных кислот, пересчет вели на папулитрин [14]. В результате расчета получили следующие концентрации: 23,4; 2,34 и 0,234 нмоль на 1 л жидкой питательной среды.

Постановку спонтанной РБТЛ *in vitro* выполняли согласно методике, описанной в статье [8]. Для характеристики силы иммунотропного эффекта использовали индекс стимуляции, который вычисляли как отношение процента бластных форм среди общего количества лимфоцитов в пробах с настойкой к аналогичному показателю в соответствующем контроле.

Статистическую обработку проводили при помощи компьютерных лицензионных программ Microsoft Office Excel 2007 (пакет «Анализ данных») и Statistica Advanced 10.0. Проводили однофакторный дисперсионный, корреляционный и регрессионный анализ. Значения статистически значимо различались при  $p < 0,05$ . Расчет  $ES_{50}$  производили по уравнениям, полученным в результате регрессионного анализа.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Первый блок исследования состоял из трех этапов и включал изучение при помощи дисперсионного, корреляционного и регрессионного анализов влияния исходного уровня бласттрансформации в контроле на индексы стимуляции настойки, внесенной в культуру лимфоцитов в разных концентрациях.

На первом этапе исследования устанавливали влияние процента бластных форм среди общего количества лимфоцитов в контроле на индексы стимуляции при помощи однофакторного дисперсионного анализа, результаты которого представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Результаты однофакторного дисперсионного анализа влияния процента бластных форм на индексы стимуляции

| Изучаемый фактор   | Исходный уровень фактора | Концентрация, нмоль/л | Критерий Шапиро-Уилка | Критерий Левена | Уровень значимости (p) |
|--|--------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------|------------------------|
| Процент бластных форм от общего количества лимфоцитов в контроле | 3,2–3,8%                 | 23,4                  | 0,50                  | 0,42            | 0,003292               |
|  | 4,6–5,8%                 |                       | 0,39                  |                 |                        |
|  | 3,2–3,8%                 | 2,34                  | 0,68                  | 0,14            | 0,000178               |
|  | 4,6–5,8%                 |                       | 0,58                  |                 |                        |
|  | 3,2–3,8%                 | 0,234                 | 0,58                  | 0,07            | 0,000046               |
|  | 4,6–5,8%                 |                       | 0,50                  |                 |                        |

Из таблицы 1 видно, что распределение каждой из выборок статистически незначимо ( $p > 0,05$ ; критерий Шапиро-Уилка) отличалось от нормального распределения, тест Левена выявил статистически незначимые ( $p > 0,05$ ) отличия между дисперсиями исследуемых выборок. Процент бластных форм среди общего количества лимфоцитов в контроле статистически значимо ( $p < 0,05$ )

влиял на индексы стимуляции, рассчитанные для каждой концентрации.

На втором этапе для характеристики зависимостей индексов стимуляции от процента бластных форм среди общего количества лимфоцитов в контроле по методу Пирсона вычисляли коэффициенты корреляции, значения которых представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Результаты корреляционного анализа зависимостей между процентом бластных форм и индексами стимуляции

| Процент бластных форм от общего количества лимфоцитов в контроле | Индексы стимуляции для следующих концентраций (нмоль/л): |       |       |
|--|--|-------|-------|
|  | 23,4   | 2,34  | 0,234 |
| Коэффициент корреляции ( $r$ )                                   | -0,95  | -0,91 | -0,83 |
| Уровень значимости ( $p$ )                                       | 0,004  | 0,014 | 0,042 |

Параметрический метод Пирсона выбран, т.к. значение критерия Шапиро-Уилка в группе контроля (процент бластных форм) составило 0,66; в группах концентраций 23,4; 2,34 и 0,234 нмоль/л (индексы стимуляции) – 0,97; 0,43 и 0,20 соответственно, т.е. распределения в этих группах статистически незначимо ( $p > 0,05$ ) отличались от нормального распределения.

Из таблицы 2 видно, что между индексами стимуляции для каждой концентра-

ции исследуемого диапазона и процентом бластных форм среди общего количества лимфоцитов в контроле наблюдались обратные сильные линейные зависимости. Рассчитанные коэффициенты корреляции статистически значимо ( $p < 0,05$ ) отличались от нуля.

Для количественной характеристики взаимосвязей на третьем этапе проведен регрессионный анализ, результаты которого приведены в таблице 3.

Таблица 3 – Результаты регрессионного анализа зависимостей индексов стимуляции от процента бластных форм от общего количества лимфоцитов в контроле

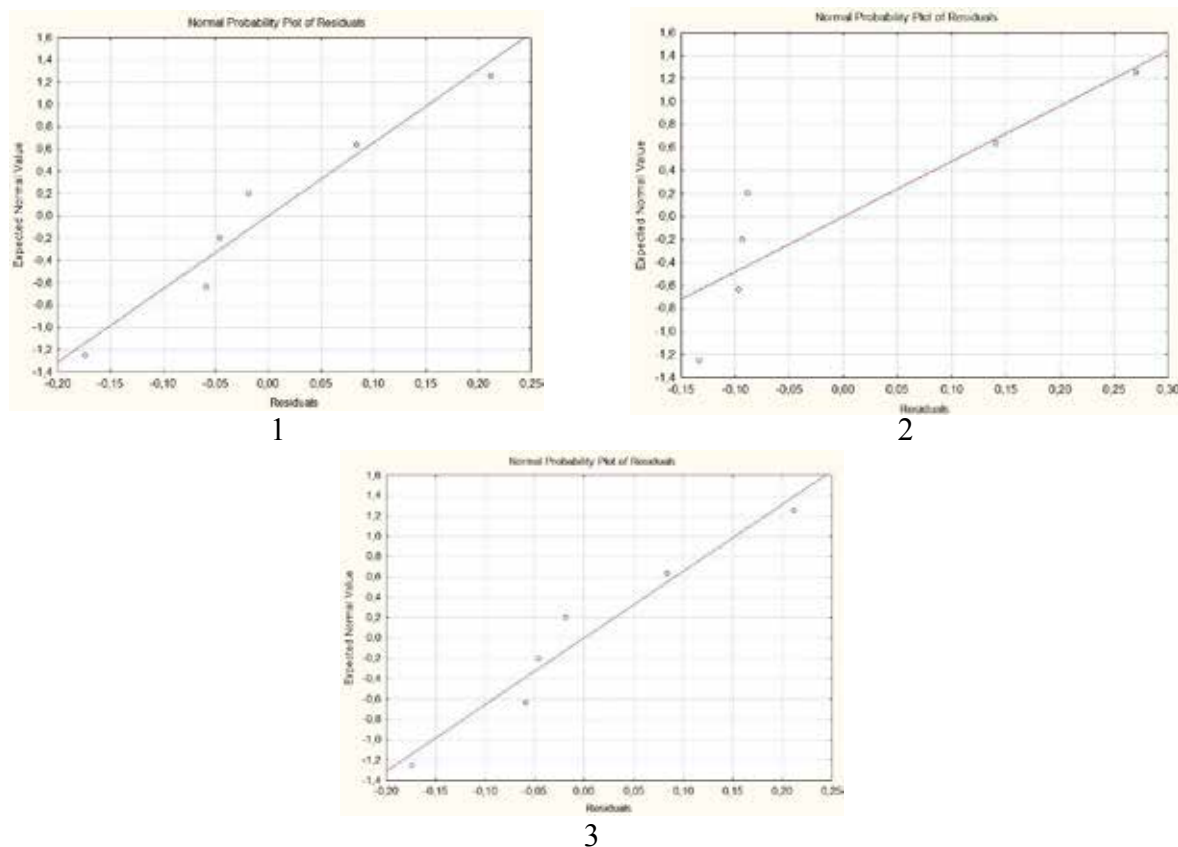
| Уравнение регрессии | $Beta$ | Стандартная ошибка коэффициента $Beta$ | $a$  | Стандартная ошибка константы $a$ | Уровень значимости ( $p$ ) константы $a$ | $b$   | Стандартная ошибка коэффициента $b$ | Уровень значимости ( $p$ ) коэффициента $b$ | Коэффициент детерминации ( $R^2$ ) |
|---------------------|--------|--|------|----------------------------------|--|-------|-------------------------------------|---|------------------------------------|
| $y_1 = vx + a$      | -0,95  | 0,16                                   | 3,40 | 0,31                             | 0,000398                                 | -0,38 | 0,07                                | 0,004393                                    | 0,8937                             |
| $y_2 = vx + a$      | -0,90  | 0,22                                   | 3,20 | 0,39                             | 0,001155                                 | -0,34 | 0,08                                | 0,013764                                    | 0,8147                             |
| $y_3 = vx + a$      | -0,83  | 0,28                                   | 2,46 | 0,28                             | 0,000922                                 | -0,18 | 0,06                                | 0,041628                                    | 0,6863                             |

Примечание: независимая переменная ( $x$ ) – процент бластных форм в контроле; зависимые переменные ( $y_1, y_2, y_3$ ) – индексы стимуляции для концентраций 23,4; 2,34 и 0,234 нмоль/л соответственно.

Из таблицы 3 видно, что абсолютные значения коэффициентов  $Beta$ ,  $b$  и константы  $a$  значительно превышали свои стандартные ошибки и статистически значимо ( $p < 0,05$ ) отличались от нуля. Коэффициенты детерминации, приведенные в таблице 3, близки к единице, что указывало на высокую точность аппроксимации полученными моделями экспериментальных данных.

Для оценки прогностической способности регрессионных моделей построили диаграммы рассеяния, представленные на рисунке 1.

Стандартные ошибки полученных регрессионных моделей и общие значения уровней значимости для концентраций 23,4; 2,34; 0,234 нмоль/л составили 0,15; 0,18; 0,13 и 0,0004; 0,0120; 0,0009 ( $p < 0,05$ ) соответственно, что говорило о пригодности данных моделей (уравнений) для описания вида зависимостей индексов стимуляции, вычисленных для разных концентраций испытуемого диапазона, от процента бластных форм в контроле.



Концентрации: 1 – 23,4 нмоль/л; 2 – 2,34 нмоль/л; 3 – 0,234 нмоль/л.  
Рисунок 1 – Диаграммы рассеяния экспериментально полученных и рассчитанных по уравнениям регрессии индексов стимуляции для разных концентраций

Второй блок исследования заключался в формировании и описании паттернов иммуноотропного эффекта.

Индексы стимуляции, вычисленные для каждой изученной концентрации, разделяли на два основных паттерна. Критерием формирования паттернов служили исходные значения процентов бластных форм среди общего количества лимфоцитов в контроле. К первому паттерну относили индексы стимуляции, которые вычисляли в случае, когда исходный процент бластных форм среди общего количества лимфоцитов в контроле составил от 3,2 до 3,8% ( $3,5 \pm 0,4\%$ ;  $p = 0,948$  по критерию Шапиро-Уилка); ко второму паттерну – от 4,6 до 5,8% ( $5,2 \pm 0,6\%$ ;  $p = 0,056$  по критерию Шапиро-Уилка). При этом первый паттерн сформирован на основе исходного уровня пролиферативной активности лимфоцитов, который статистически значимо ( $p=0,000031$  по t-критерию Стьюдента) ниже, чем аналогичный показатель, на основе которого сформирован второй паттерн. Таким образом, данное исследо-

вание касалось двух субпопуляций лимфоцитов, которые различались по исходному уровню пролиферативной активности, т.е. по способности в условиях *in vitro* самостоятельно, без индуктора превращаться в бласты.

В таблице 4 представлены разделенные на два паттерна индексы стимуляции для каждой исследуемой концентрации.

Первый паттерн включал индексы стимуляции в следующем диапазоне: от 1,89 до 2,25; второй – от 1,07 до 1,61. При снижении процента бластных форм в контроле в среднем в 1,5 раза индекс стимуляции увеличивался в среднем в 1,5 раза (для концентраций 23,4 и 2,34 нмоль/л) и в 1,3 раза (для концентрации 0,234 нмоль/л). При сравнении (по t-критерию Стьюдента) индексов стимуляции для каждой исследуемой концентрации первого и второго паттернов установлено, что все уровни значимости, приведенные в таблице 4, меньше 0,05, т.е. наблюдали статистически значимые различия между индексами стимуляции первого и второго паттернов.

Таблица 4 – Индексы стимуляции для концентраций 23,4; 2,34 и 0,234 нмоль/л с делением на два паттерна ( $n_1 = 12$ ;  $n_2 = 16$ )

| Параметр               | Концентрация 23,4 нмоль/л |                | Концентрация 2,34 нмоль/л |                | Концентрация 0,234 нмоль/л |                |
|------------------------|---------------------------|----------------|---------------------------|----------------|----------------------------|----------------|
|                        | Первый паттерн            | Второй паттерн | Первый паттерн            | Второй паттерн | Первый паттерн             | Второй паттерн |
| Индекс стимуляции      | 2,09±0,15                 | 1,41±0,24      | 2,09±0,07                 | 1,38±0,15      | 1,92±0,04                  | 1,52±0,07      |
| Уровень значимости (p) | 0,004537                  |                | 0,000184                  |                | 0,000086                   |                |

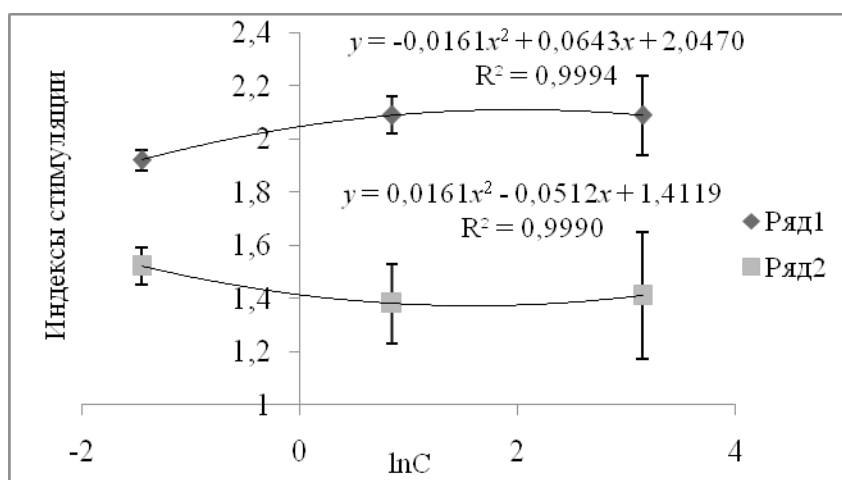
Примечание: значения индексов стимуляции представлены в виде  $\bar{X} \pm \Delta_{\bar{x}}$ , где  $\bar{X}$  – среднее значение;  $\Delta_{\bar{x}}$  – полуширина доверительного интервала.

Проверку однородности паттернов осуществляли по «правилу трех сигм». Индексы стимуляции первого и второго паттернов укладывались в диапазон  $\bar{X} \pm 3s$ , т.е. по отдельности первый и второй паттерны однородны.

Результаты оценки значимости отличий и однородности подтверждали правиль-

ность формирования двух разных паттернов в зависимости от силы иммуностропного эффекта, возникшего в ответ на разные исходные уровни реактивности клеток.

На рисунке 2 представлены изучаемые паттерны в виде графических зависимостей индексов стимуляции от натурального логарифма концентрации.



Ряд 1 – первый паттерн; ряд 2 – второй паттерн.

Рисунок 2 – Зависимости индексов стимуляции от натурального логарифма (ln) концентрации (C)

Индексы стимуляции, рассчитанные при двух разных исходных уровнях пролиферативной активности лимфоцитов, статистически достоверно ( $p = 0,0140$  (первый паттерн) и  $p = 0,0192$  (второй паттерн)) связаны с натуральными логарифмами концентраций, вносимых в культуру клеток, т.е. в обоих случаях иммуностропный эффект зависел от концентрации. Наибольшие значения  $R^2$  наблюдали при аппроксимации данных зависимостей полиномом второй степени.

Максимальный эффект (экстремум эффекта) для первого паттерна (ряд 1, рисунок 2) находился в области высоких и

промежуточных концентраций (23,4 и 2,34 нмоль/л соответственно) в границах испытанного диапазона, т.е. в данной области концентраций наблюдалось «плато эффекта». При переходе от концентрации 2,34 нмоль/л к концентрации 0,234 нмоль/л количество бластных форм в среднем снижалось на 8,9% (отн.). При расчете  $EC_{50}$  (на сумму флавоноидов и гидроксикоричных кислот с пересчетом на патулитрин) по уравнению, приведенному на рисунке 2 для ряда 1, получили два значения:  $0,020 \pm 0,006$  нмоль/л и  $2,9 \pm 0,8$  мкмоль/л.

Максимальный эффект (первый экстремум эффекта) для второго паттерна (ряд 2,

рисунок 2) находился в области низких концентраций (0,234 нмоль/л) в границах испытанного диапазона. Увеличение концентрации в 10 раз (с 0,234 до 2,34 нмоль/л) приводило к тому, что количество бластных форм в среднем снижалось на 14,5% (отн.). В области промежуточных концентраций (2,34 нмоль/л) наблюдался минимальный эффект (второй экстремум эффекта). При переходе от концентрации 2,34 нмоль/л к концентрации 23,4 нмоль/л количество бластных форм в среднем увеличивалось на 2,1% (отн.). Рассчитать  $EC_{50}$  по уравнению, приведенному на рисунке 2 для ряда 2, не представлялось возможным, т.к. дискриминант имел отрицательное значение.

Сопоставление максимальных эффектов ( $E_{max}$ ) для изучаемых паттернов показало, что максимальный индекс стимуляции ( $2,09 \pm 0,07$ ) для первого паттерна статистически значимо ( $p = 0,034$  по t-критерию Стьюдента) больше, чем аналогичный параметр ( $1,52 \pm 0,07$ ) для второго паттерна, т.е. первый паттерн характеризовался высоким уровнем отклика со стороны спонтанной РБТЛ *in vitro*, второй – более низким, а также паттерны являлись независимыми друг от друга. Их полное сравнение не проводилось в виду отсутствия данных по  $EC_{50}$  для второго паттерна.

Таким образом, паттерн – это однородный самостоятельный участок дискретного фармакологического эффекта, формирующийся на основе схожих признаков и имеющий мономорфную внутреннюю структуру.

Формирование паттернов – это не только способ представления результатов фармакологических исследований, реализуемый путем группирования данных по исходному уровню чувствительности тест-объектов, но и способ оценки широты и силы отклика со стороны экспериментальной модели на средство, вводимое в различных дозах. Итоги формирования паттернов рекомендуется учитывать на доклинических этапах испытаний при выборе экспериментальных моделей (в частности, в случае широкого диапазона вариаций признаков у тест-объектов), при сравнении эффективности и активности испытуемого и референтного средств.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сформированы и описаны два независимых друг от друга однородных паттерна иммуотропного эффекта настойки рудбекии шершавой цветков.

Механизм формирования паттернов зависит от исходного уровня пролиферативной активности лимфоцитов, что подтверждено результатами дисперсионного, корреляционного и регрессионного анализов.

При сопоставлении силы иммуотропного действия выявлено, что первый паттерн характеризуется высоким уровнем отклика со стороны спонтанной реакции бласттрансформации лимфоцитов *in vitro*, второй – более низким.

Для обоих паттернов эффект зависел от концентрации. При этом наибольший отклик со стороны спонтанной реакции бласттрансформации лимфоцитов *in vitro* для первого паттерна наблюдается в области высоких и промежуточных концентраций (23,4 и 2,34 нмоль/л соответственно), для второго – в области низких концентраций (0,234 нмоль/л).

## SUMMARY

R. I. Lukashov  
PATTERNS FORMATION  
OF IMMUNOTROPIC EFFECT  
ON THE BASIS OF LYMPHOCYTES  
PROLIFERATIVE ACTIVITY  
BASELINE LEVEL

In the article on example of the tincture of Black-eyed Susan flower two mutually independent patterns with differences in strength of immunotropic effect are described. Patterning occurs on the basis of differences in lymphocytes proliferative activity baseline level and confirmed by the results of variance, correlation and regression analyses. The first pattern is characterized by the high level of response from the spontaneous reaction of lymphocytes blast transformation, the second – lower. Maximal stimulation index for the first pattern is observed at the concentrations of 23,4 and 2,34 nmol/l, for the second – in the concentration of 0,234 nmol/l.

Keywords: pattern, lymphocytes proliferative activity baseline level, immunotropic effect.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения»; редкол.: А. Н. Миронов [и др.]. – М.: Гриф и К, 2012. – Часть первая. – 944 с.
2. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Фармакологический государственный комитет; редсов.: В. П. Фисенко [и др.]. – М.: Ремедиум, 2000. – 398 с.
3. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / ФГУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения»; под общ. ред. Р. У. Хабриева. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Медицина, 2005. – 832 с.
4. Беленький, М. Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта / М. Л. Беленький. – Ленинград: Медгиз, 1963. – 2-е изд., перераб. и доп. – 146 с.
5. Статистический анализ результатов биологических испытаний и тестов // Государственная фармакопея Республики Беларусь (ГФ РБ II) : в 2-х т. / РУП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении»; под общ. ред. А. А. Шерякова. – Молодечно: Победа, 2012. – Т. 1: Общие методы контроля качества лекарственных средств. – С. 825–867.
6. Бизунок, Н. А. Плейотропность фармакологического эффекта – новый взгляд на действие биологически активных соединений и лекарственных средств / Н. А. Бизунок // Медицинский журнал. – 2013. – № 2. – С. 152–157.
7. Рудбекии шершавой цветки // Государственная фармакопея Республики Беларусь (ГФ РБ II): в 2-х т. / РУП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении»; под общ. ред. С. И. Марченко. – Молодечно: Победа, 2016. – Т. 2: Контроль качества субстанций для фармацевтического использования и лекарственного растительного сырья. – С. 1303–1305.
8. Лукашов, Р. И. Иммуотропная активность цветков рудбекии шершавой (*Rudbeckia hirta* L.) / Р. И. Лукашов, Д. В. Моисеев // Рецепт. – 2013. – № 4. – С. 96–103.
9. Лукашов, Р. И. Фенольные соединения рудбекии шершавой цветков и их иммуотропная активность / Р. И. Лукашов, Д. В. Моисеев // Вестник Витеб. гос. мед. ун-та. – 2015. – № 4. – С. 118–124.
10. Новиков, Д. К. Иммунокоррекция, иммунопрофилактика, иммунореабилитация / Д. К. Новиков, П. Д. Новиков, Н. Д. Титова. – Витебск: Витеб. гос. мед. ун-т, 2006. – 198 с.
11. Новиков, Д. К. Оценка иммунного статуса / Д. К. Новиков, В. И. Новикова. – Витебск: Витеб. мед. ин-т, 1996. – С. 241–245.
12. Азаренок, К. С. Клинические аспекты применения реакции бласттрансформации лимфоцитов и ее использование для изучения патогенеза и дифференциальной диагностики инфекционного и сывороточного гепатита с другими заболеваниями: автореф. дис. ... докт. мед. наук: 14.00.10 / К. С. Азаренок; Ин-т вирусологии им. Д. И. Ивановского АМН СССР. – М., 1978. – 32 с.
13. Boyum, A. Separation of leukocytes from blood and bone marrow / A. Boyum // Scand. J. Clin. Lab. Investig. – 1968. – Vol. 21. – P. 1–9.
14. Лукашов, Р. И. Количественное определение флавоноидов и гидроксикоричных кислот в цветках рудбекии шершавой / Р. И. Лукашов, Д. В. Моисеев // Рецепт. – 2013. – № 5. – С. 95–105.

**Адрес для корреспонденции:**

210023, Республика Беларусь,  
г. Витебск, пр. Фрунзе, 27,  
УО «Витебский государственный ордена  
Дружбы народов медицинский университет»,  
кафедра стандартизации лекарственных  
средств с курсом ФПК и ПК,  
тел. раб. 8(0212)370006,  
тел. моб. +375292948511,  
e-mail: r\_lukashov@mail.ru,  
Лукашов Р. И.

Поступила 11.11.2016 г.