

# ФАРМАКОГНОЗИЯ И БОТАНИКА

А.А. Карусевич, Г.Н. Бузук

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ОКСИДА АЛЮМИНИЯ ПРИ ИДЕНТИФИКАЦИИ 20-ГИДРОКСИЭКДИЗОНА В ЛИСТЬЯХ ЛЕВЗЕИ САФЛОРОВИДНОЙ С ПОМОЩЬЮ ТОНКОСЛОЙНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

Витебский государственный медицинский университет

*Предложен метод идентификации 20-гидроксиэкдизона (20E) в водно-спиртовом экстракте листьев левзеи сафлоровидной (*Rharrhonicum carthamoides*) методом тонкослойной хроматографии (ТСХ). Определение фитостероида (ФЭС) проводилось 1% раствором ванилина в 96% этиловом спирте в присутствии серной кислоты. Установлен предел чувствительности проявляющего реактива для данного метода – 10 мкг 20E. Также установлено, что наиболее оптимальным составом обладают две подвижные фазы (ПФ): толуол – ацетон – 96% этиловый спирт – аммиак (100:140:32:9 об/об/об/об) и этилацетат – 96% этиловый спирт – вода (16:2:1 об/об/об). Установлены  $hR_f$  20E для данных систем. Удаление мешающих компонентов матрицы осуществлялось путем твердофазной экстракции на оксиде алюминия.*

*Ключевые слова: тонкослойная хроматография, 20-гидроксиэкдизон, левзея сафлоровидная.*

### ВВЕДЕНИЕ

Экдистероиды – (от греч. exdysis – линька) – группа полигидроксилированных стероидных соединений, обладающих активностью гормонов линьки и метаморфоза насекомых. Впервые экдизон был получен в кристаллическом виде в 1954 г. [1]. Это соединение впоследствии получило название  $\alpha$ -экдизон. Позже, в 1966 г., из растения подокарпус Накаи (*Podocarpus Nakai*) были выделены еще четыре схожих по структуре соединения – понастероны А, В, С и D. Впоследствии оказалось, что понастерон А структурно близок к  $\alpha$ -экдизону, а также обладает свойствами гормона линьки насекомых [2].

Экдистероиды являются весьма распространенными в природе соединениями. В растительном мире они найдены более чем в 80 семействах [2, 3]. В основном они представлены  $\alpha$ -экдизоном и  $\beta$ -экдизоном:  $\beta$ -экдизон чаще всего называют 20-гидроксиэкдизоном. В литературе это соединение встречается под аббревиатурой 20E. Все остальные экдистероиды принято называть минорными.

Количество 20E может служить критерием оценки доброкачественности лекарственного растительного сырья, поскольку основная масса экдистероидов приходится именно на него [4, 5]. Поэтому и ана-

лиз многих фармакологически активных средств, содержащих 20E в своем составе, проводится именно по его количественному содержанию [6-9].

При идентификации 20E в составе многокомпонентных экдистероидсодержащих смесей применяются биологические [1, 2, 10], химические [1, 3] и физико-химические методы [1, 2, 10-12]. Первая группа методов служит для оценки биологической активности и основана на способности экдистероидов вызывать склеротизацию кутикулы личинок экспериментальных насекомых [1]. Метод может использоваться для определения 20E, но он неудобен [10], громоздок и малопоказателен.

Химические реакции применимы только для очищенной фракции 20E [2].

Из физико-химических методов определения подлинности экдистероидов в целом и 20E в частности ведущую роль играют тонкослойная хроматография (ТСХ) и препаративная высокоэффективная жидкостная хроматография (препаративная ВЭЖХ) [2, 10, 13-16].

Упомянуты также фотокоориметрия, флуориметрия, УФ-спектрофотометрия, ВЭЖХ-масс-спектрометрия [11] и радиоиммунный анализ (РИА) [17]. Однако приоритет принадлежит ТСХ как наиболее простому и в аппаратном оформлении и проведении методу.

В литературе описаны различные составы подвижной фазы (ПФ) для определения 20Е: хлороформ – 95% этиловый спирт [2], этилацетат – 96% этиловый спирт (1:1) и (4:1), бутанол – 96% этиловый спирт – вода (5:1:2), хлороформ – 96% этиловый спирт (4:1) [10], хлороформ – метанол (4:1), дихлорметан – 96% этиловый спирт (5:1), толуол – ацетон – 96% этиловый спирт – аммиак (100:140:32:9) и этилацетат – 96% этиловый спирт – вода (16:2:1) [15].

При этом все описанные методики ТСХ использовались либо для определения 20Е в корневищах с корнями левзеи сафлоровидной (*Rhaponticum carthamoides*) [3], либо в биологическом материале [17, 18], либо источник происхождения разделяемой матрицы не указывался вовсе [2, 10, 15].

Цель нашего исследования состояла в разработке методики определения 20Е в листьях левзеи сафлоровидной с помощью тонкослойной хроматографии.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Реактивы:** толуол ч.д.а. («Реахим»), ацетон х.ч. (ЗАО «НПО Экрос»), этиловый эфир уксусной кислоты ч.д.а. («Реахим»), ванилин ч.д.а. («Sigma-Aldrich»), серная кислота концентрированная, ч. («Реахим»), 96% этиловый спирт (ректификат), аммиак 25% х.ч. («Реахим»), хлороформ ч.д.а. (ЗАО «ХимХром»), бутанол ч.д.а. (ЗАО «ХимХром»), дихлорметан («Sigma-Aldrich»), оксид алюминия, х.ч., нейтральный, II по Брокману («Реахим»). В качестве стандартного образца использовали 1% спиртовой раствор 20Е («Sigma-Aldrich»).

**Материалы:** пластины для ТСХ «Sorbfil UV-254», микрошприц на 10 мкл, нагревательный столик, камеры для хроматографирования, водоструйный насос («стеклоприбор»), опрыскиватель для пластин ТСХ, набор фильтров «Millipore», материал фильтровальный ПТФЭ (ИММС им. В.А. Белого НАН РБ).

**Приготовление спирто-водного извлечения листьев левзеи сафлоровидной.** Около 10 г. сухих листьев левзеи сафлоровидной, взвешенных с точностью до 1 мг, помещали в коническую колбу вместимостью 200 мл, прибавляли 100 мл 70% этилового спирта, герметично укупоривали и настаивали при периодическом перемешивании

в течение суток. После завершения настаивания содержимое колбы процеживали через слой стекловаты и фильтровали через фильтр «Millipore» с диаметром пор 4,5 мкм.

**Приготовление раствора стандартного образца (PCO).** Навеску 20Е массой 10,0 мг помещали в мерную колбу вместимостью 100,0 мл, прибавляли около 50 мл 96% этилового спирта и встряхивали до полного растворения порошка. Затем содержимое колбы доводили до метки 96% этилового спирта. 1,00 мл полученного раствора переносили в мерную колбу вместимостью 25,0 мл и доводили до метки этиловым спиртом.

В качестве проявляющего реагента при определении 20Е нами был выбран 1% раствор ванилина в 96% этиловом спирте и 10% серная кислота (как наиболее доступный реагент) [2,5,10].

**Приготовление 1% раствора ванилина.** В 100,0 мл 96% этилового спирта растворяли 1,0 г кристаллического ванилина.

**Определение оптимального состава ПФ.** Пластины помещали на нагревательный столик с температурой 60°C. На стартовую линию хроматографических пластин наносили 5 мкл PCO в виде полосы или пятна. В 3 см от первого пятна наносили 5 мкл водно-спиртового извлечения листьев левзеи. Пластины выдерживали на нагревательном столике в течение 15 минут до полного высыхания растворителя.

Пластины помещали в хроматографические камеры и хроматографировали восходящим способом, используя следующие ПФ (указаны объемные соотношения компонентов): этилацетат – 96% этиловый спирт (1:1) и (4:1), бутанол – 96% этиловый спирт – вода (5:1:2), хлороформ – 96% этиловый спирт (4:1), хлороформ-метанол (4:1), дихлорметан – 96% этиловый спирт (5:1), толуол – ацетон – 96% этиловый спирт – аммиак (100:140:32:9), этилацетат – 96% этиловый спирт – вода (16:2:1), хлороформ – 95% этиловый спирт (65:35).

Расстояние от стартовой линии до фронта растворителя составляло не менее 10 см. После хроматографии пластины вынимали из камеры, отмечали границу фронта, сушили на воздухе в течение 15-20 минут до исчезновения запаха растворителя и обрабатывали проявляющим реагентом.

**Определение чувствительности про-**

являющего реагента. Пластины помещали на нагревательный столик с температурой 60°C. На стартовую линию хроматографической пластины в виде полос наносили 1, 5 и 10 мкл РСО. В 3 см от первого пятна наносили 5 мкл раствора стандарта. Пластины выдерживали на нагревательном столике в течение 15 минут до полного высыхания пятен.

Затем пластину помещали в хроматографическую камеру и хроматографировали восходящим способом. Расстояние от стартовой линии до фронта растворителя составляло не менее 10 см. Пластины вынимали из камеры, отмечали границу фронта и сушили на воздухе в течение 15-20 минут до исчезновения запаха растворителя. После этого пластину опрыскивали проявляющим реактивом.

*Подготовка проб с применением твердофазной экстракции.* Для подготовки проб с применением твердофазной экстракции в стеклянную пипетку, заполненную оксидом алюминия, общим объемом 15,0 мл, помещали фильтр из фторопласта и 15,0 г оксида алюминия, затем в вертикальном положении кондиционировали 70% этиловый спирт в количестве 20 мл. Элюат отбрасывали.

Через активированную колонку пропускали 15 мл водно-спиртового извлечения листьев левзеи сафлоровидной. Ранее экспериментальным путем нами было установлено, что 1 г оксида алюминия удерживает 0,56 мл 70% этилового спирта, поэтому первые порции элюата в количестве 8,4 мл отбрасывали (чистый элюент).

После внесения всего объема извлечения в колонку через нее продолжали кондиционировать чистый элюент и собирали элюат в количестве 15 мл. Для ускорения процесса экстракции использовали водоструйный насос. Отобранный элюат дополнительно центрифугировали в закрытой пробирке, чтобы избавиться от частиц оксида алюминия.

*Верификация методики ТСХ-определения.* К 100 мкл спирто-водного извлечения листьев левзеи, очищенного при помощи твердофазной экстракции, добавляли 100 мкл РСО.

Хроматографическую пластину помещали на нагревательный столик с температурой 60°C. На стартовую линию хроматографической пластины в виде полос на расстоянии 3 см наносилось по 1 мкл РСО,

водно-спиртового извлечения листьев левзеи и смеси РСО и водно-спиртового извлечения листьев левзеи.

Затем пластину помещали в хроматографическую камеру и хроматографировали восходящим способом. Расстояние от стартовой линии до фронта растворителя составляло не менее 10 см. Пластины вынимали из камеры, отмечали границу фронта и сушили на воздухе в течение 15-20 минут до исчезновения запаха растворителя. После этого пластину опрыскивали проявляющим реактивом.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

*Определение чувствительности.* При определении порога чувствительности был выбран состав ПФ этилацетат – 96% этиловый спирт – вода (16:2:1) как наиболее простой в изготовлении. Нами было установлено, что 1% раствор ванилина визуальным детектирует 20Е в количестве 10 мкг/пятно. Возможно, порог и выше, но при работе с меньшими количествами РСО возможна маскировка пятна другими компонентами матрицы. Результаты определения чувствительности представлены на рисунке 1.

*Проведение ТСХ.* При разделении неочищенного спирто-водного извлечения листьев левзеи сопутствующие компоненты матрицы делают невозможной четкую идентификацию 20Е. Очистка путем обработки матрицы различными системами растворителей нецелесообразна из-за своей неэкономичности и трудоемкости, а также из-за того, что все предварительные или последующие операции могут при-

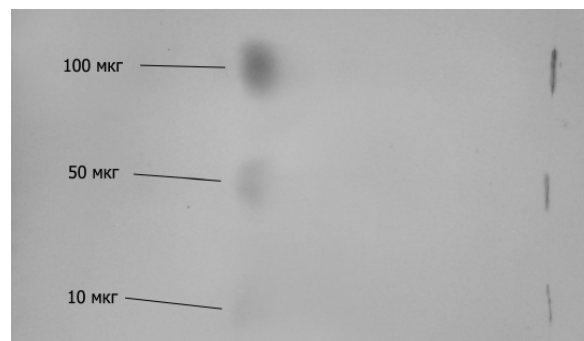


Рисунок 1 – Хроматограмма определения чувствительности проявляющего раствора в системе этилацетат–96% этиловый спирт – вода (16:2:1)

вести к потере части 20E. Учитывая, что зачастую экстракты растительного сырья содержат очень малое количество 20E, велика вероятность в таком случае невозможности определить экистероид вообще, даже при его наличии в растительном сырье. Поэтому для очистки спирто-водного извлечения листьев левзеи сафлоровидной была применена твердофазная экстракция с использованием оксида алюминия.

Ранее нами было экспериментально установлено, что степень сорбции оксидом алюминия 20E невелика и в среднем составляет 6,96%. Используя оксид алюминия в качестве сорбента, устраняются практически все мешающие примеси, особенно фенольной природы.

Таким образом, при ТСХ разделении веществ, содержащихся в очищенном при помощи твердофазной экстракции извлечения из листьев левзеи, наиболее наглядные результаты смогли дать лишь два состава ПФ: толуол – ацетон – 96% этиловый спирт – аммиак (100:140:32:9 об/об/об/об) и этилацетат – 96% этиловый спирт – вода (16:2:1 об/об/об).

Наибольшую эффективность проявлял состав толуол – ацетон – 96% этиловый спирт – аммиак (100:140:32:9 об/об/об/об), главным образом потому, что контуры пятна 20E были более четкими.

Схема разделения в этой системе представлена на рисунке 2.

При использовании данной ПФ на хроматограмме в зоне  $hR_f \approx 39$  обнаруживается пятно грязно-бордового цвета на уровне пятна на хроматограмме свидетеля (20-гидроксизон).

дроксиэкизон).

Также на хроматограмме возможно наличие менее четко выраженных 2 или 3 зон розового цвета и нескольких зон коричневого или коричневатого-серого цвета.

Данные  $R_f$  для этой системы приведены в таблице 1.

Результаты представлены на рисунке 3.

Вторым по эффективности разделения являлся состав этилацетат – 96% этиловый спирт – вода (16:2:1). Схема разделения в этой системе представлена на рисунке 4.

При использовании данной ПФ на хроматограмме в зоне  $hR_f \approx 35$  также обнаруживается пятно грязно-бордового цвета на уровне пятна на хроматограмме свидетеля (20E).

Данные  $R_f$  для этой системы приведены в таблице 2.

Как и в предыдущем случае, на хроматограмме возможно наличие менее четко выраженных зон коричневого или коричневатого-серого цвета.

Результаты представлены на рисунке 5.

Двумерная хроматография в тех же системах (толуол – ацетон – 96% этиловый спирт – аммиак (100:140:32:9 об/об/об/об) и этилацетат – 96% этиловый спирт – вода (16:2:1 об/об/об) дает еще более наглядный результат (рисунок 6).

Несмотря на более сложную методику проведения, при двумерной ТСХ в большей степени устраняется влияние мешающих компонентов, что способствует более надежной идентификации 20E в листьях левзеи сафлоровидной.

Чтобы удостовериться, что определя-

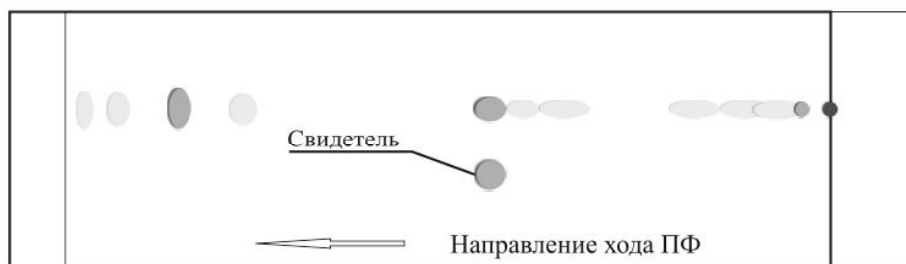


Рисунок 2 – Схема ТСХ разделения веществ, содержащихся в экстракте листьев левзеи в системе толуол – ацетон – 96% этиловый спирт – аммиак (100:140:32:9 об/об/об/об)

Таблица 1 –  $R_f$  20E для системы толуол – ацетон – 96% этиловый спирт – аммиак (100:140:32:9 об/об/об/об)

№ пластин п/п	1	2	3	4	5	6	7	8
$R_f$ образца	37,0	36,0	37,0	40,0	42,6	37,0	44,2	40,5
$R_f$ свидетеля (PCO)	37,5	38,0	36,0	30,6	35,0	42,4	44,7	35,3

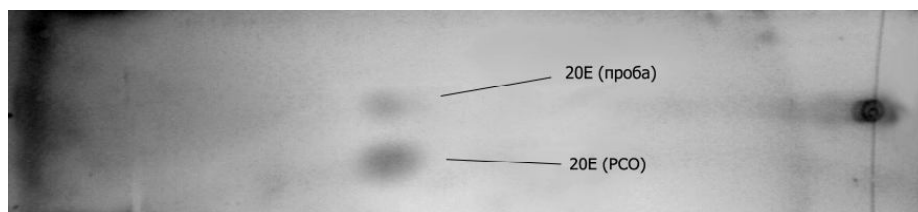


Рисунок 3 – Хроматограмма разделения экстракта листьев левзеи в системе толуол – ацетон – 96% этиловый спирт – аммиак (100:140:32:9 об/об/об/об) со свидетелем (PCO)

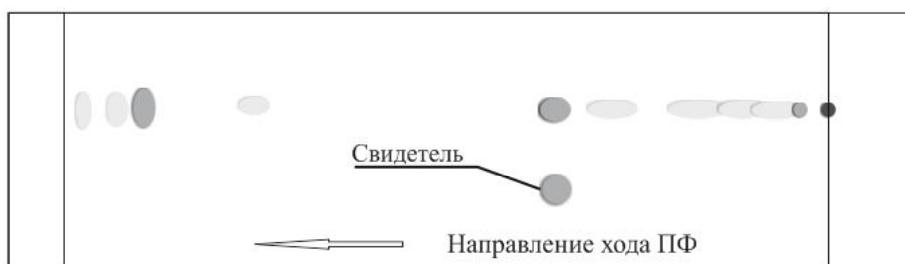


Рисунок 4 – Схема разделения экстракта листьев левзеи на ТСХ в системе этилацетат – 96% этиловый спирт – вода (16:2:1)

Таблица 2 – R<sub>f</sub> 20E этилацетат – 96% этиловый спирт – вода (16:2:1 об/об/об)

№ пластин п/п	1	2	3	4	5	6	7	8
R <sub>f</sub> образца	35,1	35,4	37,0	37,2	31,1	37,0	33,2	33,8
R <sub>f</sub> свидетеля (PCO)	39,2	37,5	37,5	33,5	36,8	41,55	41,6	32,4

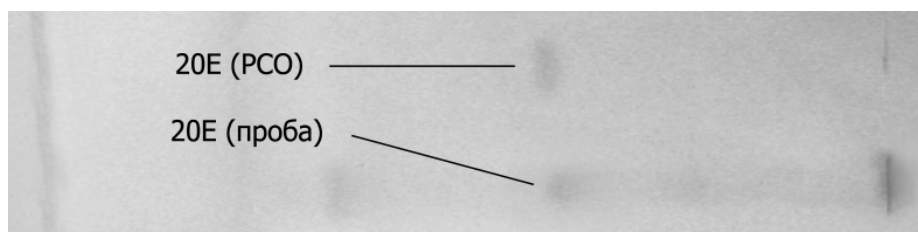


Рисунок 5 – Хроматограмма разделения экстракта листьев левзеи в системе этилацетат – 96% этиловый спирт – вода (16:2:1 об/об/об) со свидетелем (PCO)

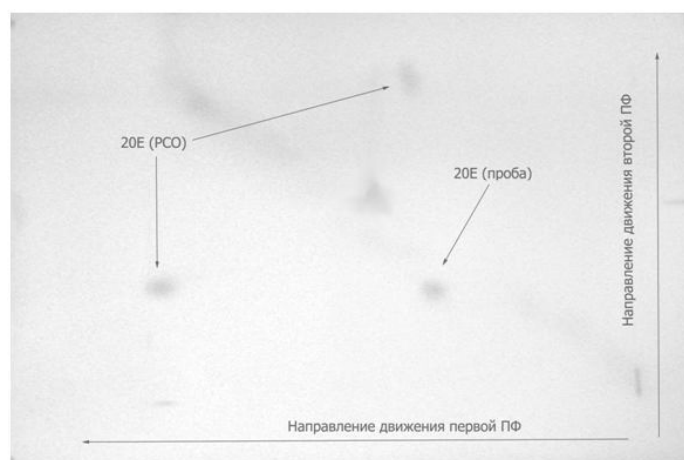


Рисунок 6 – Хроматограмма двумерного разделения экстракта листьев левзеи в системах этилацетат – 96% этиловый спирт – вода (16:2:1 об/об/об) и толуол – ацетон – 96% этиловый спирт – аммиак (100:140:32:9 об/об/об/об)

емое вещество действительно 20E, нами проведен эксперимент по установлению специфичности методики. Эксперимент заключался в добавлении к спирто-водному извлечению листьев левзеи определенного количества РСО и сравнения результатов ТСХ с хроматограммой РСО и извлечения листьев левзеи (метод доба-

вок) [19].

Результаты представлены на рисунке 7.

Как видно из рисунка, разделение пятен РСО и спирто-водного извлечения листьев левзеи отсутствует:  $hR_f$  всех трех образцов совпадает, что может служить подтверждением специфичности методики.

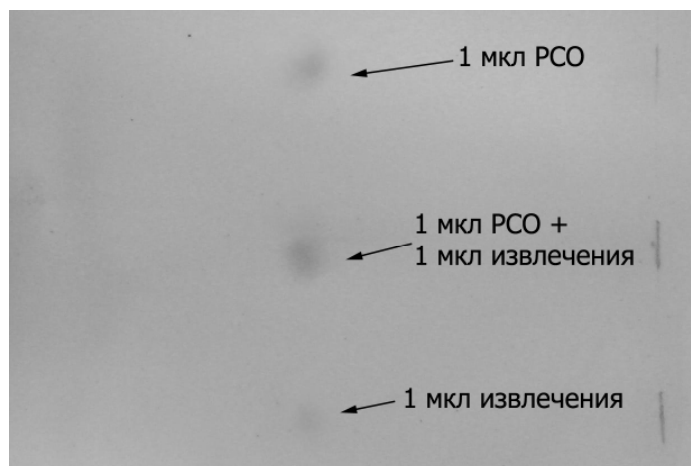


Рисунок 7 – Хроматограмма результатов подтверждения специфичности определения 20E в спирто-водном извлечении листьев левзеи. ПФ – этилацетат – 96% этиловый спирт – вода (16:2:1 об/об/об)

### ВЫВОДЫ

Таким образом, нами определены составы ПФ, которые позволили наиболее эффективно провести ТСХ разделение веществ, содержащихся в спирто-водном извлечении листьев левзеи сафлоровидной. Это толуол – ацетон – 96% этиловый спирт – аммиак (100:140:32:9 об/об/об/об) и этилацетат – 96% этиловый спирт – вода (16:2:1 об/об/об). Наиболее оптимальным в использовании проявляющем реагентом является 1% раствор ванилина в 96% этиловом спирте – как по доступности, так и по чувствительности.

При определении порога чувствительности установлено, что 1% раствор ванилина визуалью детектирует 20E в количестве 10 мкг/пятно.

Перед проведением ТСХ необходимо использовать очистку спирто-водного извлечения листьев левзеи методом твердофазной экстракции при помощи оксида алюминия.

При использовании для разделения подвижной фазы состава толуол – ацетон – 96% этиловый спирт – аммиак (100:140:32:9 об/об/об/об)  $hR_f$  составил

≈39. При использовании подвижной фазы состава этилацетат – 96% этиловый спирт – вода (16:2:1 об/об/об)  $hR_f$  составил ≈35.

Использование двумерной ТСХ позволяет более надежно идентифицировать 20E в листьях левзеи сафлоровидной. Подтверждена специфичность методики.

### SUMMARY

A.A. Karusevich, G.N. Buzuk  
THE USE OF ALUMINIUM  
OXYDE AT IDENTIFICATION OF  
20-HYDROXYECDYZONE IN LEAVES  
OF LEUZEIA CARTHAMOIDES BY  
MEANS OF THIN LAYER CHROMA-  
TOGRAPHY

The identification method of 20-hydroxyecdysone (20E) in an aqueous-alcoholic extract of leaves of *Leuzea carthamoides* (*Rhaponticum carthamoides*) by a method of thin layer chromatography (TLC) is offered. The determination of phytoecdysteroid (PES) was carried out by 1 % solution of vanillin in ethanol in the presence of sulfuric acid. The limit determination of a showing reactant for the given method – 10 mkg 20E is established. It is also established that two mobile

phases (MP) possess the optimal structure: toluene - acetone – 96% ethanol solution – ammonia solution (100:140:32:9 v/v/v/v) and ethyl acetate – 96% ethanol solution – water (16:2:1 v/v/v). Are established hRf 20E for the given systems. Removal stirring components of a matrix it was carried out by solid phase extraction on aluminium oxyde.

Keywords: thin layer chromatography, 20-hydroxyecdysone, *Leuzea carthamoides*.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Фитоэкдистероиды / Л.И. Алексеева [и др.]; под общ. ред. В.В. Володина. – СПб.: Наука, 2003. – 293 с.
2. Герег, Ш. Количественный анализ стероидов / Ш. Герег. Пер. с англ. М. – «Мир» – 1985. – 504 с.
3. Рапонтикум сафлоровидный – *Rhaponticum carthamoides* (wild.) iljin. (левзея сафлоровидная – *Leuzea carthamoides* DS.) / Лекарственные растения, разрешенные для производства ГЛС: Лекарственные растения Государственной Фармакопеи; под ред. И.А. Самылиной, В.А. Северцева. – М.: АНМИ. – 2001. – С. 369-373.
4. Тимофеев, Н.П. Накопление и сохранность 20-гидроксиэкдизона в лекарственном сырье левзеи / Н.П. Тимофеев // Актуальные проблемы инноваций с нетрадиционными растительными ресурсами. Мат. докл. 1-ой Рос. научно-практ. конф. [Электронный ресурс]. – 2001. – Режим доступа: [http://chem.kstu.ru/butlerov\\_comm/vol2/cd-a2/data/jchem&cs/russian/n5/1vr25/25.htm](http://chem.kstu.ru/butlerov_comm/vol2/cd-a2/data/jchem&cs/russian/n5/1vr25/25.htm). – Дата доступа: 04.10.2011.
5. Идентификация 20-гидроксиэкдизона в гемолимфе *Paralitodes camtschatica* (Lithodidae) и соцветиях *Serratula coronata* Var. *Manshurica* (Asteraceae) / В.Г. Рыбин [и др.] // Известия Тихоокеанского научно-исследовательского рыбохозяйственного центра. – 2001. – Т.129. – С.14-22.
6. Лагунова, О.Н. Новый препарат из левзеи сафлоровидной – «Биоинфузин» / О.Н. Лагунова, А.А. Ивановский // Биотехнология, экология, медицина: материалы III–IV Международных научных семинаров 2001-2002. / Под редакцией д.т.н. А.Ф. Труфанова. // Москва-Киров: экспресс. – 2002. – С.34-36.
7. Контроль производства экдистерона / М.Р. Якубова [и др.] // Химия природных соединений. – 1983. – №5. – С.322-324.
8. Гемореологическая активность экдистерона и различных фракций экстракта из наземной части *Lichnis chalcedonica* L., in vitro / М.Б. Плотников [и др.] // Растительные ресурсы. – 2000. – Вып.3 – С.91–94.
9. Биологическая активность двух кормовых добавок, содержащих экдистероиды *Serratula coronata* L. / В.Г. Зайнуллин [и др.] // Растительные ресурсы. – 2003. – Вып.2. – С.95-103.
10. Выделение и анализ природных биологически активных веществ / Е.А. Краснов [и др.]; под общ. ред. Е.Е. Сироткиной. – Томск: Издательство Томского университета, 1987. – 184 с.
11. Использование ВЭЖХ-масс-спектрометрии в анализе биологически активных веществ из морских источников / В.И. Высоккий [и др.] // Известия Тихоокеанского научно-исследовательского рыбохозяйственного центра. – 2001. – Т.129. – С.52–61.
12. Ивановский, А.А. Экдистероиды / А.А. Ивановский, Н.П. Тимофеев // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. – 2005. – №6. – №3. – С.1–4.
13. Алексеева, Л.А. Метод концентрирования минорных гидрофобных экдистероидов с использованием фронтальной хроматографии / Л.А. Алексеева, В.В. Володин, В.Г. Лукша // Растительные ресурсы. – 2000. – Вып.4. – С.122-127.
14. Дремова, Е.А. Фитохимическое исследование левзеи сафлоровидной (*Leuzea carthamoides* (Willd.) Iljin): автореф. ... дис. канд. фарм. наук: 15.00.02 / Е.А. Дремова; Самарский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию. – Самара, 2007. – 26 с.
15. Bathori, M. Separation Methods for Phytoecdysteroids / M. Bathori, H. Kalasz // LC GC Europe. – 2001. – P. 2-7.
16. Toth, N. Preparative-Scale Chromatography of Ecdysteroids: A Class of Biologically Active Steroids / N. Toth, M. Bathori // Journal of Chromatographic Science. – 2008. – Vol. 46. – P. 111-116.
17. Влияние экдистерона на биосинтез белков и нуклеиновых кислот в органах мышц / И.Н. Тодоров [и др.] // Химико-фармацевтический журнал. – 2000. – 34 т. – №9. – С. 3-5.
18. Идентификация 20-гидроксиэкдизона в гемолимфе *Paralitodes camtschatica* (Lithodidae) и соцветиях *Serratula coronata* Var. *Manshurica* (Asteraceae) / В.Г. Рыбин

[и др.] // Известия Тихоокеанского научно-исследовательского рыбохозяйственного центра. – 2001. – Т.129. – С.14-22.

19. Государственная фармакопея Республики Беларусь. Т.1. Общие методы контроля качества лекарственных средств / Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении // Под общ. ред. Г.В. Годовальникова – Минск: Минский госуд. ПТК полиграфии. – 2006. – 656 с.

***Адрес для корреспонденции:***

*210023, Республика Беларусь,  
г. Витебск, пр. Фрунзе, 27,  
Витебский государственный  
медицинский университет,  
кафедра организации и экономики  
фармации с курсом ФПК и ПК,  
тел. раб.: 8 (0212) 24-94-38.  
Карусевич А.А.*

*Поступила 12.10.2011 г.*