

1 – Пятигорский
медико-фармацевтический
институт – филиал
ГБОУ ВПО ВолгГМУ
Минздрава России,
357532, Россия,
Ставропольский край,
г. Пятигорск,
пр. Калинина, 11

1 – Pyatigorsk Medical and
Pharmaceutical Institute –
a branch of SEI HPE
Volgograd State Medical
University, Russian Ministry
of Health, 11, Kalinina av.,
Pyatigorsk, 357532, Russia

* адресат для переписки:
E-mail: n.n.krylov@mail.ru
Тел.: 8 (961) 477 72 71

РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИОННАЯ ОЦЕНКА МЕТОДИКИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СУММЫ ФЛАВОНОИДОВ В ТАБЛЕТКАХ НООТРОПНОГО ДЕЙСТВИЯ

Н.Н. Крылов^{1*}, Е. В. Компанцева¹

Резюме. Представлены результаты разработки методики определения суммы флавоноидов в таблетках, содержащих сухие экстракты гинкго двулопастного и лабазника вязолистного, методом дифференциальной спектрофотометрии. Предварительно определено содержание суммы флавоноидов в листьях гинкго двулопастного и траве лабазника вязолистного, представленных ООО «Витаукт-пром». Разработана методика количественного определения суммы флавоноидов в сухих экстрактах из данного сырья и таблетках «Гинкготропил-форте». Обоснована норма содержания суммы флавоноидов в таблетках «Гинкготропил-форте» не менее 6 мг в пересчете на среднюю массу таблетки. Проведенная валидационная оценка показала, что предлагаемая методика валидна по показателям: специфичность, линейность, прецизионность и правильность.

Ключевые слова: таблетки, флавоноиды, гинкго двулопастный, лабазник вязолистный, валидация, дифференциальная спектрофотометрия.

METHOD DEVELOPMENT AND VALIDATION OF TOTAL FLAVONOIDS ASSAY IN TABLETS WITH NOOTROPIC ACTION

N.N. Krylov^{1*}, E.V. Kompantseva¹

Abstract. Results of development of differential spectrophotometry method for determination of the total flavonoids assay in tablets containing dry extracts of ginkgo biloba are presented. Total flavonoid assay in leaves of ginkgo biloba and grass meadowsweet is preliminary presented by LLC «Vitaukt-Prom». The assay method for the sum of flavonoids in the dry extracts from this raw material and tablets «Ginkgotropil-forte» is developed. Justification of limit of flavonoid content in tablets «Ginkgotropil-forte» is presented and the limit is not less than 6 mg, based on the average weight of the tablet. The proposed method was validated for specificity, linearity, precision and accuracy.

Keywords: tablets, flavonoids, ginkgo biloba, meadowsweet, validation, differential spectrophotometry.

ВВЕДЕНИЕ

Предприятие ООО «Витаукт-пром» выпускает биологически активную добавку к пище (БАД) «Гинкготропил», в состав которой входят микронизированные порошки листьев гинкго двулопастного, травы лабазника вязолистного, комплексный экстракт этих растений, а также глицин и кислоты янтарная [1]. В результате применения БАД встал вопрос о разработке более эффективного ноотропного лекарственного препарата. Нами был предложен лекарственный препарат «Гинкготропил-форте», таблетки сублингвальные [2, 3], в состав которого входят сухие экстракты листьев гинкго двулопастного и травы лабазника вязолистного, а также субстанции глицина и кислоты янтарной. При разработке НД на лекарственный препарат необходимо решать вопрос, связанный с обоснованием методик анализа и норм его качества. В литературе и нормативной документации не найдены методики анализа биологически активных веществ (БАВ) гинкго двуло-

пастного и лабазника вязолистного при совместном присутствии [2].

В соответствии с ФС на листья гинкго двулопастного и сухой экстракт из них, включенными в Британскую и Европейскую фармакопеи, фармакопеи Республики Беларусь и США, сумму флавоноидов определяют методом ВЭЖХ в пересчете на СО кверцетина после кислотного гидролиза [4-7]. Однако согласно Государственной фармакопее Российской Федерации XIII издания (2015 г.) и ФСП 42-7870-06 («Сухой экстракт из листьев гинкго двулопастного») стандартизацию листьев гинкго двулопастного и соответственно сухого экстракта проводят по содержанию суммы флавоноидов методом дифференциальной спектрофотометрии по реакции образования комплексного соединения с алюминия хлоридом в пересчете на СО рутина [8, 9]. В работе Д.Г. Буланкина по стандартизации и разработке лекарственных средств на основе листьев гинкго двулопастного также приводится аналогичная методика [10].

В Британскую, Европейскую фармакопеи и ГФ Республики Беларусь включены ФС на траву лабазника вязолистного, в которых стандартизация данного сырья проводится методом перегонки по содержанию эфирного масла, которого должно быть в сырье не менее 1 мл/кг. В Европейскую фармакопею и ГФ Республики Беларусь включены ФС и на цветки лабазника вязолистного, стандартизация которых, так же как и в ВФС 42-1777-87 «Цветки лабазника вязолистного», ведется по сумме флавоноидов в пересчете на спиреозид методом дифференциальной спектрофотометрии [4–7, 11].

И.В. Шиловой проведена работа по стандартизации травы лабазника вязолистного и сухого экстракта на его основе, ей предложена методика определения основных БАВ – флавоноидов методом дифференциальной спектрофотометрии по реакции образования комплексного соединения с алюминия хлоридом после кислотного гидролиза, где расчет содержания ведется в пересчете на кверцетин [12], однако данная методика требует длительной пробоподготовки сырья перед анализом.

Таким образом, в нормативных документах РФ и литературе имеются данные о возможности определения суммы флавоноидов как в сырье, так и в экстракте листьев гинкго двулопастного методом дифференциальной спектрофотометрии, а также в цветках лабазника вязолистного – без предварительного кислотного гидролиза. В связи с этим представляет интерес изучение возможности определения суммы флавоноидов методом дифференциальной спектрофотометрии без предварительного кислотного гидролиза в траве лабазника вязолистного, а также в сухих экстрактах листьев гинкго двулопастного и травы лабазника вязолистного, полученных нами. Известно, что спиреозид (основной флавоноид лабазника вязолистного), как и рутин, является О-гликозидом кверцетина, отличается положением сахарной части в молекуле флавоноида и ее строением. В связи с этим спиртовые растворы как рутин, так и спиреозида имеют почти одинаковые максимумы светопоглощения [13]. Это может послужить основанием для определения суммы флавоноидов методом дифференциальной спектрофотометрии в пересчете на рутин в названных экстрактах при их совместном присутствии.

Целью настоящего исследования является разработка методики определения суммы флавоноидов в таблетках, содержащих сухие экстракты гинкго двулопастного и лабазника вязолистного, методом дифференциальной спектрофотометрии и ее валидация.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для исследования использовали СО рутин (рутин гидрат, субстанция-порошок, содержание рутина 95%, Sigma-Aldrich, США, серия МКBR4390R, годен до 10.18), образцы сырья: измельченные сухие листья

гинкго двулопастного и трава лабазника вязолистного, предоставленные предприятием ООО «Витаукт-пром», а также сухие экстракты из данного сырья, полученные на кафедре технологии лекарств, образцы таблеток разрабатываемого препарата ноотропного действия «Гинготропил-форте» (экспериментальная серия от 27.11.14) [2].

Работа проводилась с использованием спектрофотометра СФ-104 (ЗАО «Аквилон», Россия), СФ-2000 (ОКБ «Спектр», Россия).

Для определения суммы флавоноидов в листьях гинкго двулопастного и траве лабазника вязолистного использовали методику ФС.2.5.0010.15 «Гинкго двулопастного листа». Около 1,0 г (точная навеска) измельченного сырья помещали в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, приливали 30 мл спирта 70% и взвешивали с точностью до $\pm 0,01$ г. Колбу с содержимым присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на кипящей водяной бане в течение 1 ч. После охлаждения до комнатной температуры колбу взвешивали, доводили ее содержимое спиртом 70% до первоначальной массы, перемешивали и фильтровали через бумажный фильтр «красная лента» (раствор А испытуемого раствора).

1 мл раствора А испытуемого раствора помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляли 2 мл алюминия хлорида спиртового раствора 2% и 1 каплю уксусной кислоты разбавленной 30%, доводили объем раствора спиртом 96% до метки и перемешивали (раствор Б).

Оптическую плотность раствора Б измеряли через 40 мин на спектрофотометре при длине волны 406 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения использовали раствор, состоящий из 1 мл раствора А испытуемого раствора, 1 капли уксусной кислоты разбавленной 30%, доведенный спиртом 96% до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Параллельно измеряли оптическую плотность раствора СО рутин, приготовленного аналогично испытуемому раствору (с 1 мл 0,05% раствора СО рутина). В качестве раствора сравнения использовали раствор, состоящий из 1 мл 0,05% раствора СО рутина, 1 капли уксусной кислоты разбавленной 30%, доведенный спиртом 96% до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в абсолютно сухом сырье (или сухом экстракте) в процентах (X) вычисляли по формуле:

$$X = \frac{A_x \cdot a_0 \cdot 1 \cdot W_x \cdot 25 \cdot P \cdot 100 \cdot 100}{A_0 \cdot W_{CT} \cdot 25 \cdot a \cdot 1 \cdot 100 \cdot (100 - W)} = \frac{A_x \cdot a_0 \cdot W_x \cdot P \cdot 100}{A_0 \cdot W_{CT} \cdot a \cdot (100 - W)}, \quad (1)$$

где A_x – оптическая плотность испытуемого раствора; A_0 – оптическая плотность раствора СО рутин;

a – навеска сырья/экстракта, г; a_0 – навеска СО рутина, г; P – содержание основного вещества в СО рутина, %; W – влажность сырья(экстракта), %; W_x, W_{CT} – объем приготовленного извлечения и исходного раствора СО рутина, мл.

Методика определения суммы флавоноидов в сухих экстрактах из листьев гинкго двулопастного и травы лабазника вязолистного. Около 0,1 г (точная навеска) сухого экстракта помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, приливали 15 мл спирта 70%. Колбу с содержимым нагревали на кипящей водяной бане в течение 5 мин. После охлаждения до комнатной температуры содержимое колбы доводили спиртом 70% до метки, перемешивали и фильтровали через бумажный фильтр «красная лента» (раствор А испытуемого раствора). Далее поступали как описано в методике выше. Содержание в процентах суммы флавоноидов в экстракте в пересчете на рутин (X) вычисляли по формуле 1.

Методика определения суммы флавоноидов в таблетках. Около 0,5 г (точная навеска) измельченной массы растертых таблеток помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, приливали 15 мл спирта 70%. Колбу с содержимым нагревали на кипящей водяной бане в течение 5 мин. После охлаждения до комнатной температуры содержимое колбы доводили спиртом 70% до метки, перемешивали и фильтровали через бумажный фильтр «красная лента» (раствор А испытуемого раствора). Далее поступали как описано в методике выше.

Содержание в граммах суммы флавоноидов в пересчете на рутин (X) вычисляли по формуле 2:

$$X = \frac{A_x \cdot a_0 \cdot 1 \cdot 25 \cdot 25 \cdot P}{A_0 \cdot 50 \cdot 25 \cdot a_x \cdot 1} = \frac{A_x \cdot a_0 \cdot P}{A_0 \cdot 2 \cdot a_x}, \quad (2)$$

где $A_x; A_0; a_0$ – см. обозначения в вышеприведенной формуле; a_x – навеска массы растертых таблеток, г; P – средняя масса таблеток, г.

Приготовление модельной смеси таблеток

Приготавливали 10 г модельной смеси таблеток, используя точные навески в пересчете на состав таблеток: сухой экстракт листьев гинкго двулопастного и сухой экстракт травы лабазника вязолистного – по 0,0300 г, глицин – 0,1000 г, кислота янтарная – 0,0200 г, вспомогательные компоненты (аспавит, полипласдон XL 10, кальция стеарат, коллидон-90) – 0,0300 г.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Предварительно нами были проанализированы извлечения из листьев гинкго двулопастного и травы лабазника вязолистного по методике, описанной выше. В соответствии с предложенной методикой изме-

рены спектры поглощения извлечений и СО рутина с 2% спиртовым раствором алюминия хлорида (рисунок 1).

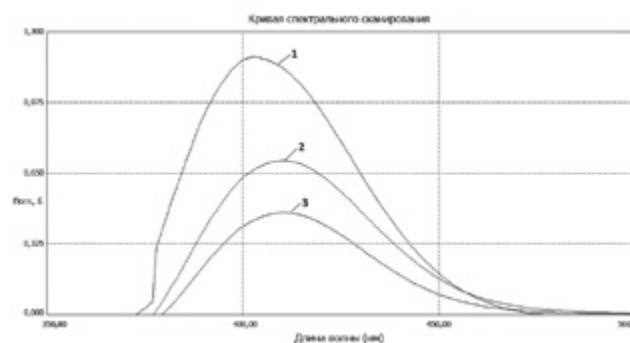


Рисунок 1. Спектры поглощения извлечения из листьев гинкго двулопастного (1), травы лабазника вязолистного (2) и раствора СО рутина (3) с алюминия хлоридом

Из приведенных данных (рисунок 1) следует, что максимум спектра поглощения извлечения листьев гинкго двулопастного находится при длине волны 406 нм, в то время как максимумы спектров поглощения раствора СО рутина и извлечения травы лабазника вязолистного находятся при длине волны 410 нм. Очевидно, что данную методику можно использовать для определения суммы флавоноидов травы лабазника вязолистного в пересчете на рутин. По данной методике нами было проанализировано сырье разного года сбора, статистически обработанные результаты количественного определения представлены в таблице 1.

Таблица 1.

Результаты количественного определения суммы флавоноидов: сырье разного года сбора (n=6)

| Наименование сырья | Найдено суммы флавоноидов, год сбора | | |
|------------------------------|--------------------------------------|-----------|-----------|
| | 2012 | 2013 | 2014 |
| Листья гинкго двулопастного | 3,76±0,06 | 3,40±0,06 | 3,02±0,08 |
| Трава лабазника вязолистного | 2,42±0,07 | 2,32±0,12 | 2,53±0,09 |

Согласно ФС.2.5.0010.15 в листьях гинкго двулопастного содержание суммы флавоноидов должно быть не менее 0,5%, то есть используемое сырье независимо от времени сбора удовлетворяет требованиям настоящей ФС (таблица 1).

В соответствии с используемой методикой нами были проанализированы сухие экстракты, которые были получены на кафедре технологии лекарств из сырья, предоставленного ООО «Витаукт-пром», методом реперколяции спиртом этиловым 70% с последующей

сушкой под вакуумом при температуре 50 °С [2, 3]. Данные экстракты являются суммарными извлечениями, основными БАВ являются флавоноиды. В связи с тем, что по данной технологии экстракты получены впервые, представляет интерес задача определения содержания в них суммы флавоноидов и установления предварительных норм качества. Спектры поглощения растворов сухих экстрактов, полученных по методике, описанной выше, а также смеси экстрактов в соотношении 1:1 представлены на рисунке 2.

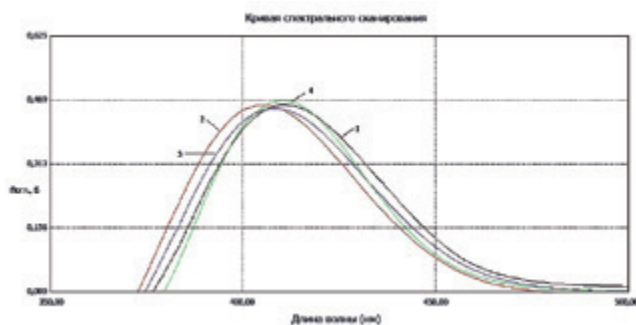


Рисунок 2. Спектры поглощения сухого экстракта листьев гинкго двулопастного (1), сухого экстракта травы лабазника вязолистного (2), смесь сухих экстрактов 1:1 (3) и раствора СО рутина (4) с алюминия хлоридом

Из приведенных данных следует, что спектры поглощения сухих экстрактов аналогичны спектрам извлечений из сырья, а максимум спектра поглощения смеси сухих экстрактов соответствует 408 нм, что еще раз может свидетельствовать о пригодности данной методики для анализа суммы флавоноидов в экстрактах гинкго двулопастного и травы лабазника вязолистного при совместном присутствии. Предварительно нами были подобраны оптимальные условия извлечения суммы флавоноидов из экстрактов. Оценку проводили по параметру влияния времени экстракции при нагревании и перемешивании: исходя из полученных данных, оптимальным, на наш взгляд, является экстракция при нагревании в течение 5 мин на водяной бане.

Статистически обработанные результаты шести параллельных определений содержания суммы флавоноидов в сухих экстрактах, полученных на кафедре технологии лекарств из данного сырья, представлены в таблице 2.

Из представленных результатов (таблица 2) можно предложить следующие нормы качества полученных сухих экстрактов: содержание суммы флавоноидов – не менее 11%. Очевидно, что для таблеток «Гинкготропил-форте», в которых сухие экстракты содержатся в количестве по 0,03 г [2], содержание суммы флавоноидов должно быть не менее 0,066 г в пересчете на среднюю массу таблетки.

Таблица 2.

Результаты определения суммы флавоноидов в сухих экстрактах

| | Найдено суммы флавоноидов, год производства | | |
|--|---|------------|------------|
| | 2012 | 2013 | 2014 |
| Сухой экстракт из листьев гинкго двулопастного | 12,74±0,13 | 12,34±0,12 | 11,92±0,08 |
| Сухой экстракт из травы лабазника вязолистного | 12,18±0,08 | 11,58±0,07 | 11,95±0,10 |

Полученные оптимальные условия извлечения суммы флавоноидов из сухих экстрактов были использованы нами и для их извлечения из разработанных таблеток.

Следующим этапом исследования было проведение валидационной оценки разработанной методики по показателям: специфичность, линейность, прецизионность и правильность [14, 15].

Для валидируемой методики количественного определения должно быть экспериментально подтверждено, что присутствие сопутствующих компонентов не влияет непредусмотренным образом на результат анализа [14]. Оценку специфичности валидируемой методики проводили путем анализа модельных смесей таблеток известного состава. Предварительно был измерен спектр поглощения извлечения из таблеток, приготовленных без смеси сухих экстрактов, при этом наблюдалось отсутствие полосы поглощения в области от 400 до 450 нм, то есть вспомогательные вещества, а также глицин и кислота янтарная не мешают определению суммы флавоноидов.

Модельная смесь таблеток проанализирована по методике, описанной выше. Исходя из содержания суммы флавоноидов конкретных экстрактов (см. таблицу 3, 2014 г.), содержание суммы флавоноидов в модельной смеси должно быть в пределах 0,0072 г. Статистически обработанные результаты шести параллельных определений представлены в таблице 3.

Линейность методики определяли по итогам анализа серии растворов из таблеток «Гинкготропил-форте». Для этого готовили растворы по методике, указанной выше, и на анализ отмеривали 0,5; 0,75; 1,0; 1,25 и 1,5 мл испытуемого раствора А. На рисунке 3 представлен график зависимости оптической плотности от содержания флавоноидов в растворе.

Критерием приемлемости линейности является коэффициент корреляции $r \geq 0,99$, который составил 0,9995.

Таблица 3.

Результаты определения суммы флавоноидов в модельной смеси таблеток ($A_{ст}=0,470$)

| Взято порошка таблеток модельной смеси, г | A_x | Найдено X , г | Метрологические характеристики |
|---|-------|-----------------|---|
| 0,4940 | 0,614 | 0,00705 | $\bar{X}=0,00720$ г $S=8,24 \cdot 10^{-5}$ $S_{\bar{X}}=3,36 \cdot 10^{-5}$ $\Delta\bar{X}=8,64 \cdot 10^{-5}$ $\varepsilon = \pm 1,20\%$ |
| 0,4984 | 0,636 | 0,00723 | |
| 0,5000 | 0,634 | 0,00719 | |
| 0,4996 | 0,642 | 0,00730 | |
| 0,5024 | 0,636 | 0,00719 | |
| 0,5080 | 0,646 | 0,00722 | |

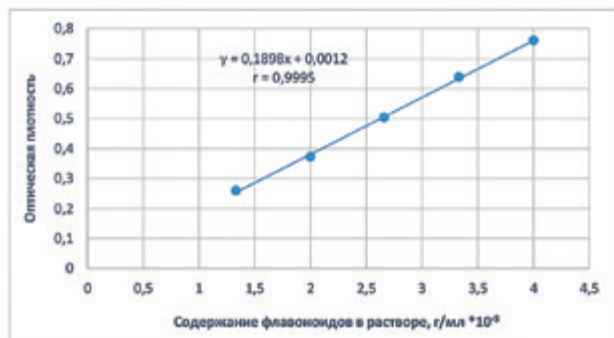


Рисунок 3. График зависимости величины оптической плотности от содержания флавоноидов в растворе

Полученные результаты свидетельствуют о том, что разработанная нами методика специфична.

Полученное уравнение ($y=0,1898x+0,0012$) позволяет сделать вывод о наличии линейной зависимости величины оптической плотности от концентрации флавоноидов в области концентраций от $1,33 \times 10^{-5}$ до 4×10^{-5} г/мл. Правильность методики рассматривали как результат изучения линейности: если свободный член в уравнении статистически достоверно не отличается от нуля, то использование такой методики дает результаты, свободные от систематической ошибки. Согласно статистической обработке полученного уравнения коэффициент **b** имеет доверительный интервал 0,0105, а свободный член **a** значимо не отличается от нуля, т.к. его доверительный интервал равен 0,0297 ($0,0012 \pm 0,0297$). Ввиду того, что свободный член **a**=0, уравнение принимает вид $y=0,1902x$ и предлагаемая методика неотягощена систематической погрешностью [14, 15].

Таким образом, данная методика является линейной и правильной.

Определение критерия прецизионности (сходимости) проводили на 6 параллельных определениях экспериментальной серии таблеток от 27.11.14 (таблица 4).

Таблица 4.

Результаты определения прецизионности методики количественного определения суммы флавоноидов в таблетках ($A_{ст}=0,470$)

| Масса растертых таблеток, г | A_x | X , г | Метрологические характеристики |
|-----------------------------|-------|---------|---|
| 0,5010 | 0,640 | 0,00725 | $\bar{X}=0,00715$ г $SD=1,05 \cdot 10^{-4}$ $RSD= \pm 1,54\%$ |
| 0,4990 | 0,619 | 0,00704 | |
| 0,5012 | 0,627 | 0,00710 | |
| 0,5024 | 0,646 | 0,00730 | |
| 0,4980 | 0,620 | 0,00706 | |
| 0,5004 | 0,630 | 0,00714 | |

Критерии сходимости имеют значения $SD=1,05 \times 10^{-4}$, а $RSD=\pm 1,54\%$, что соответствует требуемому значению – не более 2,7% [16].

Определение промежуточной (внутрилабораторной) прецизионности проводили два аналитика и в разные дни на двух спектрофотометрах, СФ-104 и СФ-2000 (таблица 5).

Таблица 5.

Результаты определения промежуточной прецизионности методики количественного определения суммы флавоноидов в таблетках ($A_{ст}=0,470$), $n=6$

| | Прибор | Аналитик | Найдено | | |
|--------|---------|------------|---------------|----------------------|------|
| | | | \bar{X} , г | SD | RSD |
| День 1 | СФ-104 | Аналитик 1 | 0,00718 | $0,94 \cdot 10^{-4}$ | 1,34 |
| | СФ-2000 | Аналитик 2 | 0,00718 | $1,34 \cdot 10^{-4}$ | 1,95 |
| День 2 | СФ-2000 | Аналитик 1 | 0,00713 | $1,53 \cdot 10^{-4}$ | 2,25 |
| | СФ-104 | Аналитик 2 | 0,00715 | $0,94 \cdot 10^{-4}$ | 1,38 |

Полученные результаты определения промежуточной прецизионности соответствуют требуемому значению – не более 2,7% [16].

Таким образом, предлагаемая методика валидна по критериям: специфичность, линейность, правильность и прецизионность, что позволяет ее рекомендовать для определения суммы флавоноидов в таблетках «Гинкготропил-форте».

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Методика, предложенная ФС.2.5.0010.15 «Гинкго двулопастного листа», позволяет также определить сумму флавоноидов в траве лабазника вязолистного в пересчете на рутин. С помощью данной методики определено содержание суммы флавоноидов в листьях гинкго двулопастного и траве лабазника вязолистного, представленных ООО «Витаукт-пром».

Разработана методика количественного определения суммы флавоноидов в сухих экстрактах из данного сырья и таблетках «Гинкготропил-форте». Анализ сухих экстрактов, полученных на кафедре технологии лекарств ПМФИ, позволяет предложить предварительную норму содержания суммы флавоноидов в экстрактах: не менее 11%.

Обоснована норма содержания суммы флавоноидов в таблетках «Гинкготропил-форте» – не менее 6 мг в пересчете на среднюю массу таблетки. Проведенная валидационная оценка показала, что предлагаемая методика валидна по показателям: специфичность, линейность, прецизионность и правильность.

ЛИТЕРАТУРА

1. Описание препарата «Гинкготропил». URL: <http://vitauct.ru/produktsiya/vsya-produktsiya/ginkgotropil-ginkgotropil-detail.html> (дата обращения 24.04.2016).
2. Н.Н. Крылов, Е.В. Компанцева, А.М. Шевченко. Обоснование состава и методик анализа сублингвальных таблеток на основе экстрактов гинкго, лабазника, глицина и янтарной кислоты // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2015. № 1. С. 84–91.
3. А.М. Шевченко и др. Технологические аспекты разработки сублингвальных таблеток «Гинкготропил-форте» // Фармацевтический кластер как интеграция науки, образования и производства: сб. материалов 5-й Международной научно-практической телеконференции. 17 апреля 2015 г. – Белгород, 2015. С. 210–216.
4. British Pharmacopoeia 2009. V. II. – London: The Stationery Office, 2009. 10952 p.
5. European Pharmacopoeia, 8th edition. – Strasbourg: Directorate for the Quality of Medicines and Health Care of the Council of Europe (EDQM), 2012.
6. Государственная фармакопея Республики Беларусь. Т. 2 / УП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении»; под общ. ред. А.А. Шерякова. – Молодечно: Победа, 2008. 472 с.
7. Фармакопея США: USP 29: в 2 т.: пер. с англ. Т. 1. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. 1720 с.
8. ФС.2.5.0010.15. Гинкго двулопастного листа // Государственная фармакопея Российской Федерации. 13-е изд. Т. 3. – М., 2015. URL: http://193.232.7.120/feml/clinical_ref/pharmacopoeia_3/HTML/#374 (дата обращения 27.03.2016).
9. ФСП 42-7870-06. Гинкго двулопастного экстракт сухой / ЗАО «Эвалар».
10. Д.Г. Буланкин. Исследование по стандартизации и разработке лекарственных средств на основе листьев гинкго двулопастного (*Ginkgo biloba* L.): автореф. дисс. ... канд. фарм. наук. – Самара. 2011. 23 с.
11. ВФС 42-1777-87. Цветки лабазника вязолистного. – М. 1987. 8 с.
12. И.В. Шилова, И.А. Самылина, Н.И. Сулов и др. Разработка ноотропных средств на основе растений Сибири. – Томск: Печатная мануфактура, 2013. 267 с.
13. Л.К. Клышев, В.А. Бандюкова, Л.С. Алюкина. Флавоноиды растений. – Алма-Ата, 1978. 220 с.
14. ОФС.1.1.0012.15. Валидация аналитических методик // Государственная фармакопея Российской Федерации. 13-е изд. Т. 1. – М. 2015.
15. ОФС.1.1.0013.15. Статистическая обработка результатов химического эксперимента // Государственная фармакопея Российской Федерации. 13-е изд. Т. 1. – М. 2015. URL: http://193.232.7.120/feml/clinical_ref/pharmacopoeia_1/HTML/#234 (дата обращения 27.03.2016).
16. Guidelines for standard method performance requirements. URL: http://www.eoma.aoac.org/app_f.pdf (дата обращения 08.04.2016).