

DOI: 10.33380/2305-2066-2019-8-2-98-102  
УДК 615.074

## ВЭЖХ-анализ фенольного комплекса грудного сбора № 4 и сухого экстракта на его основе

А. А. Скибина<sup>1\*</sup>, Д. О. Боков<sup>1,2</sup>, И. В. Гравель<sup>1</sup>, В. А. Ермакова<sup>1</sup>, И. А. Самылина<sup>1</sup>

1 – ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), 119991, Россия, Москва, ул. Трубецкая, д. 8  
2 – ФГБУН «ФИЦ питания, биотехнологии и безопасности пищи», 109240, Россия, Москва, Устьинский проезд, 2/14

\*Контактное лицо: Скибина Анастасия Алексеевна. E-mail: askibina93@gmail.com

Статья получена: 22.04.2019. Статья принята к печати: 14.05.2019

### Резюме

**Введение.** На сегодняшний день отмечается устойчивая тенденция к увеличению спроса на фитопрепараты, что обуславливает необходимость расширения номенклатуры лекарственных средств растительного происхождения. Как показали последние исследования, перспективным направлением является перевод растительных сборов в форму водорастворимых сухих экстрактов. Грудной сбор № 4 – один из наиболее популярных среди многокомпонентных субстанций растительного происхождения на отечественном фармацевтическом рынке. На его основе был получен сухой экстракт. Согласно литературным данным, известно, что фенольные соединения преобладают как в отдельных компонентах, так и грудном сборе № 4, поэтому сквозная стандартизация сбора и экстракта на его основе по содержанию веществ из этой группы представляется актуальным.

**Цель.** Настоящее исследование было выполнено с целью изучения состава фенольных соединений сухого экстракта грудного сбора № 4 и поиска маркерных соединений для сквозной стандартизации сбора и лекарственных форм на его основе.

**Материалы и методы.** Анализ фенольного комплекса грудного сбора № 4 и экстракта проводили методом ВЭЖХ-УФ. Детектирование осуществляли при длинах волн 350, 300, 270, 210 нм. Количественную оценку (%) идентифицированных соединений проводили методом внешнего стандарта.

**Результаты и обсуждение.** В результате анализа в грудном сборе № 4 обнаружено 58 соединений, в экстракте – 34. Идентифицировано 8 веществ фенольной природы: рутин, арбутин, ликуразид, ликвиритин, кверцетин, хлорогеновая, кофейная и галловая кислоты, содержание которых варьировало в диапазоне 0,001–0,910%.

**Заключение.** Основываясь на результатах исследования, в качестве маркерных соединений предложено использовать арбутин, рутин и хлорогеновую кислоту.

**Ключевые слова:** грудной сбор, сухой экстракт, фенольные соединения, ВЭЖХ, стандартизация.

**Конфликт интересов:** конфликта интересов нет.

**Источник финансирования.** Исследование поддерживается «Проектом повышения конкурентоспособности ведущих российских университетов среди ведущих мировых научно-образовательных центров».

**Для цитирования:** Скибина А. А., Боков Д. О., Гравель И. В., Ермакова В. А., Самылина И. А. ВЭЖХ-анализ фенольного комплекса грудного сбора № 4 и сухого экстракта на его основе. *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2019; 8(2): 98–102.

## HPLC-Analysis of Phenolic Complex in Pectoral Species № 4 and its Dry Extract

А. А. Skibina<sup>1\*</sup>, D. O. Bokov<sup>1,2</sup>, I. V. Gravel<sup>1</sup>, V. A. Ermakova<sup>1</sup>, I. A. Samylina<sup>1</sup>

1 – I. M. Sechenov First MSU MOH Russia (Sechenovskij University), 8, Trubetskaya str., Moscow, 119991, Russia  
2 – Federal Research Center for Nutrition, Biotechnology and Food Safety, 2/14, Ustyinsky pr., Moscow, 109240, Russia

\*Corresponding author: Anastasia A. Skibina. E-mail: askibina93@gmail.com

Received: 22.04.2019. Accepted: 14.05.2019

### Abstract

**Introduction.** There is steady upward trend in demand for herbal formulation necessitates the expansion of their range. Recent studies have shown that one of the promising research direction is the development of herbal collection based water-soluble dry extracts. Pectoral species № 4 is one of the most popular among multi-component herbal preparations on the Russian pharmaceutical market. Experimental samples of a dry extract were obtained on the collection basis. According to literature, phenolic compounds predominate both in individual components and pectoral species № 4. Therefore, the end-to-end standardization of the collection and its dry extract by the content of the substances seems to be relevant.

**Aim.** The present study was performed to examine the dry extract phenolic compounds composition, as well as, to search for marker compounds for the end-to-end standardization of pectoral species № 4 and dosage forms based on it.

**Materials and methods.** The composition and content of phenolic complex were studied by HPLC with UV detection in pectoral species № 4 and its dry extract. Detection was performed at wavelengths of 350, 300, 270, 210 nm. The quantitative content (%) of the identified compounds was determined by an external standard method.

**Results and discussion.** HPLC-analysis revealed 58 compounds in pectoral species № 4 and 34 in the extract. Rutin, arbutin, liquaside, liquiritin, quercetin, chlorogenic, caffeic and gallic acid have been identified in all study objects; their quantitative content varied within a range of 0,001–0,910%.

**Conclusion.** Arbutin, rutin and chlorogenic acid have been proposed as marker compounds.

**Keywords:** pectoral species, dry extract, phenolic compounds, HPLC, standardization.

**Conflict of interest:** no conflict of interest.

**Source of financing.** The study is supported by the «Project to improve the competitiveness of leading Russian universities among the world's leading research and educational centers».

**For citation:** Skibina A. A., Bokov D. O., Gravel I. V., Ermakova V. A., Samylina I. A. HPLC-analysis of phenolic complex in pectoral species № 4 and its dry extract. *Drug development & registration.* 2019; 8(2): 98–102.

## ВВЕДЕНИЕ

Интерес к растительным препаратам увеличивается как со стороны пациентов, так и врачебного сообщества. В последние годы, однако, для российского коммерческого сектора фитопрепаратов характерно относительное уменьшение объема продаж в натуральном выражении, но положительная динамика в денежном. Это связано с современным напряженным ритмом жизни и представлением в медицинском сообществе о доказательной медицине как единственно верном критерии эффективности препаратов. В результате наблюдается сокращение доли недорогих растительных препаратов и постепенное их вытеснение более дорогостоящими современными, часто не имеющими аналогов [1].

Создание доказательной базы эффективности фармацевтических субстанций растительного происхождения (ФСРП) и препаратов на их основе является необходимым и неотъемлемым условием для развития фитотерапии в рамках современной официальной медицины. Особые успехи в этой области принадлежат немецкой компании Bionorica SE, в основе деятельности которой лежит разработанная ими концепция фитониринга [2]. Такие исследования длительны и требуют немалых финансовых вложений. В то же время многолетний опыт успешного применения сырья лекарственных растений в клинической практике эмпирически подтверждает их эффективность и безопасность. Поэтому, одним из возможных вариантов «быстрых мер» по расширению номенклатуры растительных средств является разработка технологически простых и удобных в применении лекарственных форм (ЛФ) фитопрепаратов, успешно применяемых в медицине. В частности, актуальным является получение водорастворимых сухих экстрактов на основе официальных сборов [1, 3, 4].

Грудной сбор № 4 (ГС № 4) – один из наиболее популярных растительных сборов, представленных на отечественном фармацевтическом рынке [1, 5]. Опыт его применения в клинической практике составляет более 20 лет.

**Цель исследования** – изучение состава фенольных соединений сухого экстракта ГС № 4 и поиск маркерных соединений для сквозной стандартизации сбора и ЛФ на его основе.

В состав ГС № 4 входят 6 компонентов: ромашки цветки, багульника побеги, ноготков цветки, фиалки трава по 20%, солодки корни 15%, мяты листья 5% [6]. Исследование проводили на промышленных образцах ГС № 4 АО «Красногорсклексредства» и опытно-экспериментальных образцах сухого экстракта, полученных в результате трехкратной экстракции водой питьевой с использованием метода распылительной сушки.

ГС № 4 обладает муколитической, противовоспалительной, антиоксидантной активностью и применяется при инфекционных заболеваниях верхних дыхательных путей. Фармакологический эффект сбора и водорастворимого сухого экстракта на его основе до-

казан в ряде доклинических исследований [9]. Его индивидуальные компоненты содержат различные группы биологически активных веществ (БАВ): эфирные масла, флавоноиды, фенолкарбоновые кислоты, дубильные вещества, полисахариды, слизи, витамины и др., что обуславливает фармакологические свойства сбора [7–10]. Как было установлено ранее [10, 11], преобладающей группой БАВ в составе компонентов и ГС № 4 являются соединения фенольной природы (флавоноиды, фенолкарбоновые кислоты, фенологликозиды и др.). Установлено, что оптимальное сочетание фенольных веществ различных классов обеспечивает противовоспалительную и антиоксидантную активность лекарственных растительных средств, хотя точный механизм действия на сегодняшний день остается неясным [12–14]. Как правило, стандартизацию комплексных фитопрепаратов проводят по доминантным соединениям, что позволяет в достаточной мере гарантировать их постоянный состав. С другой стороны, действие комплексных препаратов обусловлено системой взаимодействующих реакций синергитического или антогонистического свойства. Поэтому целесообразным представляется стандартизация сбора и экстракта по нескольким группам БАВ, обеспечивающих их основное фармакологическое действие.

В работе В. В. Амосова (2009) описаны результаты ВЭЖХ-анализа некоторых индивидуальных флавоноидов ГС № 4 (производства ОАО «Красногорсклексредства»), а также водорастворимого сухого экстракта на его основе [9]. Содержание в ГС № 4 кверцетина было  $0,126 \pm 0,005\%$ , изорамнетина –  $0,072 \pm 0,001\%$ , апигенина –  $0,029 \pm 0,001\%$ , кемпферола –  $0,016 \pm 0,001\%$ . В сухом экстракте содержание этих веществ составило: кверцетина –  $0,332 \pm 0,009\%$ , изорамнетина –  $0,201 \pm 0,007\%$ , апигенина –  $0,051 \pm 0,001\%$ , кемпферола –  $0,025 \pm 0,001\%$ .

На сегодняшний день нормативная документация на ГС № 4 (ВФС 42-2688-96) устарела и не соответствует современным фармакопейным требованиям [10]. Согласно ВФС, раздел «Качественные реакции» ограничен пробирочными реакциями, раздел «Количественное определение» регламентирует содержание эфирного масла не менее 0,1% (по методу 1 или 2) [15]. Учитывая тот факт, что эфирные масла переходят в водное извлечение грудного сбора в небольшом количестве, целесообразно предложить альтернативные методики стандартизации сбора по нескольким группам БАВ, в частности, по содержанию соединений фенольной природы при помощи современных инструментальных методов исследования.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования служили промышленные образцы ГС № 4 (АО «Красногорсклексредства») и опытно-экспериментальные образцы водорастворимого сухого экстракта ГС № 4.

В работе были использованы стандартные образцы индивидуальных веществ: рутин тригидрат (CAS

№ 250249-75-3, ≥94%), ликвиритин (CAS № 551-15-5, ≥98%), кверцетин (CAS № 117-39-5, ≥95%), хлорогеновая кислота (CAS № 327-97-9, ≥95%), кофейная кислота (CAS № 331-39-5, ≥98%), галловой кислоты моногидрат (CAS № 5995-86-8, ≥98%), арбутин (CAS № 497-76-7, ≥98%), производства Sigma-Aldrich (США) и рабочий стандартный образец ликуразида. Реагенты: метанол (для ВЭЖХ, J. T. Baker, Нидерланды), ацетонитрил (для ВЭЖХ, Panreac Quimica, S. A., Барселона, Испания), муравьиная кислота (ч.д.а., Merck Laboratories, Германия). В анализе использовалась вода деионизированная, которую при помощи системы очистки воды Millipore Milli-Q plus.

**Подготовка образцов для анализа.** Для приготовления аналитического раствора экстракта в мерную колбу вместимостью 100 мл, отвешивали 1,00 г (точная навеска) экстракта и прибавляли 50 мл горячей воды очищенной, после чего тщательно перемешивали до полного растворения препарата (при необходимости содержимое колбы нагревали на кипящей водяной бане) и доводили исходным растворителем до метки.

Водное извлечение из сбора готовили по следующей методике: 10,00 г сбора (точная навеска) помещали в круглодонную колбу, прибавляли 100 мл воды, присоединяли к обратному холодильнику, нагревали на кипящей водяной бане в течение 15 минут. После охлаждения до комнатной температуры (45 минут), содержимое колбы фильтровали через четыре слоя марли в колбу вместимостью 100 мл и доводили объем тем же растворителем до метки. Полученное извлечение фильтровали повторно через мембранный фильтр с размером пор 0,2 мкм.

**Условия хроматографирования.** Хроматографическое разделение соединений проводили согласно модифицированной методике [16] на жидкостном хроматографе Agilent 1100 Series HPLC (Agilent Technologies, USA) (система подачи и дегазации на два растворителя, диодно-матричный детектор, термостат колонок, автосамплер) под управлением программного обеспечения – Agilent ChemStation Rev. A.09.0. В эксперименте использовалась хроматографическая колонка Atlantis dc18, 100 Å, 5 мкм, 4,6×250 мм. Температура колонки – 35 °С. Подвижная фаза «А» – метанол – ацетонитрил в соотношении 15:75. Подвижная фаза «Б» – 0,1% раствор муравьиной кислоты. Режим элюирования – градиентный (таблица 1). Скорость потока элюента – 0,8 мл/мин. Продолжительность анализа – 75 мин. Детектирование осуществляли при длине волны 350 нм. Объем вводимой пробы – 10 мкл. Условия хроматографирования для определения арбутина по модифицированной методике [17] были следующие: температура колонки – 40 °С; подвижная фаза: 0,1% раствор муравьиной кислоты – ацетонитрил (92:8); режим элюирования – изократический; скорость потока элюента – 1,0 мл/мин; продолжительность анализа – 10 мин; детектирование осуществляли при длине волны 210 нм; объем вводимой пробы – 10 мкл.

Таблица 1. Схема градиентного элюирования фенольных соединений

Table 1. The gradient elution mode of phenolic compounds

Время, мин	А, %	Б, %
0	0	100
10	27	73
20	27	73
70	60	40
75	0	100

Принадлежность к классу фенольных соединений оценивали на основании способности соединения поглощать при длине волны 350 нм. Хроматограммы снимали при длинах волн 350, 300, 270, 210 нм. Идентификацию индивидуальных соединений проводили на основе соответствия временам удерживания и УФ-спектрам стандартных образцов.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенных исследований на ВЭЖХ-УФ хроматограмме ( $\lambda=350$  нм) сухого экстракта было обнаружено присутствие 34 компонентов, водного извлечения сбора – 58. Из них идентифицировано 8 соединений: рутин, арбутин, ликуразид, ликвиритин, кверцетин, хлорогеновая, кофейная и галловая кислоты. Хроматограммы приведены на рисунке 1. Такое отличие в компонентном составе может быть связано с тем, что сбор и экстракт приготовлены из разных партий лекарственного растительного сырья. В зависимости от района и времени заготовки, условий произрастания и др. параметров, содержание действующих веществ может варьировать, а также технологические условия получения настоя ГС № 4 и сухого экстракта различны. Соединения, выбранные нами в качестве маркерных найдены как в сборе, так и в экстракте.

Количественное содержание (%) веществ фенольной природы в исследуемых образцах определяли методом внешнего стандарта. Результаты проведенных исследований представлены в таблице 2. К индикаторным компонентам можно отнести: арбутин, хлорогеновую кислоту и рутин. Арбутин относится к высокоспецифическим веществам-маркерам для данного сбора.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучен компонентный состав фенольных соединений грудного сбора № 4 и сухого экстракта на его основе. Исследования показали, что в сборе обнаружено 58 соединений, в экстракте – 34, из которых идентифицировано 8 веществ. Среди них присутствовали флавоноиды (рутин, ликуразид, ликвиритин, кверцетин), гидроксикоричные кислоты (хлорогеновая и кофейная кислоты), фенолокислоты (галловая кислота), фенологликозиды (арбутин). Содержание найденных со-

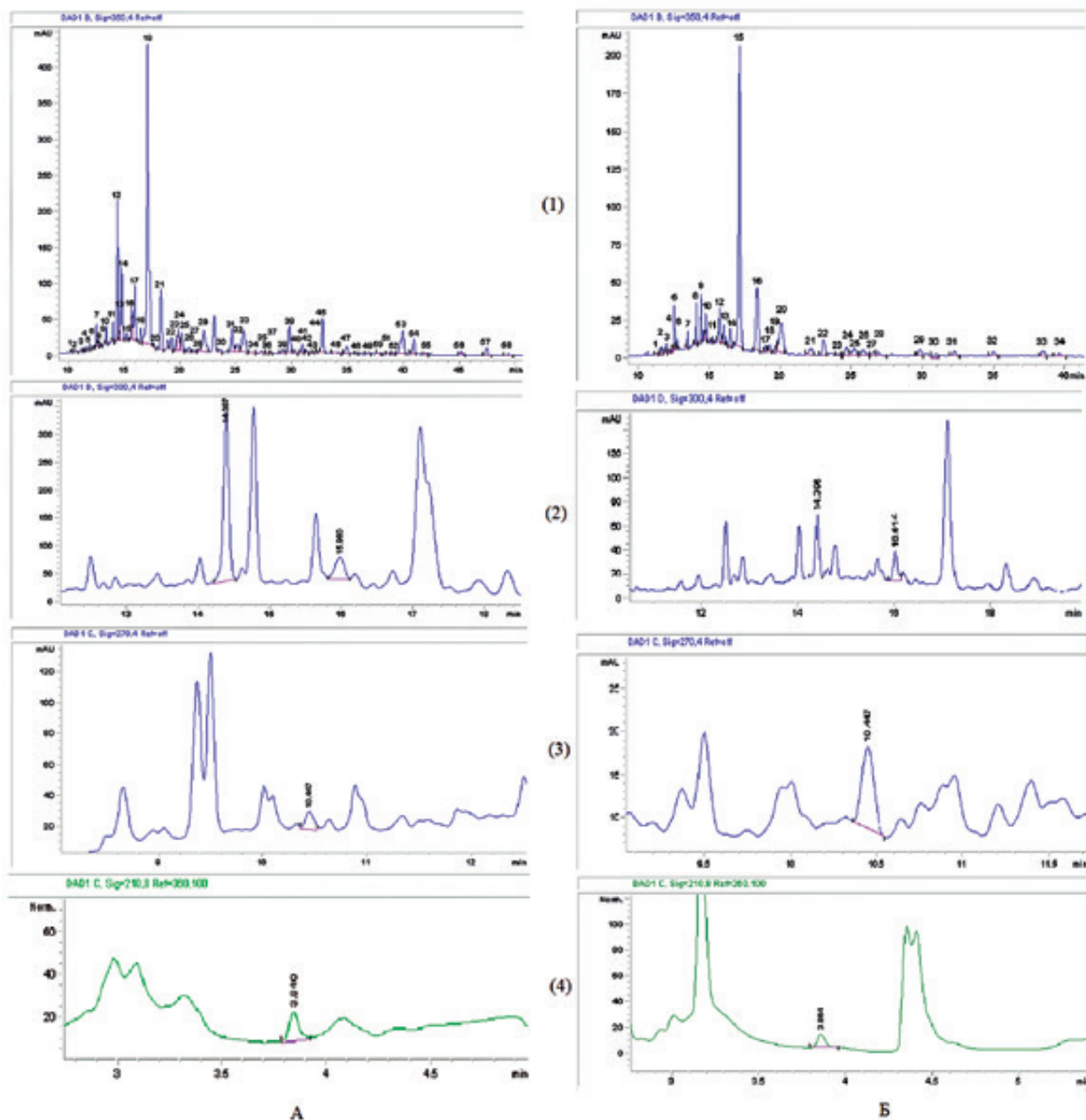


Рисунок 1. Хроматографический профиль фенольных соединений водного извлечения грудного сбора № 4 (А) и сухого экстракта (Б)

1 – ВЭЖХ-УФ хроматограммы при  $\lambda=350$  нм; 2 – ВЭЖХ-УФ хроматограммы хлорогеновой (время удерживания – 14,39 мин) и кофейной (время удерживания – 16,00 мин) кислот при  $\lambda=300$  нм; 3 – ВЭЖХ-УФ хроматограммы галловой кислоты при  $\lambda=270$  нм; 4 – ВЭЖХ-УФ хроматограммы арбутина при  $\lambda=210$  нм

Figure 1. Chromatographic profile of pectoral species № 4 (A) and dry extract (B) phenolic compounds

1 – HPLC-UV chromatograms at  $\lambda=350$  nm; 2 – HPLC-UV chromatograms of chlorogenic (retention time,  $t_R$  – 14.39 min) and caffeic ( $t_R$  – 16.00 min) acids at  $\lambda=300$  nm; 3 – HPLC-UV chromatograms of gallic acid at  $\lambda=270$  nm; 4 – HPLC-UV chromatograms of arbutin at  $\lambda=210$  nm

единений варьировало в диапазоне 0,001–0,910%. К мажорными компонентам можно отнести арбутин, хлорогеновую кислоту и рутин, концентрации которых составили: арбутина –  $0,220 \pm 0,007\%$  в сборе и  $0,910 \pm 0,029\%$  в экстракте; хлорогеновой кислоты –  $0,095 \pm 0,003\%$  в сборе и  $0,112 \pm 0,004\%$  в экстракте, рутина –  $0,066 \pm 0,003\%$  в сборе и  $0,217 \pm 0,009\%$  в экстракте. Эти соединения предложено использовать в качестве веществ-маркеров при сквозной стандартизации сбо-

ра и ЛФ на его основе, что хорошо согласуется с литературными данными [9, 12].

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Исследование поддерживается «Проектом повышения конкурентоспособности ведущих российских университетов среди ведущих мировых научно-образовательных центров».

Таблица 2. Содержание фенольных соединений в грудном сборе № 4 и экстракте на его основе (n=5, P<sub>x</sub>=0,95, t(p, f)=2,776)

Table 2. The content of phenolic compounds in pectoral species № 4 and its dry extract (n=5, P<sub>x</sub>=0,95, t(p, f)=2,776)

Фенольное соединение	Время удерживания, мин	λ, нм	Содержание, %	
			Сбор	Экстракт
<b>Флавоноиды</b>				
Рутин	18,29	350	0,066± 0,003	0,217± 0,009
Ликуразид	30,87	350	0,013± 0,001	0,036± 0,002
Ликвиритин	32,17	350	0,0026± 0,0001	0,025± 0,001
Кверцетин	38,65	350	0,0013± 0,0001	0,015± 0,001
<b>Гидроксикоричные кислоты</b>				
Хлорогеновая кислота	14,39	300	0,095± 0,003	0,112± 0,004
Кофейная кислота	16,00	300	0,018± 0,001	0,061± 0,002
<b>Фенолокислоты</b>				
Галловая кислота	10,41	270	0,0113± 0,0003	0,056± 0,002
<b>Фенологликозиды</b>				
Арбутин	3,85	210	0,220± 0,007	0,910± 0,029

**Примечание:** n – число повторных испытаний; P<sub>x</sub> – доверительная вероятность; t(P, f) – критерий Стьюдента.

**Note:** n – number of repeat tests; P<sub>x</sub> – confidence figure; t(P, f) – Student's coefficient.

## ЛИТЕРАТУРА

- Широква И. Рынок растительных фитопрепаратов – тенденции, проблемы, прогнозы. *Ремедиум*. 2013; 4: 26–32.
- Русакова О. А., Ральченко И. В., Герберт И. Я., Вердиева С. И. Изучение аптечного ассортимента фитопрепаратов. *Фармация и фармакология*. 2015; 6(13): 54–59. DOI:10.19163/2307-9266-2015-3-6(13)-54-59
- Шилина Т. С., Ермакова В. А., Самылина И. А., Бардаков А. И. Разработка технологии получения сухого экстракта из грудного сбора № 3 и исследование его фенольного комплекса. *ВЕСТНИК ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация*. 2004; 2: 282–287.
- Самылина И. А., Блинова О. А., Кумышева Л. А., Марченко С. Д., Иванов А. И. Перспективы создания сухих экстрактов. *Фармация*. 2006; 2: 43–46.
- Филиппова И. Рынок растительных средств: проблемы, перспективы, приоритеты. *Ремедиум*. 2016; 7-8: 15–16.
- Регистр лекарственных средств России. Available at: <https://www.rlsnet.ru/>
- Буданцев А. Л. (Ред.). Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. СПб.; М.: Товарищество научных изданий КМК. 2009; 2: 513.
- Буданцев А. Л. (Ред.). Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. СПб.; М.: Товарищество научных изданий КМК. 2010; 3: 601.
- Амосов В. В. Исследование химического состава и фармакологических свойств грудного сбора № 4 и сухого экстракта на его основе: дисс. ... канд. фарм. наук. ГОУ ВПО Тверская государственная медицинская академия Росздрава. Тверь. 2009; 159.
- Скибина А. А., Гравель И. В., Ермакова В. А., Самылина И. А. Современные требования к стандартизации грудных сборов, их компонентов и лекарственных средств на их основе. *Традиционная медицина*. 2019; 1: 30–39.

- Скибина А. А., Гравель И. В., Самылина И. А., Ермакова В. А. Идентификация фенольных соединений в грудном сборе № 4 и сухом экстракте. Перспективы лекарственного растениеводства: сб. науч. трудов. М.: ВИЛАР. 2018; 545–547.
- Бубенчиков Р. А., Дроздова И. Л. Флавоноиды фиалки трехцветной. *Фармация*. 2004; 2: 11–12.
- Nijveldt R. J., van Nood E., van Hoorn D. E., Boelens P. G., van Norren K., van Leeuwen P. A. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2001; 74(4): 418–425. DOI: 10.1093/ajcn/74.4.418.
- Serafini M., Peluso I., Raguzzini A. Flavonoids as anti-inflammatory agents. *Proceedings of the Nutrition Society*. 2010; 69(3): 273–278. DOI: 10.1017/S002966511000162X.
- Временная фармакопейная статья 42-2688-96. Сбор грудной № 4.
- Xu Q. A. Ultra-high performance liquid chromatography and its applications. *John Wiley & Sons*. 2013; 17. DOI: 10.1002/9781118533956
- Pandey R., Kumar B., Meena B., Srivastava M., Mishra T., Tiwari V., Pal M., Nair N. K., Upreti D. K., Rana T. S. Major bioactive phenolics in *Bergenia* species from the Indian Himalayan region: Method development, validation and quantitative estimation using UHPLC-QqQ<sub>LT</sub>-MS/MS. *PLoS one*. 2017; 12(7). DOI: 10.1371/journal.pone.0180950.

## REFERENCES

- Shirokova I. The market of herbal medicines: trends, challenges and forecasts. *Remedium*. 2013; 4: 26–32 (in Russ.).
- Rusakova O. A., Ralchenko I. V., Gerbert I. Ya., Verdieva S. I. The study for the pharmacy range of herbal medicinal products. *Farmatsiya i farmakologiya*. 2015; 6(13): 54–59 (in Russ.). DOI:10.19163/2307-9266-2015-3-6(13)-54-59
- Shilina T. S., Ermakova V. A., Samylyna I. A., Bardakov A. I. Development of pectoral species № 3 dry extract formulation and the study of its phenolic complex. *VESTNIK VGU. Seriya: Khimiya. Biologiya. Farmatsiya*. 2004; 2: 282–287 (in Russ.).
- Samylyna I. A., Blinova O. A., Kumysheva L. A., Marchenko S. D., Ivanov A. I. Prospects for designing dry extracts. *Farmatsiya*. 2006; 2: 43–46 (in Russ.).
- Filippova I. The market of herbal medicines: problems, perspectives, priorities. *Remedium*. 2016; 7-8: 15–16 (in Russ.).
- Register of medicines of Russia. Available at: <https://www.rlsnet.ru/>
- Budantsev A. L. (Ed.). Plant resources of Russia: Wild flowering plants, their component composition and biological activity. St. Petersburg; Moscow: KMK Scientific Press Ltd., 2009; 2: 513 (in Russ.).
- Budantsev A. L. (Ed.). Plant resources of Russia: Wild flowering plants, their component composition and biological activity. St. Petersburg; Moscow: KMK Scientific Press Ltd., 2010; 3: 601 (in Russ.).
- Amosov V. V. The study of the chemical composition and pharmacological properties of pectoral species № 4 and dry extract based on it. PhD dissertation. *The Tver State Medical Academy*. Tver. 2009; 159 (in Russ.).
- Skibina A. A., Gravel I. V., Ermakova V. A., Samylyna I. A. Current requirements to the pectoral species, their components and medicinal preparation standardization. *Traditional medicine*. 2019; 1: 30–39 (in Russ.).
- Skibina A. A., Gravel I. V., Samylyna I. A., Ermakova V. A. Identification of phenolic compounds in pectoral species № 4 and dry extract. *Perspektivy lekarstvennogo rastenievovedeniya: sbornik nauchnykh trudov*. Moscow: VILAR. 2018; 545–547 (in Russ.).
- Bubenchikov R. A., Drozdova I. L. Flavonoids of garden violet (*Viola tricolor*). *Farmatsiya*. 2004; 2: 11–12 (in Russ.).
- Nijveldt R. J., van Nood E., van Hoorn D. E., Boelens P. G., van Norren K., van Leeuwen P. A. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2001; 74(4): 418–425. DOI: 10.1093/ajcn/74.4.418
- Serafini M., Peluso I., Raguzzini A. Flavonoids as anti-inflammatory agents. *Proceedings of the Nutrition Society*. 2010; 69 (3): 273–278. DOI: 10.1017/S002966511000162X
- Temporary pharmacopoeial monograph 42-2688-96. Pectoral species № 4 (in Russ.).
- Xu Q. A. Ultra-high performance liquid chromatography and its applications. *John Wiley & Sons*. 2013; 17. DOI: 10.1002/9781118533956
- Pandey R., Kumar B., Meena B., Srivastava M., Mishra T., Tiwari V., Pal M., Nair N. K., Upreti D. K., Rana T. S. Major bioactive phenolics in *Bergenia* species from the Indian Himalayan region: Method development, validation and quantitative estimation using UHPLC-QqQ<sub>LT</sub>-MS/MS. *PLoS one*. 2017; 12 (7). DOI: 10.1371/journal.pone.0180950.