

ЭМЗҮЙ, ЭМ СУДЛАЛ

Шарталтын эсрэг бэлдмэлд дигидромерицетин тодорхойлох өндөр идэвхт шингэний хроматографийн аргын баталгаажилт

Баттулга Б., Бадамцэцэг С., Баянмөнх А., Цэцэгмаа С., Лхагва Л., Хүрэлбаатар Л.

Эм судлалын хүрээлэн

battulga@monos.mn

Abstract

Method Validation of Dihydromyricetin in Anti-hangover preparation by High Performance Liquid Chromatography

Battulga B., Badamtsetseg S., Bayanmunkh A., Tsetsegmaa S., Lkhagva L., Khurelbaatar L.

Drug Research Institute

battulga@monos.mn

Background

The high performance liquid chromatography (HPLC) method was developed for selective determination of dihydromyricetin in capsule formulation dietary supplement containing other components. Further, the proposed method was validated for linearity, precision (system precision, method precision, intermediate or inter-day precision), and accuracy, stability in analytical solution, system suitability and ruggedness. The developed method exhibited the best results in terms of the aforesaid validation parameters. The other components and additives did not interfere in their determinations. The method was found to be selective, simple, economical, accurate, reproducible, rapid and reliable for routine estimation purpose of dihydromyricetin in dietary supplement capsule.

Goal

The goal of this study was to develop the validation method of dihydromyricetin in the dietary supplement.

Material and Methods

The hangover preparation was produced by Technological section of Drug Research Institute. The standard dihydromyricetin was supplied from Sigma Aldrich Co. We used solvents for HPLC grade (methanol, acetonitrile). Chromatographic conditions: A gradient HPLC (Shimadzu LC20AD) with serial dual plunger pump; analytical column: Supelco inertsil C18 250 × 4.6 mm, particle size 5 μm; flow rate: 1 ml/min; column temperature: 35°C, detection: UV 365 nm. Chromatographic procedure: 20 μl of the mixed standard preparation and assay (sample) preparation were separately injected into the chromatography, the chromatograms were recorded, and the responses for the major peaks were measured. The run time was approximately 10 minutes.

Results

The calibration curves for dihydromyricetin were made by plotting the peak area versus the concentration for each analyte using regression analysis. Each calibration curve was obtained using six levels of concentrations in the range 28-224 μg/mL. The linear correlation coefficient (r^2) for all calibration curves was higher than 0.999 for all analytes. The LOD and LOQ for dihydromyricetin were in 11.29 μg/mL and 34.21 μg/mL, respectively. Accuracy and precision were assessed by analyzing five sets of samples, independently prepared at low, middle and high concentrations. The RSD values of both repeatability and intermediate precision were below 0.261% and 0.262%. The accuracy remaining between 101.65 to 104.7%. The resulting accuracy data were satisfactory for the quantitative analysis of dihydromyricetin in anti-hangover preparation. The results of summarized in Table 1, 2, 3. This article presents a simple, accurate, reproducible, and thoroughly validated HPLC-based method for qualitative and quantitative analysis of dihydromyricetin, as part of the quality assessment of products containing anti-hangover preparation.

Keywords: Dihydromyricetin, High performance liquid chromatography, anti-hangover preparation, method validation

Түлхүүр үг: Дигидромерицетин, өндөр идэвхт шингэний хроматографи, шарталтын эсрэг бэлдмэл, аргын баталгаажилт

Оршил

Ампелопсин нь флавоноидын бүлэгт хамаарах флаванон бөгөөд химийн нэршил нь дигидромерицетин юм. Дигидромерицетинийг япон үзмэн мод (*Hovenia Dulcis*)-оос хандлан авч хуурайшуулан гарган авдаг. Уг модны үр, жимс, навч ба иш, холтосыг дорнын анагаах ухаанд түгээмэл хэрэглэдэг [1]. Жимсний ишийг Өмнөд Солонгост Жигүяа гэж нэрлэдэг ба энэ ишний ханд нь архины хордлогыг хоргүйжүүлэх, элэг хамгаалах, исэлдэлтийн эсрэг, чихрийн шижингийн эсрэг, таргалалтын эсрэг, харшлын эсрэг, хорт хавдрын эсрэг идэвх үзүүлдэг нь тогтоогдсон байна [2, 3]. Япон үзмэн мод (*Hovenia Dulcis*)-ны жимсэнд агуулагдах полифенолт нэгдлүүд, тритерпент сапонинуудын агууламж, тэдгээрийн биологийн идэвхийн талаарх судалгаанууд хийгдсэн байдаг [4-9].

Иймд япон үзмэн мод (*Hovenia Dulcis*)-ыг Зүүн азид байгалийн гаралтай эрүүл мэндийн бүтээгдэхүүний найрлагад түгээмэл хэрэглэж байна. Манай оронд япон үзмэн мод (*H. Dulcis*)-ны хандыг найрлагандаа агуулсан импортын бүтээгдэхүүн цөөнгүй байдаг боловч тэдгээрийн биологийн идэвхт бодисыг тодорхойлох баталгаажсан химийн шинжилгээний арга байхгүй байна. Иймд бид цаашид уг ургамлын ханд агуулсан төрөл бүрийн биологийн идэвхт хүнсний нэмэлт бүтээгдэхүүн үйлдвэрлэх, худалдаалахын тулд ампелопсин буюу дигидромерицетин тодорхойлох ӨИШХ-ийн аргыг боловсруулж, олон улсын жишигт нийцсэн аргын баталгаажилт хийх шаардлагатай байна.

Зорилго

Бид энэхүү судалгааны хүрээнд дигидромерицетин тодорхойлох ӨИШХ-ийн аргыг боловсруулж, олон улсад хүлээн зөвшөөрөгдөхүйц шинжилгээний аргыг практикт нэвтрүүлэхийг зорив.

Материал, арга зүй

Судалгаанд Эм Судлалын Хүрээлэнгийн туршилт үйлдвэрлэлийн цехэд бэлтгэсэн капсултай бэлдмэлийг ашигласан. Стандарт бодис дигидромерицетинийг Sigma Aldrich компаниас худалдан авч хэрэглэсэн. ӨИШХ-ийн цэвэршилттэй (HPLC grade) органик уусгагч (метанол, ацетонитрил)-уудын

хэрэглэв. Бүтээгдэхүүний найрлага дахь дигидромерицетинийг ӨИШХ-ийн дараах аргаар тодорхойлов.

Тухайн судалгаатай холбоотой арга, аргачлалууд нь Эм зүйн шинжлэх ухааны их сургууль болон Эм судлалын хүрээлэнгийн хамтарсан “Ёс зүйн хорооны” 2015 оны 11 сарын 17-ны өдрийн хурлаар хэлэлцэж дэмжигдсэн.

Судалгааны ажлын үр дүнгийн статистик боловсруулалтыг SPSS20 программаар гүйцэтгэж, ялгааг Стьюдентийн критерээр үнэлэн, $p < 0.05$ үеийн үнэн магадтай ялгаатай гэж тооцож One-Way ANOVA-аар баталгаажуулсан.

Дигидромерицетин тодорхойлох ӨИШХ-ийн арга:

Хроматографийн нөхцөл: Supelco inertsil C18 (жигжиг хэсгийн хэмжээ: 5 мкм, баганын урт: 250 мм, баганын диаметр: 4.6 мм) ӨИШХ-ийн багана, баганы температур: 35°C, хэт ягаан туяаны детектор: 365 нм-ийн долгионы уртад, урсах хурд: 1 мл/мин, хөдөлгөөнт фазын систем: Ацетонитрил: 0.1%-ийн мөсөн цууны хүчил (38 : 62).

Стандарт уусмал бэлтгэх: Стандарт дигидромерицетиний нунтгаас 0.01 г-ыг нарийвчлалтай жинлэн авч 25 мл-ийн багтаамжтай хэмжээст колбонд хийж 20 мл 80%-ийн метанол нэмж сайтар сэгсэрч уусгасны дараа хэмжээс хүртэл 80%-ийн метанолоор сулруулна (А уусмал). А уусмалаас 7 мл-ийг авч 25 мл-ийн эзлэхүүнтэй хэмжээст колбонд хийж хэмжээс хүртэл 80%-ийн метанолоор сулруулна. Уг уусмалаас 5 мл-ийг таслан авч 0.45 мкм-ийн (органик уусгагчид тэсвэртэй) шүүлтүүрээр шүүж 20 мкл-ээр багажинд тарилт хийнэ.

Дээж уусмал бэлтгэх: Капсул хэлбэрийн бэлдмэлээс 20 ширхэгийг авч, капсулаас гарган шаазан уур нухуурт хийж сайтар хольсоны дараа 0.113 г-ыг нарийвчлалтай жинлэн авч 25 мл эзлэхүүнтэй хэмжээст колбонд хийж 20 мл 80%-ийн метанол нэмж 5 минут хэт авианы усан халаагуурт тавьж сайтар уусгасны дараа 80%-ийн метанолоор хэмжээс хүртэл сулруулна (Б уусмал). Б уусмалаас 1 мл-ийг авч 25 мл эзлэхүүнтэй хэмжээст колбонд хийж хэмжээс хүртэл 80%-ийн метанолоор сулруулна. Уг уусмалаас 5 мл-ийг таслан авч 0.45 мкм-ийн органик уусгагчид тэсвэртэй шүүлтүүрээр шүүж 20 мкл-ээр багажинд тарилт хийнэ.

Аргын баталгаажилт

Үнэмшилт чанар (Assigasy) –ыг тодорхойлохдоо арга зүйд заасан дээжийн концентрацийг 100% гэж үзэн, түүнээс 50-150%-ийн ялгаатай гурван дээж уусмал бэлтгэн (50%, 100%, 150%) шинжилгээг хийсэн.

Дундаж утгын нарийвчлал (intermediate precision)-ыг давтагдах чанар ба дундаж утгын нарийвчлалаар үнэлж тодорхойлов.

Аргын нарийвчлал буюу давтагдах чанар (repeatability or method precision)-ыг тодорхойлохдоо бэлдмэлээс хоорондоо ижил концентрацитай 10 дээж бэлтгэн тооны агууламжийг тодорхойлж, дундаж утга болон тус бүрт харьцангуй стандарт хазайлтыг тооцоолов. Дундаж утгын нарийвчлалыг тодорхойлохдоо хоёр өөр эм шинжлэгч ижил багажаар өөр өөр өдөрт тооны шинжилгээг 6 давталттайгаар хийж, дундаж утга болон тус бүрт харьцаггүй стандарт хазайлтыг тооцоолов.

Шугаман чанар (Linearity)–ыг ажлын стандарт уусмалын концентраци (0.112 мг/мл)-аас 25%-200%-ийн ялгаатай 6 уусмал (25%, 50%, 75%, 100%, 150%, 200%) бэлтгэн тус бүрийн хроматограммын пикийн талбайг концентрациас хамаарсан шулуун байгуулж, корреляцийн тогтмол (R^2)–ыг тодорхойлсон. Мөн жиших муруйд регрессийн анализ хийж, шулууны тэгшитгэлийг ашиглан уг аргын тодорхойлох хязгаар, илрүүлэх хязгаарыг тогтоов [10, 11].

Үр дүн

Бид судалгаандаа Өмнөд Солонгосын Эм зүйн шинжлэх ухаан, технологийн институтын Жон Сук Пак (Jong Suk Park) нарын боловсруулсан аргад үндэслэн хөдөлгөөнт фазын системийг сонгон тохиромжтой харьцааг олж, ӨИШХ-ийн багажийн нөхцөлүүдийг өөрчлөн туршиж, туршилтын арга зүйг гарган авсан [12]. Уг гарган авсан аргаар стандарт дигидромерицетин болон Эм судлалын хүрээлэнд гарган авсан бэлдмэлийг ӨИШХ-ийн багажид гүйлгэсэн гүйлгэлтийн хроматограммыг зураг 1, 2-т харуулав.

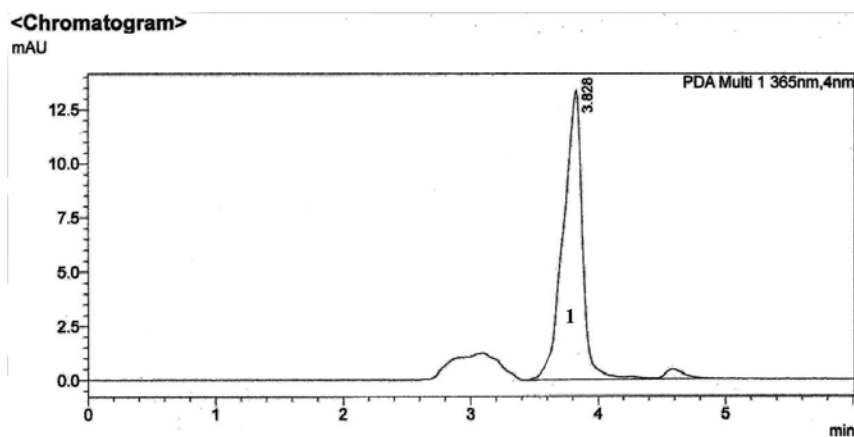


Figure 1. Chromatogram of standard dihydromyricetin (98%)

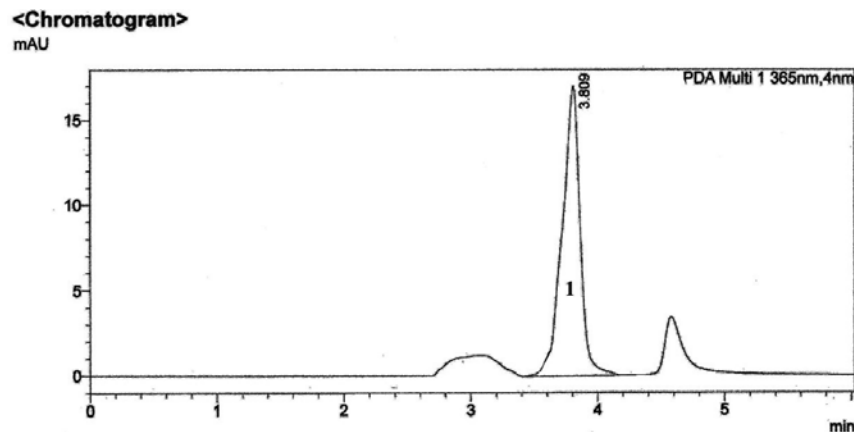


Figure 2. Chromatogram of preparation

Стандарт дигидромерицетин болон дээж уусмалын пикийн баригдах хугацаа 3.809-3.828 минут байгаа нь системийн таарц сайн байгааг харуулж байна. Иймд уг ӨИШХ-ийн туршилтын аргыг тохиромжтой гэж үзэн аргын баталгаажилтыг хийв. Аргын баталгаажилтыг үнэмшилт чанар, нарийвчлал, шугаман чанарыг үнэлэх арга зүйг ашиглан баталгаажуулав.

Үнэмшилт чанар (Ассурасу):

Аргын үнэмшилт чанарыг тодорхойлохдоо ажлын дээж уусмалаас 50-150%-ийн ялгаатай гурван өөр концентрацитай дээжийг тус бүр гурван давталттай бэлтгэн шинжилгээг хийв. Үнэмшилт чанар тодорхойлсон үр дүнг Хүснэгт 1-ээр үзүүлээ.

Table 1. Preparation accuracy

No	Sample Concentration µg/ml	Result, µg/ml	Result, %	Mean value, %	Agreeable to standard	RSD, %	Agreeable to standard	
1	50%	0.160	0.168	105.0	104.16	Passed	1.68	Passed
2		0.160	0.167	104.37				
3		0.160	0.165	103.12				
		Permissible amount		90-110%		≤2.0%		
1	100%	0.321	0.168	105.0	101.65	Passed	1.48	Passed
2		0.321	0.167	104.37				
3		0.321	0.165	103.12				
		Permissible amount		90-110%		≤2.0%		
1	150%	0.481	0.168	105.0	104.7	Passed	0.40	Passed
2		0.481	0.167	104.37				
3		0.481	0.165	103.12				
		Permissible amount		90-110%		≤2.0%		

Дээжийн шинжилгээний дүнгийн харьцангуй стандарт хазайлт (ХСХ%) 0.4%-1.68% гарч 2.0%-иас бага байна гэсэн шаардлага хангаж байна.

Нарийвчлал (Precision):

Бэлдмэлд агуулагдах дигидромерицетиний тооны анализын нарийвчлалыг тодорхойлохдоо давтагдах чанар, дундаж утгын нарийвчлал зэрэг үзүүлэлтээр тодорхойлсон ба үр дүнг Хүснэгт 2, Хүснэгт 3 –т үзүүлээ.

Table 2. Result of repeatability

Injection number	Retention time (minute)	Peak height	Peak area
replicate 1	3.816	16966	166896
replicate 2	3.816	16896.37	166211
replicate 3	3.814	16873.09	165982
replicate 4	3.809	16905.41	166300
replicate 5	3.818	16933.17	166573
replicate 6	3.815	16974.95	166984
replicate 7	3.807	16930.22	166544
replicate 8	3.811	16862.62	165879
replicate 9	3.809	16982.67	167060
replicate 10	3.819	16975.25	166987
Mean (n=10)	3.8134	16929.97	166541.6
STDEV	0.004142	44.30163	435.7989
RSD%	0.108615	0.261676	0.261676

Table 3. Result of intermediate precision

№	Sample	Dihydromyricetin, mg/ml	
		First operator/First day	Second operator/second day
1	Preparation	0.325383	0.325554
2		0.324047	0.324697
3		0.323601	0.3234
4		0.324221	0.325703
5		0.324753	0.32556
Mean (n = 5)		0.324401	0.324983
RSD% (n = 10)		0.261676	
Acceptance criteria (n = 10)		Not more than 2.0%	
Agreeable to requirement		Passed	

Дигидромерицетиний тооны анализын давтагдах чанарыг бэлдмэлд 10 удаагийн давталттай хэмжилт хийж тодорхойлоход харьцангуй стандарт хазайлт 0.261% гарсан нь шаардлага хангасан. Мөн дундаж утгын нарийвчлалыг тодорхойлоход баригдах хугацааны харьцангуй стандарт хазайлт 0.108%, пикийн өндрийн харьцангуй стандарт хазайлт 0.261%, пикийн талбайн харьцангуй стандарт хазайлт 0.261% гарч шаардлага хангасан.

Шугаман чанар (Linearity):

Дигидромерицетиний тооны анализын шугаман чанарыг ажлын стандарт уусмалын концентраци (112 мкг/мл) -аас 25% - 200% ялгаатай уусмалууд бэлтгэн тус бүрийн пикийн талбайг хэмжин тодорхойллоо. Шугаман чанар тодорхойлсон үр дүнг Хүснэгт 4, Зураг 3 –т тус тус үзүүлээ.

Table 4. Linearity of Standard dihydromyricetin

№	Nominal concentration of standard, µg/ml	Peak area, mAU	Real concentration of standard, µg/ml	Recovery, %
1	28	43297	28.6383	102.2796
2	56	73164	55.11613	98.42167
3	84	103458	81.97252	97.58633
4	112	140123	114.477	102.2116
5	168	201082	168.5186	100.3087
6	224	262838	223.2668	99.6727
Mean /n=6/				100.08
SD				1.927102
Intercept				10993
Slope				1128
SE of intercept				1575.235
SD of intercept				3859.325

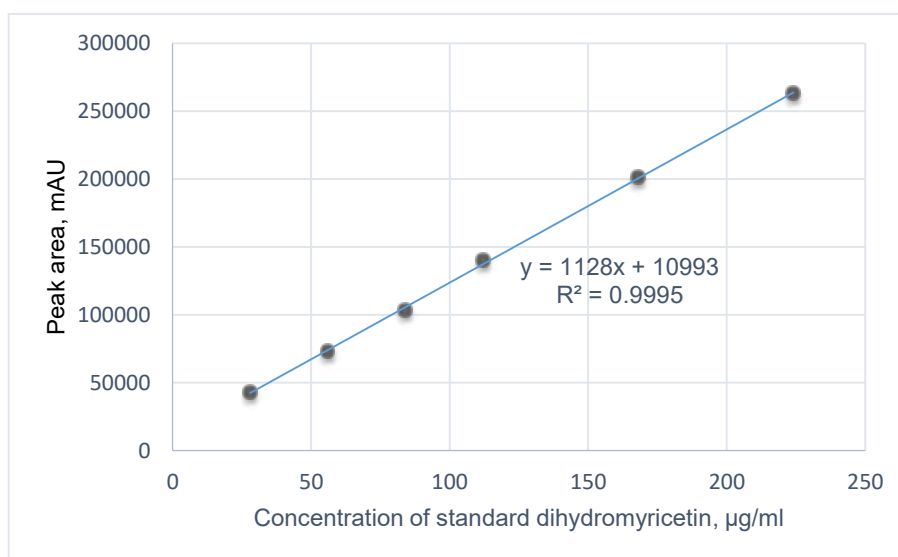


Figure 3. Linearity of Standard dihydromyricetin

Дээрх үр дүнгээс харахад жиших муруйн корреляцийн коэффициент $R^2=0.999$ байсан нь шугаман хамааралтай байгааг баталж байна. Бэлдмэлд агуулагдах дигидромерицитиний тооны тодорхойлолтонд дээрх арга зүйгээр шинжилгээ хийхэд тохиромжтой болохыг 3 үзүүлэлтээр баталлаа. Мөн илрүүлэх хязгаар (LOD) болон тодорхойлогдох хязгаар (LOQ)-ыг жиших муруйн үр дүнгээс регрессийн анализын аргаар тооцов. Үр дүнг доорх томъёогоор үзүүлэв.

$$LOD = \frac{3.3 \cdot \sigma}{S} \Rightarrow \frac{3.3 \times 3859.3}{1128} = 11.29 \mu\text{g} / \text{ml}$$

Энд: σ – SD of intercept ; S – Налуу (Slope)

Илрүүлэх хязгаарыг жиших муруйн шулууны тэгшитгэл ашиглан тооцоолж, хамгийн бага илрүүлэх концентраци 11.29 мкг/мл болохыг тогтоолоо.

$$LOQ = \frac{10 \cdot \sigma}{S} \Rightarrow \frac{10 \cdot 3859.3}{1128} = 34.21 \mu\text{g} / \text{ml}$$

Тодорхойлогдох хязгаарыг жиших муруйн шулууны тэгшитгэл ашиглан тооцоолж, хамгийн бага тодорхойлох концентраци 34.21 мкг/мл болохыг тогтоолоо.

Хэлцэмж

Бид энэхүү судалгаандаа флавоноидын бүлэгт хамаарах флаванонуудын нэг болох ампелопсин

буюу дигидромерицитинийг шарталтын эсрэг бэлдмэлд өндөр идэвхт шингэний хроматографийн аргыг ашиглан тодорхойлсон. Бидний ашигласан аргыг Жон Сук Парк (Jong Suk Park) нар Япон үзмэн мод (Hovenia Dulcis)-ны ханданд биоидэвхт флавоноидуудын агууламжийг тодорхойлж аргын баталгаажилт хийсэн. Аргын баталгаажилтыг хийхдээ дигидромерицитин, таксифолин, мерицитин болон кверцитин гэсэн дөрвөн нэгдэлийг нэг уусгагчийн системд шатлуулах арга ашиглан илрүүлжээ. Хэдий тийм боловч энэхүү арга нь бидний тоног төхөөрөмж дээр мөн туршилтаар гарган авсан бүтээгдэхүүнд агуулагдах гол үйлчлэгч нэгдлийг тодорхойлоход тохиромжтой гэдгийг батлах боломжгүй юм. Бидний судалгаанд дээрх дөрвөн нэгдлийн нэг дигидромерицитин дангаар агуулагдаж байсан учир градиентын дагуу хөдөлгөөнт фазын уусмалын харьцааг өөрчлөх шаардлагагүй гэж үзэв. Шарталтын эсрэг бэлдмэлд дигидромерицитиний агууламжийг хөдөлгөөнт фазын ацетонитрил:мөсөн цууны хүчил (38:62)-ийн системийн дагуу тодорхойлж аргын баталгаажилтыг хийв.

Аргын баталгаажилтыг хийхийн тулд үнэмшилт чанар, дундаж утгын нарийвчлал, давтагдах чанар болон шугаман чанар зэргийг үнэлэн жиших муруйд регрессийн анализ хийж, шулууны тэгшитгэлийг ашиглан уг аргын тодорхойлох хязгаар, илрүүлэх хязгаарыг тогтоолоо [12-16].

Жон Сук Пак нарын аргаар дигидромерицитин нь 6,2 минутанд илэрч байсан бол бидний судалгаагаар 3,8 минутад илэрсэн. Энэ нь ӨИШХ-ийн багаж болон баганын зөрүү, мөн нэг уусгагчийн системд гүйж буй бодисуудын зөрүүнээс үүдэлтэй байж болох юм.

Дүгнэлт:

1. Шарталтын эсрэг бэлдмэл дэх дигидромерицитин тодорхойлох арга зүйг Shimadzu CMB-20 A, Diodarray detector Shimadzu SPD-20A загварын өндөр идэвхт шингэний хроматографи багажид тохируулан хэмжилтийн утгыг өөрчлөн туршихад анализ хийх боломжтой нь харагдаж байна..
2. International Conference of Harmonization-ээс гаргасан зааврын дагуу аргын баталгаажилтыг хийхэд уг өндөр идэвхт шингэний хроматографийн арга нь дигидромерицитиний агууламжийг тодорхойлох боломжтой нь батлагдав.

Ном зүй

1. Lim T., Hovenia Dulcis. Edible medicinal and non-medicinal plants. Springer, Netherlands, 2019, pp. 568-577
2. Wang M., Zhu P., Jiang C., Ma L., Zhang Z., Zheng X., Preliminary characterization, antioxidant activity in-vitro and hepatoprotective effect on acute alcohol-induced liver injury in mice of polysaccharides from the peduncles of Hovenia dulcis, Food and Chemical Toxicology, 2012, 50(9), pp, 2964-2970
3. Ji.Y., Chen S., Zhang K., Wang W., Effects of Hovenia dulcis Thunb on blood sugar and hepatic glycogen in diabetic mice., Zhong Yao Cai, 2002, 25(3), pp, 190-191
4. Yoshikawa, M., Murakami, T., Ueda, T., Matsuda, H., Yamahara, J., Murakami, N.; Bioactive saponins and glycosides. IV. Four methyl migrated 16,17-seco-dammarane triterpene glycosides from Chinese natural medicine, hoveniae semen seu fructus, the seed sand fruit of Hovenia dulcis THUNB.: absolute stereo structures and inhibitory activity on histamine release of hovenidulciosides A1, A2, B1, and B2; Chemical & Pharmaceutical Bulletin, (1996); 44(9): 1736–1743.
5. Yoshikawa, M., Ueda, T., Muraoka, O., Aoyama, H., Matsuda, H., Shimoda, H., et al.; Absolute stereo structures of hovenidulciosides A1 and A2, bioactive novel triterpeneglycosides from hoveniaesemenseufructus, the seeds and fruit of Hovenia dulcis Thunb; Chemical & Pharmaceutical Bulletin, (1995); 43(3): 532–534.
6. Yoshikawa M, Murakami T, Ueda T, Yoshizumi S, Ninomiya K, Murakami N, et al.; Bioactive constituents of Chinese natural medicines. III. Absolute stereo structures of new dihydroflavonols, hovenitins I, II, and III, isolated from hoveniae semen seu fructus, the seed and fruit of Hovenia dulcis THUNB.(Rhamnaceae): inhibitory effect on alcohol-induced muscular relaxation and hepatoprotective activity; Yakugaku Zasshi, (1997); 117 (2): 108–118.
7. Ding L, Liang Q, Teng Y.; Study on flavonoids in seeds of Hovenia dulcis; Yao Xue Xue Bao, (1997); 32(8): 600–602.
8. 16. Xu B.J, Lee J.H, Sung C.K. ;Review:chemical compositionof thegenus Hovenia; Natural Product Sciences, (2003); 9(3): 143–15.
9. 17. ShuZhen Y, QiuSheng F.; The nootropic components of Hovenia dulcis; Academic Journal of Second Military Medical University, (2009); 30(11): 1281–1287.
10. International Conference on Harmonization (ICH), Q2A: Text on Validation of Analytical Procedures: Definitions and Terminology, Vol. 60, US FDA Federal Register, 1995.
11. International Conference on Harmonization (ICH), Q2B: Validation of Analytical Procedures: Methodology, Vol. 62, US FDA Federal Register, 1997
12. Jong Suk Park., In Sook Kim., Shaheed Ur Rehman., Chun Soo Na., Hye Hyun Yoo., HPLC Determination of Bioactive Flavonoids in Hovenia dulcis Friut Extracts, Journal of Chromatographic Science, 2016, Vol.54, No. 2, pp. 130-135.
13. Jin M-Y, Ding Y, Zhang T, Cai Z-Z, Tao J-S, Simultaneous determination of dihydromyricetin and resveratrol in Ampelopsis sinica (Miq.) WT Wang by high-performance liquid chromatography coupled with a diode array detection method. Journal of Chromatographic Science. 2014; 52(4): 339-343.

14. Tan Y, Tong M, Zhang Y, Xu Y, Zhai Y. Determination of taxifolin in Polygonum orientale of different storage period. Zhongguo Zhong Yao Za Zhi. 2013; 38(17): 2779-2781.
15. Ciu-ping Z, Shuai H, Wen-ting W, Shun P, Xiao-ge S, Ya-jing L, et al.; Development of high-performance liquid chromatographic for quality and authenticity control of Chinese propolis. Journal of Food Science. 2014; 79(7): C1315-C1322.
16. Li B, Wang M, Tan Y, Tong M, Zhai Y. Simultaneous determination of four flavones in root and stem of Cudrania tricuspidata and C.cochinchinensis by HPLC-DAD. Zhongguo Zhong Yao Za Zhi. 2013; 38(2): 167-170.

*Танилцаж, нийтлэх санал өгсөн:
Анагаах ухааны доктор, профессор Л.Батхуяг*