

“Монгол хунчир” тарилгын эмэнд каликозин-7-О-β-D-гликозид тодорхойлох өндөр идэвхт шингэний хроматографийн аргын баталгаажилт

Цэндбадам Б.¹, Баттулга Б.², Лхаасүрэн Р.^{2*}, Балжинням И.¹, Цэцэгмаа С.², Хүрэлбаатар Л.², Мөнхцэцэг Р.¹

¹“Цомбо” фарм ХХК, Улаанбаатар хот, 18072-0021, Монгол улс

²Эм судлалын хүрээлэн

*E-mail: Lkhaasuren@monos.mn

Abstract:

Method validation of calycosin-7-O-β-D-glucoside in “Astragalus mongholicus” injection by High-performance liquid chromatography

Tsendbadam B.¹, Battulga B.², Lkhaasuren R.^{2*}, Baljinnyam I.¹, Tsetsegmaa S.², Khurelbaatar L.², Munkhtsetseg R.¹

¹“Tsombo” Pharma” Co., LTD, Ulaanbaatar, 18072-0021, Mongolia

²Drug research insitute, Ulaanbaatar, 14250, Mongolia

*E-mail: Lkhaasuren@monos.mn,

Introduction

Calycosin-7-O-β-D-glucoside is a glycosyloxyisoflavone that is calycosin substituted by a beta-D-glucopyranosyl residue at position at 7 via a glycosidic linkage. calycosin-7-O-β-D-glucoside, a calycosin derivative compound derived from Astragali Radix, has protective effect against ischemia/reperfusion injury as well as bacterial endotoxin-induced vascular cell injury. A joint research team of the “Tsombo Pharm” Co., LTD and the Drug research Institute is conducting an experiment to produce a solution of “Astragalus mongholicus” injection prepared by Astragalus mongholicus bunge.

Goal

The aim of this study was to develop the validation method of Calycosin-7-O-β-D-glucoside in “Astragalus mongholicus” injection.

Material and Methods

As a test sample “Astragalus mongholicus” injection was produced by “Tsombo pharma” Co., LTD. The standard Calycosin-7-O-β-D-glucoside was supplied from Xilong Scientific Co., Ltd. The reagent were high-performance liquid chromatography (HPLC) grade acetonitrile, formic acid, methanol and purified water. Shimadzu HPLC (CMB-20 A, UV detector Shimadzu SPD-20A) was used as the analytical instrument and the analysis conditions were as follows Table 1.

Results

The calibration curves for Calycosin-7-O-β-D-glucoside 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 12.5-100 μg/ml. The linear correlation coefficient (R²) for all calibration curves was higher than 0.9981 for all analytes. The limit of detection and limit of quantitation for Calycosin-7-O-β-D-glucoside were in 10.37 μg/ml and 31.45 μg/ml. Accuracy and precision were assessed by analyzing five sets of samples, independently prepared at low (50%) middle (100%) and high (150%) concentrations. The RSD values of both repeatability and intermediate

precision were below 0.68% and 0.618% the accuracy remaining between 95.55 to 101.71%. The resulting accuracy data were satisfactory for the quantitative analysis of Calycosin-7-O- β -D-glucoside in "Astragalus mongholicus" injection.

Conclusions

Finally, this method can be employed conveniently, reliably and successfully for the estimation of Calycosin-7-O- β -D-glucoside for routine quality control and stability studies in "Astragalus mongholicus" injection.

Key words: injection, Method validation, Astragalus,

Pp. 43-50, Tables 5, Figures 3, References 15

Оршил

Хунчирын зүйл ургамлаас хамгийн их судлагдсан нь Монгол хунчир (*Astragalus mongholicus bunge*) болон Сарьслаг хунчир (*Astragalus membranaceus (Fisch.) Bge*) ургамал бөгөөд дархлааны үйл ажиллагаа сайжруулах, шээс хөөх, гипертензийн эсрэг, хөгшрөлтийн эсрэг, стрессийн эсрэг, бактерийн эсрэг, үрэвслийн эсрэг зэрэг үйлчилгээг судлаж тогтоосон байдаг [1, 2, 3].

Каликозин-7-О- β -D-глюкозид нь Хунчир ургамлын үндэснээс гаргаж авсан каликозины үүсмэл нэгдэл бөгөөд ишеми/реперфузийн гэмтлээс гадна бактерийн эндотоксиноос үүдэлтэй судасны эсийн гэмтлээс хамгаалах үйлчилгээтэй [4, 5]. Каликозин-7-О- β -D-глюкозид нь байгалийн изофлавоноид [6] бөгөөд энэ нь гликозидын холболтоор 7-р байрлалд бета-D-глюкопиранозилийн үлдэгдэлээр орлуулагдсан каликозин. Бүгд найрамдах хятад ард улсын фармакопей 2010 [7] (CP- 2010)-д Хунчир ургамлын үндэсэнд Каликозин-7-О- β -D-глюкозид тодорхойлох арга зүй оруулсан байдаг.

Хятад улсад Сарьслаг хунчир ургамлын үндэснээс тарилгын эм гарган авсан байдаг. Орчин үеийн фармакологийн судалгаагаар энэхүү тариа нь миокардийн агшилтыг сайжруулж, цусны эргэлтийг сайжруулж, миокардийн эсийг хамгаалж, дархлааны үйл ажиллагааг зохицуулдаг болохыг тогтоожээ [8,9].

"Цомбо фарм" ХХК болон Эм судлалын хүрээлэнгийн хамтарсан судалгааны баг Монгол хунчир ургамлаас бэлтгэсэн "Монгол хунчир" тарилгын эм гарган авах туршилт судалгааг гүйцэтгэж байгаа. Гэвч Монгол хунчир

ургамлаас бэлтгэсэн тарилгын эмийн хэлбэрт Каликозин-7-О- β -D-глюкозид тодорхойлох химийн шинжилгээний арга судлагдаагүй байна.

Иймд "Монгол хунчир" тарилгын уусмалд агуулагдах Каликозин-7-О- β -D-глюкозидын хэмжээг ӨИШХ-ийн аргаар тодорхойлох арга зүйг боловсруулж, арга зүйг баталгаажуулах зорилго тавьсан. Өвөрмөц/сонгомол чанар, үнэмшилт чанар, нарийвчлал (давтагдах чанар, дундаж утгын нарийвчлал), шугаман чанар, илрүүлэх хязгаар, тодорхойлогдох хязгаар зэрэг үзүүлэлтээр аргыг баталгаажилт хийх зорилт тавьсан.

Материал, арга зүй

Стандарт бодис болох Каликозин-7-О- β -D-глюкозид RS(98% HPLC)-ыг Sigma-Aldrich Co., Ltd –ээс, ӨИШХ-ийн цэвэршилттэй органик уусгагч (метанол, 99.9%, HPLC grade, ацетонитрил 99.9%, HPLC grade) болон шоргоолжны хүчил Ra, 85.9%-ийг Xilong Scientific Co., Ltd-ээс тус тус худалдан авч хэрэглэсэн. ӨИШХ (Shimadzu CMB-20 A, UV detector Shimadzu SPD-20A), Shimadzu, Shimpack 5u C18, (100A, 250*4.6 mm) багана, органик уусгагч шүүх 0.45 μ m тариурын шүүлтүүр зэргийг ашиглав. Судалгаанд "Цомбо фарм" ХХК болон Эм судлалын хүрээлэнгийн туршилт үйлдэрлэлийн цехийн судалгааны материаллаг баазыг ашиглан Монгол хунчир ургамлаас бэлтгэсэн "Монгол хунчир" тарилгын уусмлыг ашигласан.

Хроматографийн нөхцөл: Хүснэгт 1-д харуулав.

Table 1. Analytical conditions of Calycosin-7-O-β-D-glucoside using HPLC

Mobile phase	Acetonitrile (A): 0.2% formic acid (B) A 20-31% and B 80-69% at 0-11 minutes A 31-20% and B 69-80%. at 11-20 minutes
Column	Shimpack C18 250 mm x 4.6 mm, 5μm
Column oven temperature	30°C
Detector wavelength (PDA)	260 nm
Flow rate	1.2 мл/мин
Run time	21 min
Injection volume	20 μl

Стандарт уусмал бэлтгэх: Стандарт Каликозин-7-О-β-D-глюкозидоос 0.005 г-ыг нарийвчлалтай жинлэн авч 100 мл-ийн хэмжээст колбонд хийж хэмжээс хүртэл метанол /ӨИШХ-д зориулсан/-оор сулруулна. Уг уусмалаас 5 мл-ийг авч мембран шүүлтүүр /органик уусгагч шүүх зориулалттай, тариурын/-ээр шүүнэ.

Дээж уусмал бэлтгэх: “Хунчир хунчир” тарилга эмээс 20 ампулыг задлан хольж, 5 мл-ийг хэмжин авч ууршуулагч аяганд хийгээд усан халаагуурын 80°C-д бүрэн ууршуулж хатаана. Ууршуулагч аягатай дээжийг тасалгааны хэмд хөргөсөны дараа 2.5 мл давхар нэрсэн ус нэмж хэт авианы усан халаагуурт 5 минут тавиж сайтар уусгаад 25 мл-ийн хэмжээст колбонд шилжүүлэн хийнэ. Ууршуулагч аяганд үлдсэн үлдэгдэл дээж уусмалыг 5 мл цэвэр метанолоор 2 удаа зайлж дээжийг шилжүүлсэн 25 мл-ийн хэмжээст колбонд нэмнэ. Дараа нь дээж уусмалыг шилжүүлсэн 25 мл-ийн хэмжээст колбийг хэмжээс хүртэл цэвэр метанол оор сулруулна. Дээж уусмалыг 10 минут хэт авианы усан халаагуурт тавиад, тасалгааны хэмд 15 минут хөргөсөний дараа уусмалын хэмжээ хэмжээст колбоны хэмжээснээс доогуур болсон байвал метанол /ӨИШХ-д зориулсан/-оор дахин хэмжээс хүртэл дүүргэнэ. Дараа нь центрифугын хуруу шилэнд 5 мл-ийг таслан авч 2500 эрг/минутанд 10 минут центрифугидаад супернатантыг болгоомжтой соруулан авч 0.45 мкм мембран шүүлтүүр (органик уусгагч шүүх зориулалттай, тариур)-ээр цэвэр хуруу шил рүү шүүнэ.

0.2%-ийн шоргоолжны хүчил бэлтгэх: Шоргоолжны хүчлээс 2.35 г-ыг нарийвчлалтай хэмжин авч 1000 мл-ийн хэмжээст колбонд хийгээд хэмжээс хүртэл давхар нэрсэн усаар сулруулна. Уг уусмалыг 0.45 мкм-ийн дискэн шүүлтүүр (цаасан)-ээр шүүж ӨИШХ-ийн багажинд холбоно.

Өндөр идэвхт шингэний хроматограммаас дээж уусмалын пикийн талбайг стандарт уусмалын пикийн талбайтай харьцуулж, Каликозин-7-О-β-D-глюкозидын агууламжийг дараах томъёогоор тооцож, нэг ампул тарилга эмэнд агуулагдах г-ын хэмжээг гаргана.

$$X = \frac{S_x \cdot a_{cm} \cdot V_2}{S_{cm} \cdot V_1 \cdot a_x} \cdot \frac{A_{\%}}{100\%} \cdot P$$

X – Каликозин-7-О-β-D-глюкозидын агууламж, г/ампул

S_{cm} – Стандарт уусмалын пикийн талбай

S_x – Дээж уусмалын пикийн талбай

a_{cm} – Стандарт бодисын хэмжээ, г

a_x – Дээжний хэмжээ, мл

V_1 – Стандарт уусмалын шингэрүүлэлт, 100 мл

V_2 – Дээж уусмалын шингэрүүлэлт, 25 мл

$A_{\%}$ - Стандарт бодисын цэвэршилт, %

P – Дундаж эзэлхүүн, мл (2)

Аргын баталгаажилтыг ӨИШХ-ийн аргаар хийхдээ International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH)-н удирдамж болон бусад бичиг баримтуудын дагуу хийж гүйцэтгэсэн [10,11,12].

Үр дүн, хэлцэмж

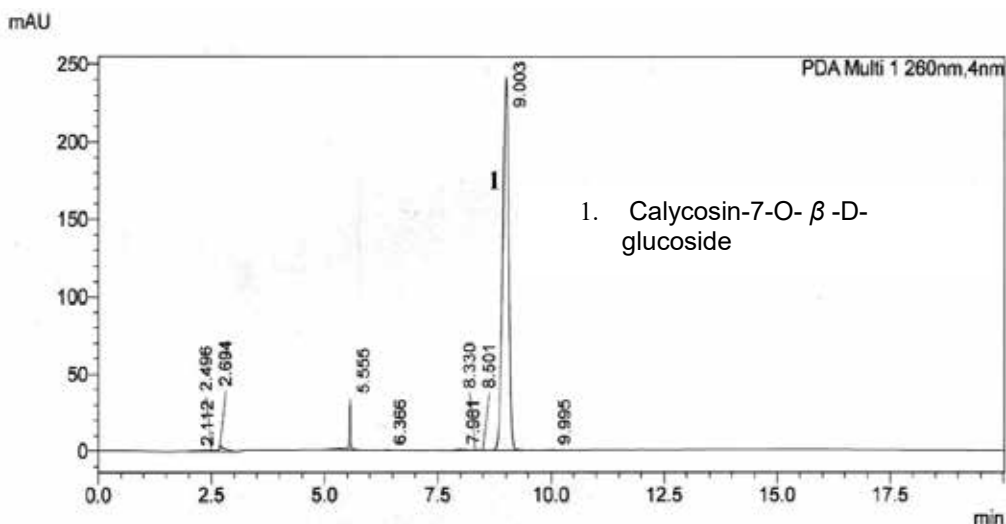
Бид судалгаандаа СР-2010-ын аргад үндэслэн хөдөлгөөнт фазын системийг сонгон тохиромжтой харьцааг тогтоож, ӨИШХ-ийн багажны нөхцөлүүдийг өөрчлөн туршиж аргазүйг боловсруулж судалгааг гүйцэтгэсэн. Хунчир ургамлын түүхий эдийн найрлагатай Qixiang капсул [13], Bufeihuoxue [14] капсул болон Yiganning [15] гранул эмэнд Каликозин-

7-О-β-D-глюкозидын агууламжийг өндөр идэвхт шингэний хроматографи (ӨИШХ)-ийн аргаар тодорхойлсон байдаг.

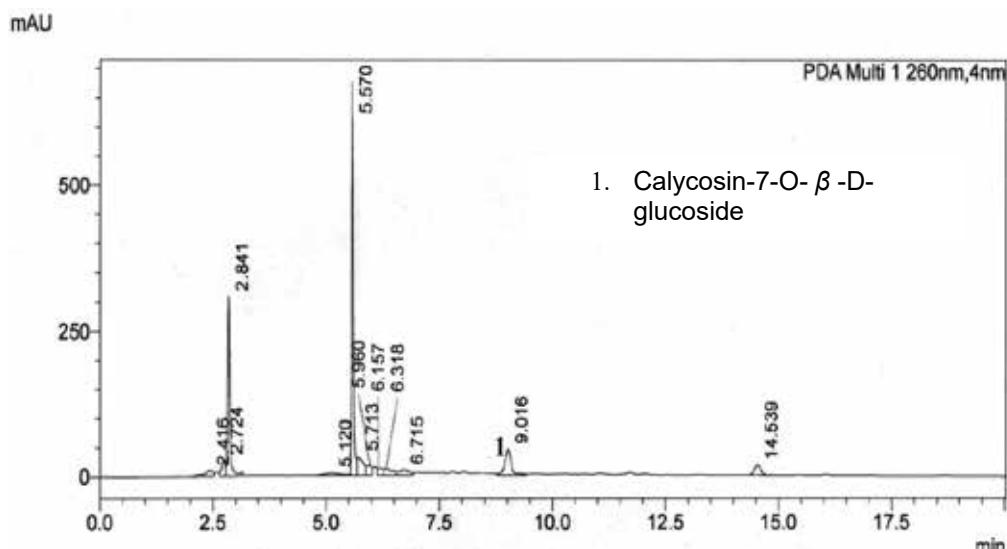
3.1 Өвөрмөц/Сонгомол чанар

“Монгол хунчир” тарилгад агуулагдах Каликозин-7-О-β-D-глюкозидын тооны тодорхойлолтын сонгомол чанарыг шалгахдаа тооны тодорхойлолтод хэрэглэгддэг дээж болон

стандарт уусмалыг тарих ба хроматографид баригдах хугацаа ижил байна. Туршилтын үр дүнг зураг 1, 2 –т үзүүлээ. Стандарт болон дээж уусмалын баригдах хугацаа ижил 9.0 минутанд илэрсэн нь сонгомол чанартай бөгөөд системийн таарц сайн байгааг баталж байна. Иймд уг ӨИШХ-ийн арга тохиромжтой гэж үзэн аргыг баталгаалтыг үргэжлүүлэн хийв.



Picture 1. Chromatogram of Calycosin-7-O-β-D-glucoside (99.9%)



Picture 2. Chromatogram of “Astragalus mongholicus” injection sample

Үнэмшилт чанар

Арга зүйд заасан ажлын дээжийн концентрацийг 100% гэж үзэн, түүнээс 50-150%-н ялгаатай гурван дээж уусмал бэлтгэн шинжилгээг хийсэн. “Монгол хунчир” тарилгад үнэмшилт чанар тодорхойлсон үр дүнг хүснэгт 2-т үзүүлээ.

“Монгол хунчир” тарилгад агуулагдах Каликозин-

7-О-β-D-глюкозид тодорхойлох тооны анализын үнэмшилт чанарыг тодорхойлохдоо стандарт бодистой харьцуулан 3 өөр концентрацитай дээж бэлтгэн явууллаа. Нийт 3 туршилтын харьцангуй стандарт хазайлт (RSD) 1.93%, 1.4%, 1.8% гарч байгаа нь 2.0%-иас бага тул шаардлага хангаж байна.

Table 2. Accuracy of quantitative analysis of “Astragalus mongholicus” injection sample

№	Sample concentration, µg/ml	Result, µg/ml	Recovery, %	Mean value %	Qualified	RSD %	Qualified
1	16.5	15.7	95.15				
2	16.5	15.5	93.93	95.55	Yes	1.93	Yes
3	16.5	16.1	97.57				
	Permissible amount			90-110%		Not more than 2.0%	
1	35	35.1	100.28				
2	35	35.6	101.71	101.71	Yes	1.4	Yes
3	35	36.1	103.14				
	Permissible amount			90-110%		Not more than 2.0%	
1	52	52.1	100.1				
2	52	51.7	99.42	98.75	Yes	1.8	Yes
3	52	50.3	96.73				
	Permissible amount			90-110%		Not more than 2.0%	

Нарийвчлал

“Монгол хунчир” тарилгад агуулагдах Каликозин-7-О-β-D-глюкозидын тооны анализын нарийвчлалыг тодорхойлохдоо аргын нарийвчлал, дундаж утгын нарийвчлал зэрэг үзүүлэлтээр тодорхойлсон ба үр дүнг хүснэгт 3, 4 –т үзүүллээ.

Table 3. Method precision (Results of repeatability)

Injection Number	Retention Time (min-ute)	Peak area	Peak height
Replicate 1	9.016	44810	458199
Replicate 2	9.028	44414.42	454154
Replicate 3	9.003	45042.95	460581
Replicate 4	9.053	44900.56	459125
Replicate 5	9.014	44593.77	455988
Replicate 6	9.058	45182.11	462004
Replicate 7	9.023	44619.79	456254
Replicate 8	9.025	44682.08	456891
Replicate 9	9.047	45182.02	462003
Replicate 10	9.012	45156.88	461746
Mean	9.0279	44858.46	458694.5
ST DEV	0.019	277.28	2835.3
RSD %	0.2	0.68	0.61

“Монгол хунчир” тарилгад агуулагдах Каликозин-7-О-β-D-глюкозидын тооны тодорхойлолт хийх аргын нарийвчлалыг 10 удаагийн давталттай хэмжилтээр шалгахад RSD 2.0%-иас ихгүй байгаа нь шаардлага хангаж байна.

Дээж болон стандарт уусмалаас 20 мкл-ийн хэмжээгээр дараалуулан тарих бөгөөд 5 тарилтын дараах хроматограмм дахь Каликозин-7-О-β-D-глюкозидын пикийн талбайн RSD 2.0%-иас ихгүй байна. Дундаж утгын нарийвчлалыг тодорхойлоход RSD 0.618% гарч шаардлага хангасан.

Table 4. Results for determining intermediate precision

№	Sample	Calycosin-7-O-β-D-glucoside, µg/ml	
		First analyzer/ Day 1	Second analyzer/ Day 2
1	"Astragalus mongholicus" injection sample	37.7	38.01
2	"Astragalus mongholicus" injection sample	37.4	37.53
3	"Astragalus mongholicus" injection sample	37.9	37.6
4	"Astragalus mongholicus" injection sample	37.77	38.01
5	"Astragalus mongholicus" injection sample	37.51	37.99
7	Mean (n = 5)	37.656	37.828
8	RSD % (n = 10)	0.618	
9	Permissible amount (n = 10)	Not more than 2.0%	
10	Qualified	Yes	

Шугаман чанар

Жишиг муруйд регрессийн анализ хийж шулууны тэгшгэлийг ашиглан уг аргын тодорхойлох хязгаар, илрүүлэх хязгаарыг тогтоов [10-11].

Table 5. Linearity of standard Calycosin-7-O-β-D-glucoside

№	Norminal concentration of standard, µg/ml	Peak area, mAU	Real concentration of solution, µg/ml	Recovery, %
1	12.48	732903	11.3187	90.69469
2	24.96	1465806	23.48973	94.10949
3	37.44	2230929	34.81154	92.97955
4	49.92	2939449	46.4436	93.03605
5	74.88	4304361	68.8519	91.94965
6	99.84	6068881	97.82072	97.97749
Mean /n=6/				96.02
SD				2.5
Intercept				45651
Slope				60150
SE of intercept				77220
SD of intercept				189189

Каликозин-7-О-β-D-глюкозидын тооны тодорхойлолтын шугаман чанарыг ажлын стандарт уусмалын концентраци (0.15 мг/мл) -иас 25%-200% ялгаатай уусмалууд бэлтгэн тус бүрийн хроматограммын пикийн талбайг хэмжин

тодорхойлоллоо. Шугаман чанар тодорхойлсон үр дүнг Хүснэгт 5, Диаграмм 1 –т тус тус үзүүлээ. Үр дүнгээс харахад жиших муруйн корреляцийн коэффициент R²=0.998 байсан нь шугаман хамааралтай байгааг баталж байна.

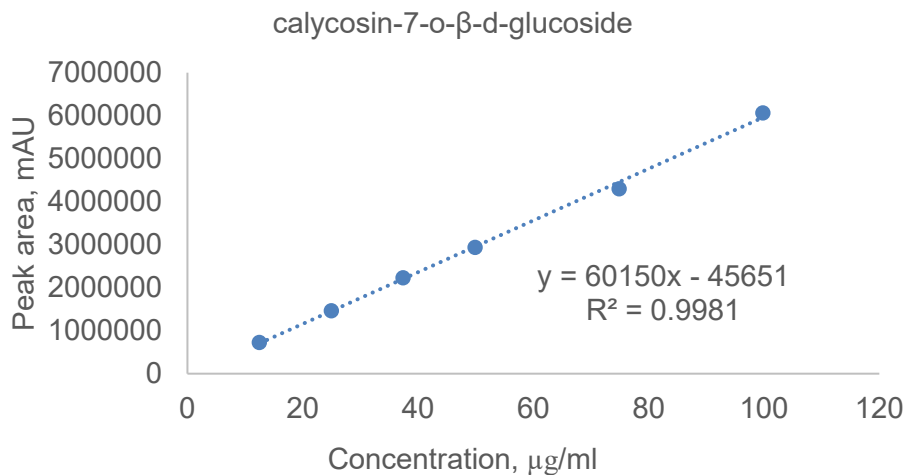


Fig 1. Linearity of standard Calycosin-7-O-β-D-glucoside

Илрүүлэх хязгаар

$$\frac{3.3 \times \sigma}{S} \rightarrow \frac{3.3 \times 189189}{60150} = 10.37 \text{ мкг/мл}$$

Энд: – стандарт хазайлт; – Налуу (Slope)

Илрүүлэх хязгаарыг жиших муруйн шулууны тэгшитгэл ашиглан тооцоолж, хамгийн бага илрүүлэх концентраци 10.37 мкг/мл болохыг тогтоолоо.

Тодорхойлогдох хязгаар

$$\frac{10 \times \sigma}{S} \rightarrow \frac{10 \times 189189}{60150} = 31.45 \text{ мкг/мл}$$

Энд: – стандарт хазайлт; – Налуу (Slope)

Тодорхойлогдох хязгаарыг жиших муруйн шулууны тэгшитгэл ашиглан тооцоолж, хамгийн бага тодорхойлох концентраци 31.45 мкг/мл болохыг тогтоолоо.

“Монгол хунчир” тарилгад агуулагдах Каликозин-7-O-β-D-глюкозидын тооны тодорхойлолтыг дээрх арга зүйгээр хийхэд тохиромжтой болохыг баталлаа.

Дүгнэлт

“Монгол хунчир” тарилгын үүсмэлд агуулагдах Каликозин-7-O-β-D-глюкозидыг тодорхойлох ӨИШХ-ийн аргыг баталгаажуулан цаашид энэхүү аргаар шинжилгээг хийж гүйцэтгэх боломжтой болохыг тогтоолоо.

Ном зүй

1. Yue-Hua Jiang, Wei Sun, Wei Li, Hong-Zhen Hu, Le Zhou, Hui-Hui Jiang and Jing-Xin Xu. Calycosin-7-O-β-D-glucoside promotes oxidative stress-induced cytoskeleton reorganization through integrin-linked kinase signaling pathway in vascular endothelial cells. BMC Complementary and Alternative Medicine (2015) 15:315
2. Ma X, Zhang K, Li H, Han S, Ma Z, Tu P. Extracts from Astragalus membranaceus limit myocardial cell death and improve cardiac function in a rat model of myocardial ischemia. J Ethnopharmacol. 2013;149(3):720–8.
3. Wang X, Li Y, Yang X, Yao J. Astragalus polysaccharide reduces inflammatory response by decreasing permeability of LPS-infected Caco2 cells. Int J Biol Macromol. 2013;61:347–52.
4. Cheng-Chia Tsai, Hsing-Hsien Wu, Ching-Ping Chang, Cheng-Hsien Lin, Hsi-Hsing Yang. Calycosin-7-O-β-D-glucoside reduces myocardial injury in heat stroke rats. J Formos Med Assoc. 2019 Mar;118(3):730-738.
5. Shaw LH, Chen WM, Tsai TH. Identification of multiple ingredients for a Traditional Chinese Medicine preparation (bu-yang-huan-wu-tang) by liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. Molecules. 2013;18(9):11281–98.
6. Li Jian, Lin Xin, Ma Yufang, Huang Yifan. Protective effect of calycosin-7-O-β-D-glucopyranoside against

- oxidative stress of BRL-3A cells induced by thioacetamide. 2015. Pharmacognosy Magazine. Vol 11. Issue 43.
7. Pharmacopoeia of the people's republic of china. 2010. Volume I. China Medical Science Press. Beijing, China, 2010, p.58-60
 8. Shufei Fu, Junhua Zhang, Francesca Menniti-Ippolito, Xiumei Gao, Francesca Galeotti, Marco Massari, Limin Hu, Boli Zhang, Rita Ferrelli, Alice Fauci, Fabio Firenzuoli, Hongcai Shang, Ranieri Guerra, Roberto Raschetti. Huangqi Injection (a Traditional Chinese Patent Medicine) for Chronic Heart Failure: A Systematic Review. PLoS ONE. 2011. Volume 6. Issue 5. e19604
 9. K. L. Jiang and X. H. Dai, "Research development of TCM for treating renal damage induced by hypertension," Clinical Journal of Traditional Chinese Medicine, vol. 23, no. 6, pp. 554–555, 2011.
 10. Register UFF. Text on Validation of Analytical Procedures. Definitions and Terminology. 1995;60.
 11. Register UFF. International Conference on Harmonization (ICH), Q2B: Validation of Analytical Procedures. Methodology. 1997; 62
 12. Validation of Compendial Methods, <1225> U.S. Pharmacopoeia 26-National Formulary 21, United States Pharmacopoeial Convention, Rockville MD, 2003. Volume No.31(2) p.549
 13. Liu Gui-hua, Xing Jian-guo, He Cheng-hui, Wang Yun-fei¹, Payiman-Haimiti, Xi Mei. Simultaneous determination of salidroside, paeoniflorin and calycosin-7-O- β -D-glucoside in Qixiang Capsules by HPLC. China Journal of Hospital Pharmacy 2017, Vol. 37 Issue (15): 1440-1443
 14. Q. Tang, X. Zhu, Y. Zheng, M. Guan, W. Peng W. Su . Determination of Calycosin-7-O- β -D-glucoside and Calycosin in Bufeihuoxue Capsules by HPLC. November 2017 Zhongshan Daxue Xuebao/Acta Scientiarum Natralium Universitatis Sunyatseni 56(6):123-127
 15. Li Ji-mei, Tang Cheng, Gao Sen. Determination of feretoside, asperulosidic acid, asperuloside, danshensu, salvianolic acid B, tanshinone II A, calycosin 7-O- β -D-glucopyranoside, and formononetin in Yiganning Granules by HPLC. Drugs & Clinic. 2020(08) Page:1527-1531

*Танилцаж, нийтлэх санал өгсөн:
Анагаахын шинжлэх ухааны доктор,
профессор Ч.Чимэдрагчаа*