

## ЭМЗҮЙ, ЭМ СУДЛАЛ

### Анар-5 шахмал эмэнд пиперин тодорхойлох өндөр идэвхт шингэний хроматографийн аргын баталгаажил

Энхзаяа Л.<sup>1,2</sup>, Эрдэнэчимэг Ч.<sup>1</sup>, Мядагбадам У.<sup>1</sup>, Энхжаргал Д.<sup>2</sup>, Чимэдрагчаа Ч.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Уламжлалт анагаах ухаан технологийн хүрээлэн

<sup>2</sup>Анагаахын шинжлэх ухааны үндэсний их сургууль, Эм зүйн сургууль  
e-mail: Lkhagvadorjenkhzaya@gmail.com

Түлхүүр үг: Пиперин, Анар-5, аргын баталгаажилт

<sup>4</sup>Нийгмийн эрүүл мэндийн үндэсний төв

E-mail: suvd552001@gmail.com

Түлхүүр үг: Пиперин, Анар-5, аргын баталгаажилт

#### Abstract

### Determination of piperine in Anar-5 tablets by high performance liquid chromatography and method validation

Enkhzaya L.<sup>1,2</sup>, Erdenechimeg Ch.<sup>1</sup>, Myadagbadam U.<sup>1</sup>, Enkhjargal D.<sup>2</sup>, Chimedragchaа Ch.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute of Traditional Medicine and Technology

<sup>2</sup>School of Pharmacy, MNUMS

E-mail:Lkhagvadorjenkhzaya@gmail.com

#### Introduction

One of the main ingredients of Anar-5 tablets is Piper longium L. Piperine alkaloids are the main active ingredients of the Piper longum and have anti-inflammatory, antioxidant and gastric protection properties. In the framework of the standardization study of Anar-5 tablets, a method was developed to determine the content of piperine in highly performance liquid chromatography, and then it was sought to include it in the method of analysis of Anar-5 drugs.

#### Goal

Quantitative determination of piperine in Anar-5 tablets and validate the method

#### Material and Methods

The research was conducted in the Chemistry and Chemical Technology Laboratory of the Research Center of the Institute of Traditional Medicine and Technology. And Anar-5 tablets (serial number 04012020) that are produced for experimental were used in the research. The standard substance, piperine alkaloids, was purchased from Green Chemistry. Purification of HPLC (organic solvent methanol, 99.9%, distilled water) was used. The EX 1600 HP/ PUMP high-performance liquid chromatography instrument (column Arcus EP+-C18, 5µm, 4.6x250 mm) and the organic solvent filter 0.45 µm syringe filter were used. The methodology related to this research was discussed and approved at the online meeting of the Ethics Committee of the Academy of Sciences on January 26, 2021. SPSS 16 software was used to statistically program the survey results.

#### Results

According to the above method, the retention time of the standard piperine is 10.38± 0.02 minutes, and the retention time of the piperine in Anar-5 tablets is 10.42±0.033 minutes. Relative velocity deviation RSD 1.077%, accuracy 0.65446±0.0068mg, stability 0.61298±0.013mg, capture time 10.42±0.033 minutes, relative standard deviation RSD≤2%, specificity 10.35 minutes, The equation of a line constructed with a standard curve is y=43360x-33587 and the correlation coefficient R<sup>2</sup>=0.9989. The piperine content of Anar-5 tablets was determined to be 0.61298±0.013 mg. The LOD and LOQ for piperine were in 2.268 µg/ml and 6.873 µg/ml, respectively.

**Conclusion**

The content of piperine in Anar-5 tablets can be determined by the HPLC method, and the appropriate conditions for this method have been established. The HPLC method is unique, accurate, linear, and stable, and meets ICH Q2 (R1) guideline criteria.

**Key words:** Piperine, High performance liquid chromatography, Anar-5 tablets, method validation

Pp. 54-60, Tables 4, Figure 1, Pictures 2, References 16

**Үндэслэл**

Анар-5 шахмал эмийн найрлагад Сэмбру (*Punica granatum L.*), Улаан гаа (*Alpina officinarum L.*), Сүгмэл (*Amomum kravankh L.*) Габирын хальс (*Cinnamomum cassia L.*), Библин (*Piper longum L.*) ордог бөгөөд Библингийн түүхий эдийн үндсэн үйлчлэгч бодис нь пиперин алкалоид юм [1, 2]. Уг эмэнд агуулагддаг Пиперин нь үрэвслийн эсрэг, антиоксидант, ходоод хамгаалах, хоол боловсруулах эрхтний үйл ажиллагааг дэмжих үйлдэлтэй болох нь тогтоогдсон [3, 4]. Анар-5 талх эмэнд агуулагдаж буй түүхий эдүүдийн биохимийн судалгаа нь хийгдсэн байна [5, 6, 7]. Манай оронд Д.Уранзаяа нар 2019 онд Анар-5 найрлагын фармакологийн судалгааг хийжээ [8]. Гэвч уламжлалт анагаах ухаанд хэрэглэгдэж ирсэн талх эмэнд тулгуурлан гарган авсан Анар-5 шахмал эмэнд агуулагддаг гол биологийн идэвхт бодисын нэг болох пиперинийг тодорхойлох өндөр идэвхт шингэний хроматографийн аргын баталгаажилт хийгдээгүй байгаа нь судалгааны ажлыг хийх үндэслэл боллоо.

**Зорилго**

Анар-5 шахмал эмэнд пипериний агууламжийг ӨИШХ-ийн аргаар тодорхойлж уг аргыг баталгаажуулах.

**Материал, арга зүй**

Судалгаанд Уламжлалт Анагаах ухаан Технологийн Хүрээлэн (УАУТХ)-ийн Уламжлалт эмийн үйлдвэр (УЭҮ)-т судалгааны зорилгоор үйлдвэрлэсэн (04012020) цувралын дугаартай Анар-5 шахмал эмийг ашигласан. Стандарт бодис пиперин (цэвэршилт 97%, цуврал P815922-201424) алкалоидыг “Грийн хими” ХХК-аас худалдан авч ашигласан. Өндөр идэвхт шингэний хроматограф (ӨИШХ)-ийн 99.9%-ийн цэвэршилттэй органик уусгагч метанол болон нэрмэл усыг хэрэглэв. EX 1600 HP/RUMP маркийн ӨИШХ-ийн багаж (багана Arcus EP+-C18, 5µm, 4.6x250 mm), органик уусгагч шүүх 0.45 µm тариурын шүүлтүүр зэргийг ашигласан. АШУҮИС-ийн Ёс зүйн хяналтын хорооны 2021 оны 01 сарын 26 өдрийн хурлаар хэлэлцүүлж

судалгааны ажлын ёс зүйн зөвшөөрлийг авсан. Судалгааны ажлын үр дүнгийн статистик боловсруулалтыг SPSS 20 программ ашиглан арифметик дундаж, стандарт хазайлт, стандарт алдаа бүлгийн хоорондох дундажын статистик ач холбогдлыг t тестийн аргаар статистик боловсруулалтыг хийсэн. Дүрс зураглал текст бичиглэгийг Microsoft Word, Microsoft Excel программ ашигласан

Стандарт уусмал бэлтгэх: Стандарт пиперинээс 0.001 г-ын нарийвчлалтайгаар жинлэн 0.5 мг-ыг авч 10 мл хэмжээст колбонд хийгээд, 9 мл, 96%-ийн усгүйжүүлсэн этанол нэмж сайтар уусгав. Дараа нь хэмжээс хүртэл 96% усгүйжүүлсэн этанолоор сулруулав (А уусмал). А уусмалаас 30, 50, 60, 100, 120 мкг/мл концентрацитай уусмалууд бэлтгэн уусмал тус бүрийг 0.45 мкм органик уусгагчид тэсвэртэй шүүлтүүрээр шүүж 20 мкл-ээр хроматографийн багажинд тарилт хийсэн.

Дээж уусмал бэлтгэх: Шахмал эмээс 20 ширхэгийг авч шаазан нухуурт хийж сайтар нунтагласны дараа 0.001 г-ын нарийвчлалтайгаар жинлэн 0.5 г-ыг авч, 25 мл-ийн эзэлхүүнтэй колбонд хийж, 20 мл, 96% усгүйжүүлсэн этанол нэмээд 30 минутын турш ультрасоник хандлагчид хандлав. Хандыг сайтар хөргөөсний дараа 25 мл хэмжээст колбонд шүүлтийн цаасаар шүүж хэмжээс хүртэл 96% усгүйжүүлсэн этанолоор сулруулав (А уусмал). Уг уусмалыг 0.45 мкм органик уусгагчид тэсвэртэй шүүлтүүрээр шүүж 20 мкл-ээр хроматографийн багажинд тарилт хийв.

Системийн таарц: Дээж болон стандарт уусмалаас 20 мкл-ийн хэмжээгээр дараалуулан тарих бөгөөд 5 тарилтын дараах хроматограмм дах пипериний пикийн талбайн харьцангуй хазайлт 2.0%-иас ихгүй байна. Өндөр идэвхт шингэний хроматографийн нөхцөлийг Хүснэгт 1-д харуулав.

Table 1. Analytical conditions of Piperine using HPLC

Mobile phase	Methanol: H2O (77 : 23)
Column	Shimpack C18 250mm x 4.6 mm, 5µm
Column oven temperature	22°C
Detector wavelength (PDA)	343 nm
Flow rate	0.5 ml/min
Run time	15 min
Injection volume	20 µl

Аргын баталгаажилт: Анар 5 шахмал эмэнд агуулагдах пиперинийг тодорхойлох ӨИШХ-ийн аргын баталгаажилтыг хийхийн өмнө системийн таарц буюу сонгомол чанарыг нөхцөл тус бүрт шалгаад хроматографийн тохиромжтой байх нөхцлийг сонгон авч, нарийвчлал, тогтвортой чанар, шугаман чанар, сонгомол чанар гэсэн үзүүлэлтүүдээр аргын баталгаажуулалтыг туршин шалгаж, статистик боловсруулалтыг хийлээ. Аргын нарийвчлалыг тодорхойлохдоо, дээжийн тоон агууламжийг тогтоож, дундаж утга болон харьцангуй стандарт хазайлтыг тооцов. Тогтвортой чанарыг тодорхойлохдоо ижил багажаар өөр өөр өдөрт шинжилгээг 5 удаагийн давталттайгаар хийж, дундаж утга болон харьцангуй стандарт хазайлтыг тооцов.

Шугаман чанар (Linearity)-ыг ажлын 500 мкг/мл концентрацитай уусмалаас 30, 50, 60, 100, 120 мкг/мл концентрацийн ялгаатай 5 өөр уусмал бэлтгэн тус бүрийн хроматограммын пикийн талбай болон концентрациас хамаарсан шулуун байгуулж, корреляцийн тогтмол (R<sup>2</sup>)-ыг

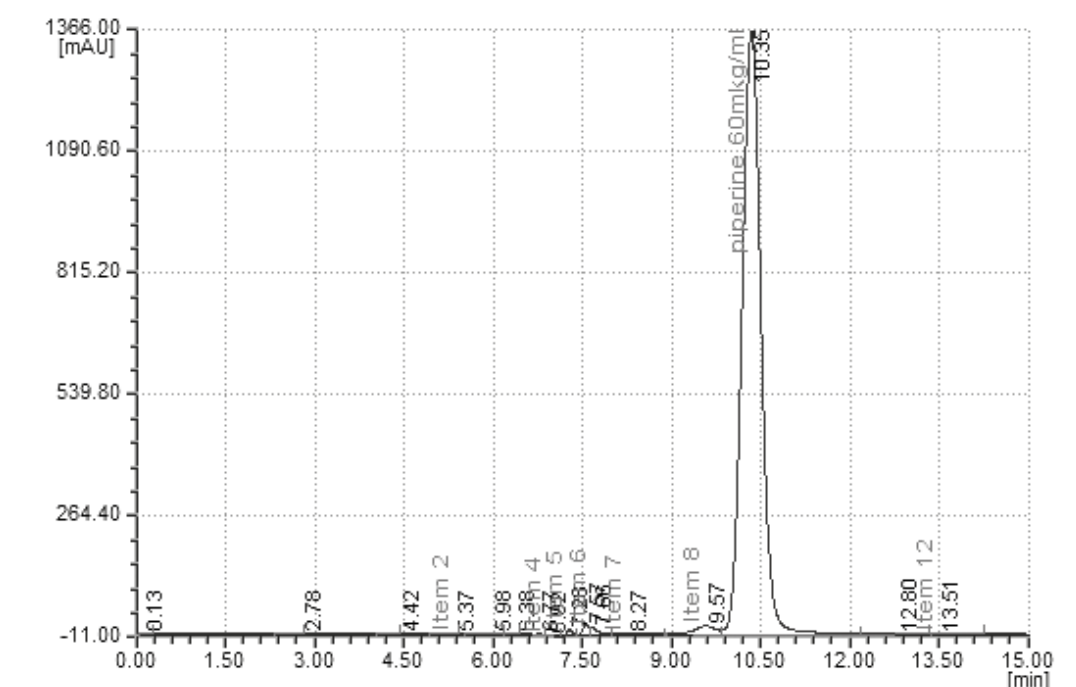
тодорхойлсон. Мөн жиших муруйд регрессийн анализ хийж, шулууны тэгшитгэлийг ашиглан уг аргын тодорхойлох хязгаар, илрүүлэх хязгаарыг тогтоосон.

### Үр дүн

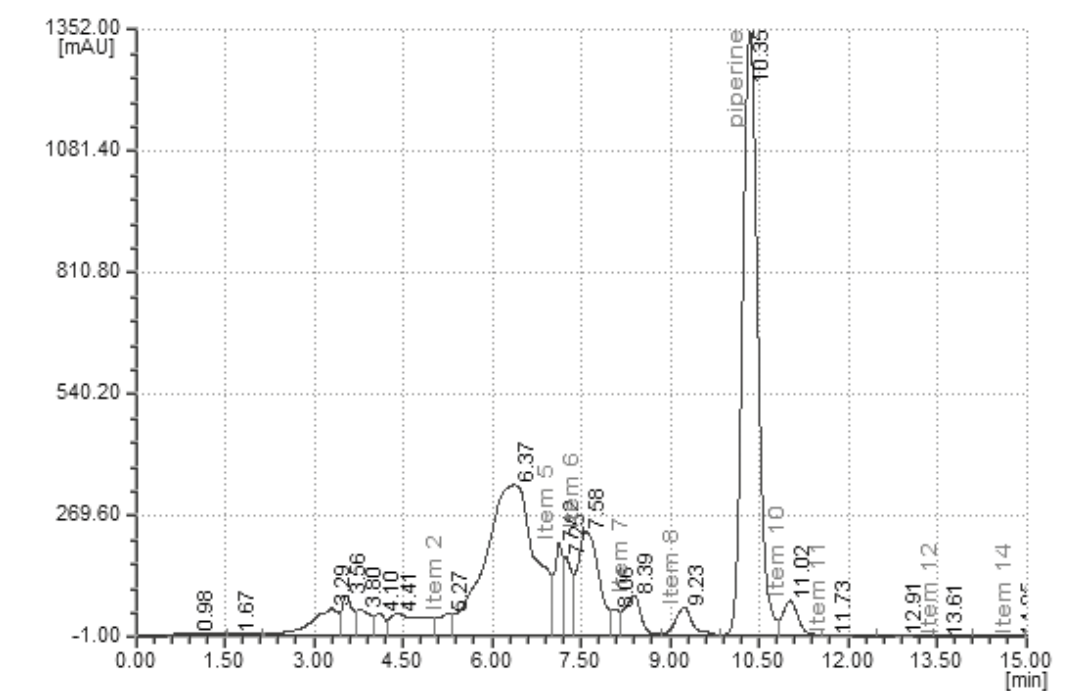
Бид судалгаандаа Библингийн түүхий эдийн БНХАУ-ын фармакопей (2010)-д заасан аргачлалын дагуу метанол-ус (77:23) хөдөлгөөнт фазын системд Анар-5 эмийн дээжийг стандарт бодистой харьцуулан ӨИШХ-ийн багажны өөр өөр хувилбарт нөхцөлүүдийг туршсаны үндсэн дээр пиперинийг тодорхойлох аргазүйг боловсруулж судалгааг хийсэн.

### Сонгомол чанар/Системийн таарц:

Анар-5 шахмал эмэнд агуулагдах пипериний тооны тодорхойлолтын сонгомол чанарыг тогтоохдоо дээж болон стандарт уусмалыг ижил хэмжээгээр багажинд тарив. Стандарт уусмал ба дээжийн хроматографид баригдах хугацаа ижил байсан. Туршилтын үр дүнг Зураг 1, Зураг 2 –т үзүүлээ.



Picture 1. Chromatogram of standard piperine (97%)



Picture 2. Chromatogram of "Anar-5 solution" tablets sample

Зургаас харахад стандарт пиперин болон дээж уусмалын пикийн баригдах хугацаа  $10.35 \pm 0.01$  минут байгаа нь сонгомол чанартай бөгөөд системийн таарц сайн байгааг баталж байна. Иймд уг ӨИШХ-ийн аргын нөхцлүүд тохиромжтой байна гэж үзэн аргын баталгаажилтыг хийсэн. Аргын баталгаажилтын нарийвчлал, тогтвортой чанар, шугаман чанарыг үнэлэх арга зүйг ашиглан баталгаажуулав [12].

**Нарийвчлал (Precision)**

Анар-5 шахмалд агуулагдах пипериний тооны шинжилгээг ӨИШХ-ийн аргаар хийсэн шинжилгээний нарийвчлалыг тодорхойлохдоо аргын нарийвчлал, дундаж утгын нарийвчлал зэрэг үзүүлэлтээр тодорхойлж үр дүнг Хүснэгт 2-т үзүүлэв.

Table 2. Result of precision

Injection number	Retention time (minute)	Peak area	Piperine, mg/ml
1	10.46	1597948	0.6467
2	10.37	1599787	0.6474
3	10.41	1626607	0.658
4	10.43	1628599	0.6588
5	10.43	1635203	0.6614
Mean (n=5)	10.42	1617629	0.65446
STDEV	0.033	17431	0.0068
RSD %	0.31	1.077	1.039

Хүснэгтээс харахад пипериний тооны шинжилгээний нарийвчлалыг Анар-5 шахмал эмэнд 5 удаагийн давталттай хэмжилт хийж тодорхойлоход харьцангуй стандарт хазайлт 1.039%, дундаж утгын нарийвчлал тодорхойлоход баригдах хугацааны харьцангуй стандарт хазайлт 0.31%, пикийн талбайн

харьцангуй стандарт хазайлт 1.077% байгаа стандартын шаардлага хангаж байна.

**Тогтвортой чанар (Stability)**

Анар 5 шахмал эмэнд пипериний тоон шинжилгээний тогтвортой чанар тодорхойлсон үр дүнг Хүснэгт 3-д үзүүлэв.

Table 3. Results of stability

Injection number	Retention time (minute)	Peak area	Piperine, mg/ml
1	10.35	1469983	0.5961
2	10.34	1492372	0.6048
3	10.35	1508690	0.6113
4	10.35	1536319	0.6222
5	10.63	1557195	0.6305
Mean (n=5)	10.40	1512911	0.6129
STDEV	0.13	34610	0.013
RSD %	1.25	2.28	2.12

Дээж уусмалаас 20 мкл-ийг хэмжин авч 24 цагийн дараа ӨИШХ-ийн багажинд тарьж стандарт уусмалтай харьцуулж пикийн талбайг хэмжив. Үр дүнгийн хоорондын зөвшөөрөгдөх хэлбэлзлийг стандарт хазайлтаар тооцоход 2.12%, баригдах хугацааны харьцангуй стандарт хазайлт 1.25%, пикийн талбайн харьцангуй стандарт хазайлт 2.28% байсан.

#### Шугаман чанар (Linearity)

Пипериний тоон шинжилгээний шугаман чанарыг дээрх найруулсан стандарт бодисын уусмалаас 30, 50, 60, 100, 120 мкг/мл-ийн концентрацитай 5 уусмалыг бэлтгэн тус бүрийн пикийн талбайг ӨИШХ-ийн аргаар хэмжин тодорхойллоо. Үр дүнг Хүснэгт 4, Зураг 1-т үзүүлээ.

Table 4. Linearity of standard piperine

Injection number	Normal concentration of standard, mkg/ml	Retention time (minute)	Peak area, mAU
1	120	10.38	5223949.2
2	100	10.35	4217737.1
3	60	10.36	2606306.8
4	50	10.41	2128854.0
5	30	10.39	1264828.2
Mean (n=5)		10.38	3088335
STDEV		0.02	1605812

Intercept 33587  
Slope- 43360  
SE of intercept- 66639.7  
SD of intercept- 29802

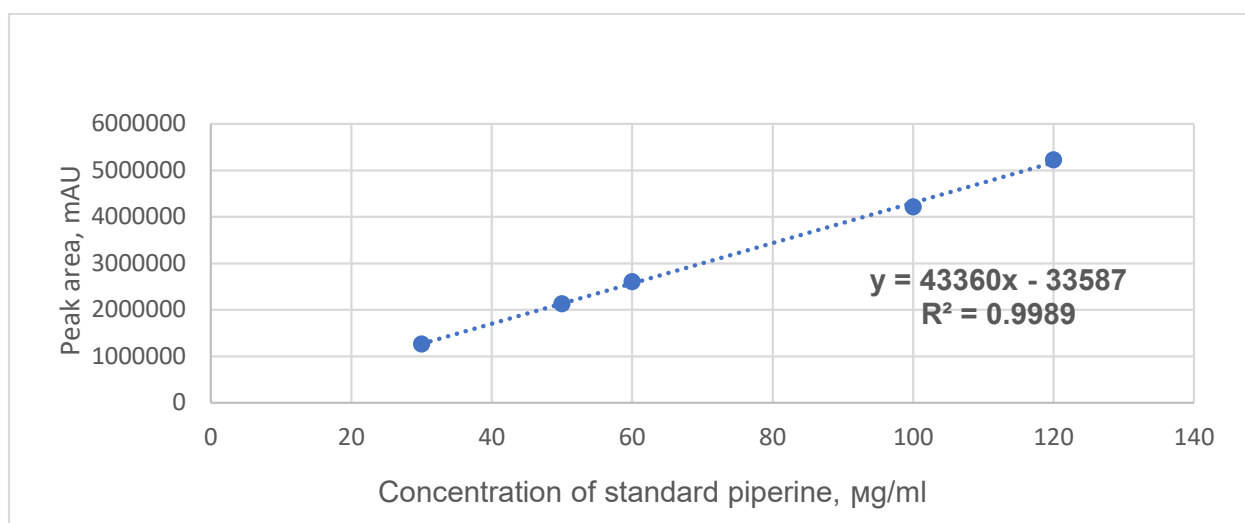


Figure 1. Linearity of Standard piperine

Дээрх үр дүнгээс харахад жиших муруйн корреляцийн коэффициент 0.9989 байсан нь шугаман хамааралтай байгааг баталж байна. Мөн илрүүлэх хязгаар (LOD) болон тодорхойлогдох хязгаар (LOQ)-ыг жиших муруйн үр дүнгээс регрессийн анализын аргаар тооцов. Үр дүнг доорх томъёогоор үзүүлэв.

$$LOD = \frac{3.3 \times \sigma}{S} \rightarrow \frac{3.3 \times 29802.2}{43360} = 2.268 \text{ мкг/мл}$$

Энд:  $\sigma$  – SD of intercept ;  $S$ – Налуу (Slope)

Илрүүлэх хязгаарыг жиших муруйн шулууны тэгшитгэл ашиглан тооцож хамгийн бага илрүүлэх хязгаар 2.268 мкг/мл болохыг тогтоов.

$$LOQ = \frac{10 \times \sigma}{S} \rightarrow \frac{10 \times 29802.2}{43360} = 6.873 \text{ мкг/мл}$$

Энд:  $\sigma$  – SD of intercept ;  $S$ – Налуу (Slope)

Тодорхойлогдох хязгаарыг жиших муруйн шулууны тэгшитгэл ашиглан тооцож хамгийн бага тодорхойлогдох концентраци 6.873 мкг/мл болохыг тогтоов.

#### Хэлцэмж

Анар-5 талх эм нь бага зэрэг гашуун, халуун амттай, бадганаар эс шингэсэн, ходоодны хүйтэн бэтэг, бөөлжих, дур булгих, зүрхний хий, бөөр бэлхүүсний хүйтэн өвчнүүдийг арилгах чадалтай бөгөөд уламжлалт онол фармакологийн судалгааны үр дүнд тулгуурлан УАУТХ-ийн УЭҮ-т судалгааны зорилгоор гарган авсан Анар-5 шахмал эмэнд пиперин алкалоидын агууламжийг ӨИШХ-ийн аргаар тооцоходоо Библингийн түүхий эдийн БНХАУ-ын фармакопей (2010) аргад үндэслэн метанол-ус (77:23) хөдөлгөөнт фазын системд тодорхойлж аргын баталгаажилтыг хийсэн [9, 10].

Э.Буянжаргал (2021) нар уламжлалт Сүгмэл-3 мөхлөг эмэнд пипериний агууламжийг ӨИШХ-ийн аргаар тодорхойлсон ба уг арга зүйд хроматографийн нөхцлийн сонголт, дээжийг бэлтгэх ажиллагаа нь ойролцоо байна [11]. Харин энэхүү судалгааны хроматографийн аргачлалд аргын баталгаажуулалтыг бидний судалгаанд хэрэглэсэнээс өөр арга зүйгээр тогтоосоноороо ялгаатай юм.

Аргын баталгаажилтыг Олон улсын эрүүл мэндийн хамтын Ажиллагааны байгууллагын дэргэдэх Хүний эм бэлдмэлийн техникийн зохицуулалтын зөвлөлөөс (International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH)) баталсан

удирдамж болон олон улсад жишиг болгон баримталдаг бусад бичиг баримтуудын дагуу системийн таарц, дундаж утгын нарийвчлал, тогтвортой чанар болон шугаман чанарыг үнэлэн жиших муруй байгуулж, түүнд регрессийн анализ хийж, шулууны тэгшитгэлийг ашиглан уг аргын тодорхойлогдох хязгаар, илрүүлэх хязгаарыг тогтоолоо [12, 13, 14].

Э.Буянжаргал нарын судалгаагаар пиперин алкалоид 5 минутанд илэрч байсан бол энэхүү судалгаагаар 10.35 минутанд илэрсэн [11]. Энэ нь бидний үзэж байгаагаар эмийн найрлагад агуулагдаж буй түүхий эдийн харьцаа болон ӨИШХ-ийн багажийн баганын зөрүү, урсах хурдны ялгаатай байдлаас үүдэлтэй байж болох юм.

Suraj Shrestha, Nibedita Chaudhary, Rajkumari Sah нарын судлаачидын 2020 онд хийсэн судалгаагаар Библингийн түүхий эдэд пиперинийг ӨИШХ-ийн аргаар тодорхойлсон судалгааны дүнд пиперин 11.253 минутанд илэрч нарийвчлал чанар RSD 6.7%, тогтвортой чанар RSD 3.19% тодорхойлогдсон бол бидний судалгааны үр дүнд нарийвчлал чанарын RSD 1.077%, тогтвортой чанарын RSD 2.12% байсан [15].

2005 онд Германы судлаачид болох M.K.Santosh, D. Shala нар ӨИШХ-ийн аргаар метанол-ус уусгагчийн системд 345 нм долгионы уртад пиперин тодорхойлоход 23.65 минутанд илэрчээ [16]. Энэ нь Анар-5 эмийн найрлагаас ялгаатай найрлага бүхий ургамлын гаралтай бэлдмэлд пиперин тодорхойлж, аргын баталгаажилт хийсэн судалгаа бөгөөд сонгож авсан хроматографийн нөхцлийн хувьд бидний судалгаатай ойролцоо байна.

#### Дүгнэлт

Анар-5 шахмал эмэнд пипериний агууламжийг тодорхойлоход өндөр идэвхт шингэний хроматографийн (багана Arcus EP+-C18, 5μm, 4.6x250 мм) нөхцөл тохиромжтой бөгөөд энэхүү пиперинийг тодорхойлох ӨИШХ-ийн арга нь Олон улсын Эрүүл мэндийн хамтын Ажиллагааны байгууллага (ICH Q2 (R1))-ын удирдамжийн шаардлагад нийцэж байна.

#### Талархал

Энэхүү судалгааг хийхэд дэмжлэг үзүүлсэн ШУТС-аас санхүүжсэн “Уламжлалт мэдлэгт тулгуурлан хоол боловсруулах замын эмгэгт хэрэглэгдэх эм бэлдмэл бүтээж үйлдвэрлэл практикт нэвтрүүлэх” инновацийн төслийн хамт олон болон ЭЗУ-ны доктор Ч.Эрдэнэчимэг,

ЭЗУ-ны доктор, профессор Д.Энхжаргал, УАУТХ, ЭШТ-ийн хамт олон тэр дундаа ЭЗУ-ны магистр У.Мядагдадам, МАУА-ийн гишүүн, АШУ-ны доктор, профессор, Ч.Чимэдрагчаа, АУ-ны доктор Б.Дэжидмаа, АУ-ны доктор Б. Ууганбаяр, АШУУИС, Эм зүйн сургуулийн ЭЗУ-ны магистр Р.Норовням нарт талархал илэрхийлье.

#### Ном зүй

1. Г.Мөнхзул, П.Молор-эрдэнэ, С.Доржбат. “Монголын уламжлалт анагаахын эрдэм ухааны хөгжлийн гурван цагийн хэлхээс илтгэлийн” хураангуй. 2019:х.66.
2. Анагаах Ухааны Дөрвөн Үндэс. Улаанбаатар.1991.
3. Лигаа У. Монгол Орны Эмийн Ургамлыг Өрнө Дорнын Анагаах Ухаанд Хэрэглэхүй. Улаанбаатар. 2005.
4. Spectrophotometric Evaluation of Flavonoid Content of Propolis and Poplar Buds by ZrOCl<sub>2</sub> Reagent Gabriela Liviu AI, Daniel Dezmiorean, Oltica G, Mircea 67(1-2)/2010.
5. Yeang ,a Yao SU,a,b Ji-Feng LUO,a Weia Hong-Mei NIU,a Yan LI,c Yue-Hu WANG,a, and Chun-New amide alkaloids from Piper longum fruits 2013, 3, 277–281.
6. Тайван улсын фармкопей. 2016.
7. Hamrapurkar PD, Jadhav K, Zine S. Quantitative estimation of piperine in piper nigrum and piper longum using high performance thin layer chromatography. J Appl Pharm Sci. 2011;1(3):117-120.
8. Уранзаяа.Д Ходоод дэлүүний хүйтэн өвчний эмгэг загварт Анар-5 найрлагын үзүүлэх нөлөө. Анагаах ухааны докторын зэрэг горилсон нэг сэдэвт бүтээл. Улаанбаатар. 2019.
9. Бүгд Найрамдах Хятад Ард Улсын Фармакопей. 2010.х.261.
10. Pharmacopeia of the People's Republic of China. 1997.х.197.
11. Буянжаргал.Э. Сүгмэл-3 мөхлөг эмийн стандартчиллын асуудалд. Эм зүйн ухааны магистрын зэрэг горилсон нэг сэдэвт бүтээл. Улаанбаатар. 2021.
12. ICH Q2(R1) удирдамж.
13. Б.Хувьтавилан. Дикломинт Тосон Түрхэцийн Стандартчилал Эм Зүйн Ухааны Магистрын Зэрэг Горилсон Нэг Сэдэвт Бүтээл. Улаанбаатар. 2018.
14. Эмийн Хими, Шинжилгээний Аргачлалууд. Улаанбаатар. 2013.х.117-120.
15. Shrestha S, Chaudhary N, Sah R, Malakar N. Analysis of Piperine in Black Pepper by High Performance Liquid Chromatography. J Nepal Chem Soc. 2020;41(1):80 doi:10.3126/jncs.v41i1.30492.
16. Santosh MK, Shaila D, Rajyalakshmi I, Rao IS. RP-HPLC Method for Determination of Piperine from Piper longum Linn. and Piper nigrum Linn. E-Journal Chem. 2005;2(2):131-135. doi:10.1155/2005/627029.

*Танилцаж, нийтлэх санал өгсөн:  
Анагаах ухааны доктор, профессор  
С.Сээсрэгдорж*