

DOI: 10.26730/1999-4125-2020-1-68-75

УДК 547.944

**ИССЛЕДОВАНИЕ И ВЫБОР ОПТИМАЛЬНЫХ МЕТОДОВ ИЗВЛЕЧЕНИЯ
АЗОТСОДЕРЖАЩИХ ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ ИЗ
РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ**

**RESEARCH AND SELECTION OF OPTIMAL METHODS FOR EXTRACTING
NITROGEN-CONTAINING HETEROCYCLIC COMPOUNDS FROM PLANT RAW
MATERIALS**

Ван Елена Юрьевна¹,

канд. техн. наук, доцент, e-mail: evan@kantiana.ru

Elena Van¹, C. Sc. in Engineering, associate professor, e-mail: evan@kantiana.ru

Барашкова Владислава Игоревна¹,

магистрант, e-mail: vladab137@mail.ru

Vladislava Barashkova¹, undergraduate, e-mail: vladab137@mail.ru

Яковлева Светлана Анатольевна¹,

зав. семенной лабораторией Ботанического сада, e-mail: Syakovleva@kantiana.ru

Svetlana Yakovleva¹, head of the seed laboratory of the Botanical garden, e-mail:

Syakovleva@kantiana.ru

Михайлов Владимир Геннадьевич²,

канд. техн. наук, доцент, e-mail: mvg.eohp@kuzstu.ru

Vladimir G. Mikhailov², C. Sc. in Engineering, associate professor, e-mail: mvg.eohp@kuzstu.ru

¹Балтийский федеральный университет имени И. Канта, 236016, Россия, г. Калининград, ул. А. Невского, 14

¹Baltic Federal University named after I. Kant, 14 A. Nevsky str., Kaliningrad, 236016, Russia

²Кузбасский государственный технический университет имени Т.Ф. Горбачева, 650000, Россия, г. Кемерово, ул. Весенняя, 28

²T.F. Gorbachev Kuzbass State Technical University, 28, Vesennaya street, Kemerovo, 650000, Russian Federation

Аннотация:

В статье представлена классификация азотсодержащих гетероциклических соединений (АГС) или алкалоидов, история их открытия, нахождение в растительном сырье и биологических объектах. Отмечено, что концентрация алкалоидов в растениях является переменной и зависит от того, в какой именно части растения содержится данное вещество (листья, плоды, ветки, корни и т.д), географии региона, от самого вида растения, климата, периода вегетации, сезонных, циркадных и других факторов. Приведена фармакологическая значимость азотсодержащих гетероциклических соединений для организма человека. Представлен анализ различных способов извлечения алкалоидов из растительного сырья, таких как экстракция растворами кислот (серная, соляная или уксусная), различных спиртов (этанол, метанол и др.), липофильными растворителями (хлороформ, бензол, эфир, метилхлорид и др.); адсорбционная разделительная колоночная хроматография (адсорбент оксид алюминия или кремния); высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ); и хроматографическая адсорбция. На основании анализа выбран оптимальный способ извлечения алкалоидов из лекарственных растений ботанического сада Балтийского федерального университета имени Иммануила Канта. Способ заключается в экстракции растительного сырья бензолом с предварительным выщелачиванием измельченного сырья дистиллированной водой и раствором этанола с добавлением двухпроцентной соляной кислоты. Предварительная обработка образцов перед экстракцией позволила увеличить извлечение целевого продукта в экстракт в среднем на 5%.

Ключевые слова: алкалоиды, методы извлечения, экстракция, вторичные метаболиты, азотсодержащие гетероциклы.

Abstract:

The article presents the classification of nitrogen-containing heterocyclic compounds (NCH) or alkaloids, the history of their discovery, their presence in plant raw materials and biological objects. It is noted that the concentration of alkaloids in plants is variable and depends on which part of the plant contains this substance (leaves, fruits, branches, roots, etc.), the geography of the region, the type of plant, climate, vegetation period, seasonal, circadian and other factors. The pharmacological significance of nitrogen-containing heterocyclic compounds on the human body is given. The analysis of various methods for extracting alkaloids from plant raw materials, such as extraction with solutions of acids (sulfuric, hydrochloric or acetic), various alcohols (ethanol, methanol, etc.), lipophilic solvents (chloroform, benzene, ether, methylene chloride, etc.); adsorption separation column chromatography (adsorbent aluminum oxide or silicon); high-performance liquid chromatography (HPLC); and chromatographic adsorption. Based on the analysis, the optimal method for extracting alkaloids from medicinal plants of the Botanical garden of the Immanuel Kant Baltic Federal University was selected. The method consists in extracting vegetable raw materials with benzene with preliminary leaching of the crushed raw materials with distilled water and ethanol solution with the addition of 2% hydrochloric acid. Pretreatment of samples before extraction allowed to increase the extraction of the target product into the extract by an average of 5%.

Key words: *alkaloids, extraction methods, extraction, secondary metabolites, nitrogen-containing heterocycles.*

Азотсодержащие гетероциклические соединения (АГС) или алкалоиды — это органические вещества, извлекаемые в основном из растительного сырья, имеющие в своем составе атом азота, встроенный в шести- и пятичленные гетероциклы. Своё название данные вещества получили в начале девятнадцатого века, когда при изучении растений и их химического состава были выделены сложные производные гетероциклов, имеющие из-за присутствия в большей мере третичного азота основные свойства, получившие впоследствии своё общее название «алкалоиды», что в переводе с арабского означает «близкий к щелочи», термин был введен Мейснером в 1818 году.

Алкалоиды имеют по меньшей мере один атом гетероциклического азота, в этом случае он часто является третичным, реже четвертичным. Гетероциклы могут конденсироваться между собой или с другими циклами таким образом, что молекулы алкалоидов становятся полиморфными макроциклами.

АГС классифицируют как по критерию химической структуры, так и по признаку их происхождения. Таким образом, известные алкалоиды подразделяются на следующие категории: производные пиридина, пирролидина, триптофана, хинолона и изохинолона, фенетиламина, индола, пурина, терпены и производные бетаина с четвертичным азотом. Данные соединения достаточно широко распространены в растительном мире, реже в животном, тем не менее в последнее время окружающая среда считается чрезвычайно богатым источником новых биологически активных веществ, поскольку морские природные продукты представляют собой замечательный пример большого разнообразия вторичных метаболитов.

Как правило, концентрация азотсодержащих гетероциклических соединений в различных частях растения или животного неодинакова. Растения, богатые алкалоидами, включают таких представителей семейства, как Papaveraceae (мак), Rubiaceae (хининовое дерево) или пасленовых (табак, картофель и т. д.). Эти растения содержат более одного типа алкалоидов, чаще всего до 20 соединений, которые обычно химически связаны.

Алкалоиды, являясь продуктами вторичного метаболизма растений, образуются изначально в тканях, а затем локализуются в корне, плодах, стебле и т. д. АСГ встречаются не только в свободном состоянии, но и в форме солей. Кислоты растений, которые нейтрализуют алкалоиды, насыщены более сложными структурами, такими как фумаровая, хелидоновая, хинная кислоты и другие. Концентрация алкалоидов в растениях является переменной и зависит от того, в какой именно части растения содержится данное вещество (листья, плоды, ветки, корни и т.д.), географии региона, от самого вида растения, климата, периода вегетации, сезонных, циркадных и других факторов [1-3].

Используемые сегодня препараты на основе азотсодержащих гетероциклических соединений имеют растительное происхождение; по-прежнему ведется скрининг растительных экстрактов на алкалоиды и другие фармакологически активные вещества для открытия новых лекарств.

Одной из проблем традиционной технологии разделения и очистки азотсодержащих гетероциклических соединений (алкалоидов) является низкий выход и высокая стоимость очистки. Химики занимаются исследованиями их производства из растений в больших масштабах. Перед технологами стоят задачи:

- получить большее количество производных этих природных соединений;

Таблица 1. Классификация азотсодержащих гетероциклических соединений.
 Table 1. Classification of nitrogen-containing heterocyclic compounds.

№ п/п	Название группы	Представители АГС группы	Растения
1	Пиридиновая	Никотин, анабазин	Табак (лат. <i>Nicotiana</i>)
2	Хинолиновая	Хинин, стрихнин	Хинное дерево (лат. <i>Cinchona</i>)
3	Изохинолиновая	Папаверин	Мак снотворный (лат. <i>Papaver somniferum</i>)
4	Фенантреновая	Морфин	Мак снотворный (лат. <i>Papaver somniferum</i>)
5	Тропиновая	Атропин	Красавка (лат. <i>Atropa</i>), белена (лат. <i>Hyoscyamus</i>), дурман (лат. <i>Datura</i>)
6	Пуриновая	Кофеин	Иван чай (лат. <i>Chamaenerion angustifolium</i>), кофе (лат. <i>Coffea</i>)

- улучшить технологические и экономические показатели;
- находить пути оптимизации извлечения АГС из растений, совершенствуя методы и способы химической подготовки первичного сырья.

Открытие ценных химических связей в растениях служит модельными структурами для синтетических веществ и позволяет производить их в больших масштабах с улучшенными свойствами.

Многие алкалоиды использовались в медицине в течение сотен лет, и до сих пор они все еще являются известными и порой незаменимыми лекарственными средствами, поэтому эта группа соединений имеет большое значение во многих областях научной деятельности и продолжает представлять интерес и на сегодняшний день [4-6].

Существует классификация АГС, которую разделяют по видам оснований, таблица 1.

Методы исследования

Алкалоиды, добываемые в естественной медицине, в основном представляют собой смеси, поэтому их все еще необходимо выделять и очищать. Общие методы разделения основаны на следующем принципе: согласно разнице растворимости вещества для разделения, например, при разных температурах для перекристаллизации или в разных растворителях для последовательного осаждения; или же в соответствии с различием растворимости вещества в двухфазном растворителе для разделения, например, таком, как экстракция и распределение противотока жидкость-жидкость или адсорбции вещества для разделения алкалоидов активированным углем или другой твердой фазой [7-9].

Остановимся подробнее на методах извлечения алкалоидов.

1) Кислотная экстракция. Метод заключается в экстракции подготовленного лекарственного сырья кислотой – обычно используют от 0,1% до 1% серной, соляной или уксусной кислот, раствора

винной кислоты в качестве растворителя, методом погружения или экстракции.

2) Экстракция спиртовым растворителем. В качестве экстрагента используют этанол, метанол, другие спирты или спиртовые рефлюксы.

3) Экстракция липофильным органическим растворителем. Большая часть свободного алкалоида липофильна, поэтому для извлечения свободного алкалоида можно использовать хлороформ, бензол, эфир и метилхлорид. Для извлечения можно применять пропитку, флегму или непрерывную рефлюксную экстракцию. Но обычно используют небольшое количество щелочи, смачивающей растительное сырье, а затем экстрагируя таким образом, чтобы сделать алкалоид свободным, также можно увеличить



Рис. 1. Схема экстракции растительного сырья липофильным органическим растворителем.

Fig. 1. Scheme of extraction of plant raw materials with lipophilic organic.

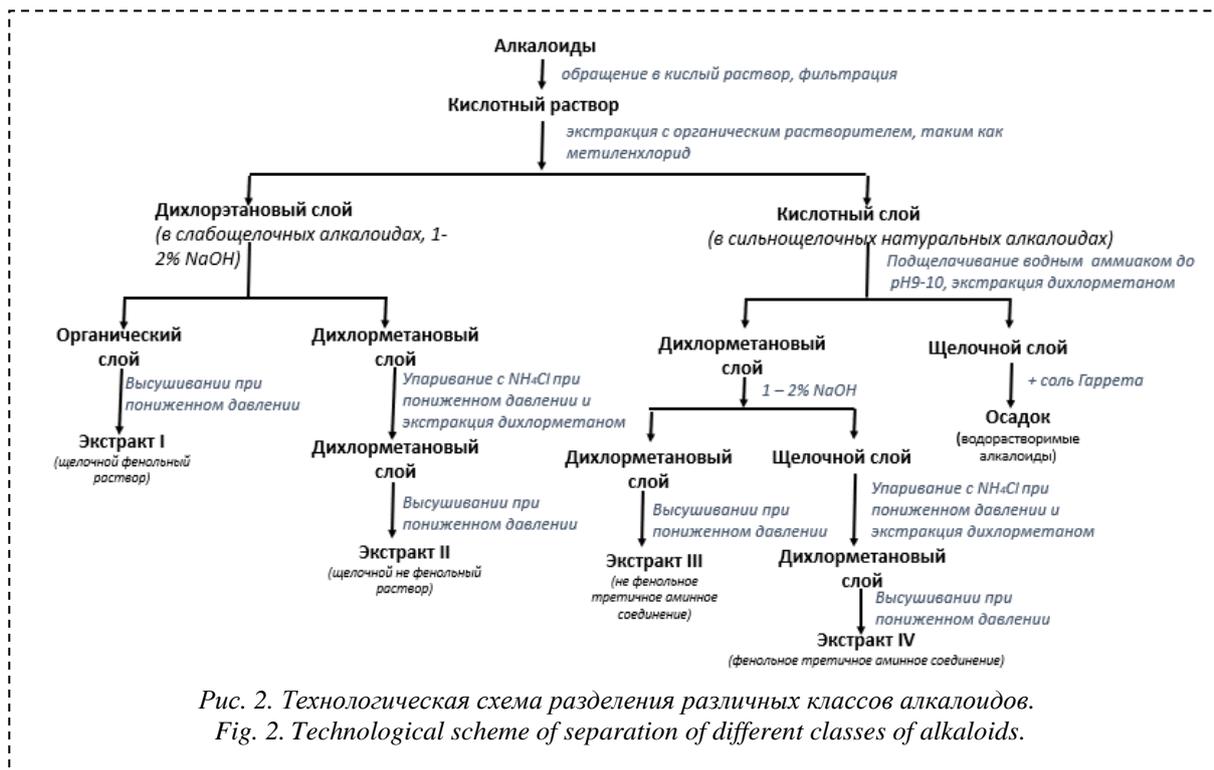


Рис. 2. Технологическая схема разделения различных классов алкалоидов.
 Fig. 2. Technological scheme of separation of different classes of alkaloids.

количество растворителя, проникающего в растительную клетку (Рис. 1).

4) Адсорбционная колоночная хроматография. Al₂O₃ или силикон используют в качестве обычного адсорбента для скрепления частиц адсорбционной смеси, иногда основной адсорбент смешивают с целлюлозой, полиамидом и т.д., с использованием бензола, хлороформа, этила и других липофильных органических растворителей или их смеси в качестве элюэнтной системы.

5) Разделительная колоночная хроматография. Конкретный метод основан на использовании силикона в качестве вспомогательного агента и буфера в качестве стационарной фазы pH=5.0, в котором для элюирования используется раствор хлороформа, насыщенный буфером pH5.0. Первым элюентом является гомохаррингтонин, средняя часть представляет собой смесь обоих, а последняя часть – харингтонин [12,13].

6) Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ). Для извлечения алкалоидов растительное сырье обрабатывается щелочными растворами, чтобы перевести соли АСГ в основания. После чего основания алкалоидов извлекаются неполярными или слабо полярными органическими растворителями (1,2-дихлорэтан, хлороформ, диэтиловый эфир, бензол и другие). Затем для очистки от примесей полученный экстракт следует обработать слабым раствором кислоты. Для разделения на индивидуальные соединения используются хроматографические методы [15].

7) Хроматографическая адсорбция. Для извлечения алкалоидов растительное сырье обрабатывается щелочными растворами, чтобы перевести соли АСГ в основания. После этого основания алкалоидов извлекаются неполярными или слабо полярными органическими растворителями (1,2-дихлорэтан, хлороформ, диэтиловый эфир, бензол и другие). Затем для очистки от примесей полученный экстракт следует обработать слабым раствором кислоты. Для разделения на индивидуальные соединения используются хроматографические методы.

Разделение различных классов алкалоидов проводится по следующей схеме (рис. 2.) [2].

Выбор того или иного метода извлечения азотсодержащих гетероциклических соединений из растительного сырья основывается на задачах, поставленных перед исследователем, и сравнительного анализа описываемых методов (таблица 2).

На основании анализа представленных методов извлечения алкалоидов из растительного сырья авторами для дальнейших исследований был выбран метод экстракции липофильным органическим растворителем. Способ был выбран из соображений высокой селективности (извлекаемости) АСГ в экстракт, несмотря на достаточно высокую себестоимость получаемого целевого продукта. Данный метод был опробован для извлечения суммы алкалоидов из лекарственных растений ботанического сада БФУ имени И. Канта г. Калининграда. Для более эффективного извлечения целевого продукта растительное сырье после предварительного

Таблица 2. Сравнительный анализ методов извлечения алкалоидов.
Table 2. Comparative analysis of alkaloid extraction methods.

Метод извлечения	Преимущества	Недостатки	Выход целевого продукта, %	Средние затраты на получение 1 кг продукта, кг/тыс. руб.
Кислотная экстракция	Преимущество метода заключается в том, что молекулы алкалоидов превращаются в относительно небольшие молекулы органических кислотных солей неорганических кислот, при этом увеличивая растворимость в воде.	Недостатком этого метода является наличие различных примесей в экстрактах, которые следует очищать.	80,0÷83,0	15,34
Экстракция спиртовым растворителем	Преимущество метода заключается в селективности извлечения алкалоидов за счет пониженной экстракционной способности присутствующих в растительном сырье полисахаридов и белков в отношении к спиртовым растворителям.	Недостатком способа является экстракция на первом этапе вместе с АСГ жироподобных веществ, присутствующих в растительном сырье, что требует дополнительной доочистки.	85,0÷87,0	11,99
Экстракция липофильным органическим растворителем	Преимущество данного метода заключается в отделении водорастворимых примесей еще на первой стадии экстракции в водную фазу.	Недостаток заключается в высокой токсичности растворителей и высокой требовательности к оборудованию из-за опасности утечки растворителя.	85,0÷90,0	17,50
Адсорбционная колоночная хроматография	Преимуществом является простота, экспрессность анализа.	К недостаткам метода относится низкое извлечение целевого продукта.	65,0÷70,0	16,68
Разделительная колоночная хроматография	Главное преимущество заключается в разделении различных соединений и сочетаний веществ.	К недостаткам метода можно отнести длительность элюирования.	80,0÷85,0	17,26
Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ)	Метод разделения ВЭЖХ обладает хорошими характеристиками, высокой чувствительностью, быстрым анализом преимуществ, что позволяет разделять многие другие хроматографии, в которых трудно разделить смешанные алкалоиды.	Недостаток метода заключается в том, что для проведения анализа нужно большое количество растворителей, которые токсичны и пожароопасны [14,15].	90,0÷95,0	19,56
Хроматографическая адсорбция	Преимуществом является простота метода и доступность сорбентов.	Недостатком является большая длительность уравнивания адсорбентов с растворителями.	70,0÷75,0	11,22

тщательного измельчения подвергали распульповыванию (выщелачиванию) в дистиллированной воде и в растворе этанола с двухпроцентной соляной кислотой.

Способ осуществлялся следующим образом. Для исследования были собраны такие растения, как бук лесной, бересклет, пустырник, крапива

двудомная, хвощ полевой, валериана лекарственная, василистник, дрок красильный, купальница Европейская, тис ягодный, купена, иван-чай. Все растения были собраны в вегетационный период.

Для извлечения и качественного и количественного определения алкалоидов из

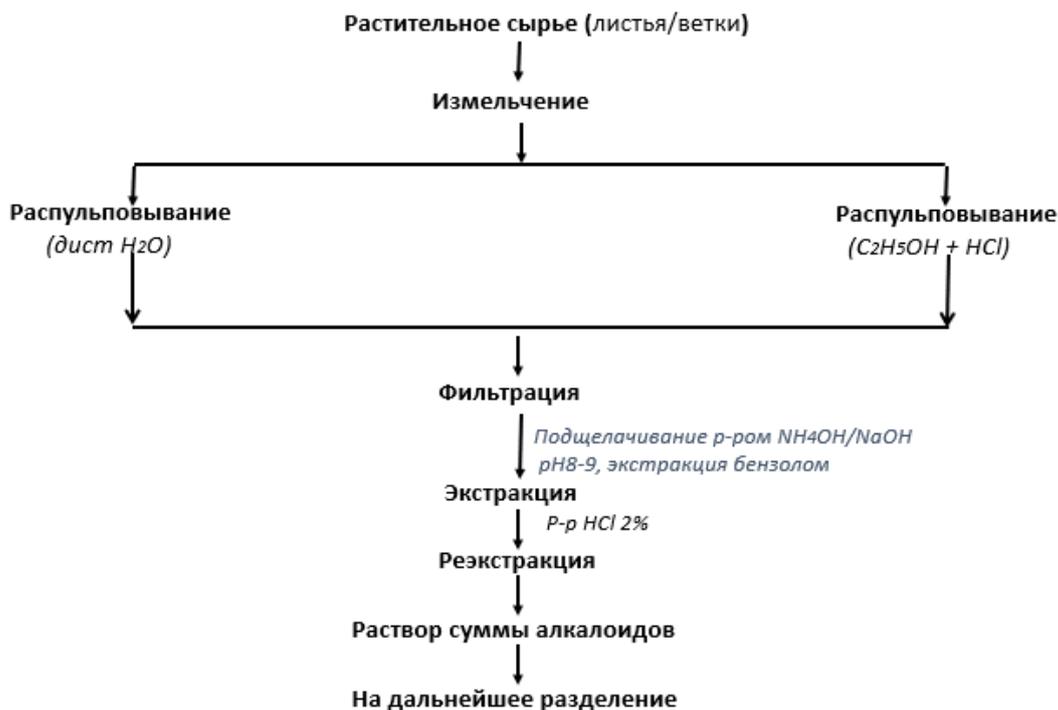


Рис. 3. Предлагаемая схема экстракции растительного сырья липофильным органическим растворителем.

Fig. 3. The proposed scheme of extraction of plant raw materials with lipophilic organic solvent.

Таблица 3. Средний выход продукта (сумма алкалоидов) из разных частей растений, %.
 Table 3. Average yield of the product (the sum of alkaloids) from different parts of plants, %.

Части растений	Выход целевого продукта, %	
	Предварительная обработка дистил. водой	Предварительная обработка этанол с соляной кислотой
Древовидные (ветки)	45,0÷55,0	70,0÷75,0
Листовидные	55,0÷65,0	85,0÷95,0

растений образцы были тщательно измельчены, перемешивались 30 минут в дистиллированной воде в объеме Т:Ж=1:4. После чего растворы фильтровались, подщелачивались NH_4OH до рН в пределах 8-9. Далее проводилась экстракция растворов: в делительную воронку к растворам добавлялся бензол в соотношении О:В=1:3. После встряхивания в течение 20 минут растворы отстаивались 30 минут, нижний слой сливался с добавлением 2% HCl 1:1 и так же встряхивался 15 минут, затем собирался и оставлялся для следующего этапа работы. Для повышения извлечения были также приготовлены экстракты не на водной, а на спиртовой основе ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} + 2\% \text{HCl} = 1:1$) и проведены аналогичные процессы, что и с предыдущими образцами, только подщелачивание осуществлялось NaOH до рН 8-9 (рис. 3).

Полученные экстракты суммы алкалоидов направлялись на качественный и количественный анализ. Все исследуемые образцы растений показали качественный отклик присутствия суммы

АГС. Для качественного анализа использовали реактив Драгендорфа. Количественное определение суммы алкалоидов проводили спектрофотометрическим методом на спектрофотометре Shimadzu UV-1800, оптическая плотность измерялась при длине волны 275 нм. Для исследований использовались отдельно древесные части растений (ветви) и листовидные, средний выход продукта в экстракты представлен в табл. 3.

Выводы

Изучены различные методы извлечения суммы алкалоидов из растительного сырья. На основании анализа наиболее оптимальным выбран способ экстракции липофильным растворителем, обоснованием послужила высокая селективная избирательность суммы АГС в получаемый экстракт, несмотря на относительно высокую себестоимость целевого продукта. Данный метод был испытан на алкалоидсодержащих растениях, произрастающих в ботаническом саду БФУ имени

И. Канта (г. Калининград, Калининградская область). Для более эффективного процесса экстракции была проведена предварительная подготовка растительного сырья путем распульповывания (выщелачивания) измельченного продукта водой и раствором этанола с добавлением двухпроцентной соляной кислоты. Введение в схему дополнительной операции позволило увеличить выход целевого продукта (суммы алкалоидов) в экстракт в среднем на 5%.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Emin Cadar, Aneta Tomescu, Cristina-Luiza Erimia, Alef Mustafa, Rodica Sorbu. The Impact of Alkaloids Structures from Natural Compounds on Public Health. *European Journal of Social Sciences Education and Research*.2015.
2. Helio Nitta Matsuura, Arthur Germano Fett-Neto. *Plant Alkaloids: Main Features, Toxicity, and Mechanisms of Action*. 2017.
3. Орехов А.П. *Химия алкалоидов*— М.: Академия наук, 1955.
4. Havva Sayhan, Serbulent Gцkhan Beyaz, Ahmet Zeliktař. The Local Anesthetic and Pain Relief Activity of Alkaloids. 2017.
5. Shaily Goyal. *Ecological Role of Alkaloids*. 2013.
6. Коренская И.М., Ивановская Н.П. *Лекарственные растения и лекарственное растительное сырье, содержащие алкалоиды. Учебное пособие для самоподготовки*. Воронеж 2006.
7. Yubin Ji, Miao Y, Wang B, Zhang Y. The extraction, separation and purification of alkaloids in the natural medicine. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 2014.
8. Ashton Acton Q. *Issues in Complementary and Alternative Medicine Research and Practice*. 2013.
9. Х.П. Акритиду, В.В. Бойник, Н.Е. Блажеевский. *Определение суммы алкалоидов в сухих экстрактах семян и корней люпина многолистного методом амперометрического титрования*. 2015.
10. Ammar Altemimi, Naoufal Lakhssassi, Azam Baharlouei, Dennis G. Watson, David A. Lightfoot. *Phytochemicals: Extraction, Isolation, and Identification of Bioactive Compounds from Plant Extracts*.2017.
11. И.В. Власова, Е.Н. Масыкова. *Экстракционно-фотометрический метод определения кофеина, парацетамола и ацетилсалициловой кислоты в лекарственных препаратах*. Вестник Омского университета, 2003.
12. Ермаков А.И., Арасимович В.В. и др. *Методы биохимического исследования растений*.1952.
13. Khor Poh-Yen. *Isolation and Characterization of Alkaloids Extracted from Medicinal Plant in Malaysia: Alstonia macrophylla*. 2016.
14. Vinod Borde, Babasaheb Sonwane, Vrushali Sontakke and Bharthi Somwanshi. *Isolation and purification of alkaloids from medicinal plants by HPLC*. Department of Biotechnology, Vinayakrao Patil College, Vaijapur, Dist. Aurangabad, M.S.431004, India.2014.
15. Моисеев Д.В. *Определение алкалоидов в траве чистотела большого и листьях маклеи сердцевидной методом ВЭЖХ*.2013.
16. Коренская И.М., Ивановская Н.П. *Лекарственные растения и лекарственное растительное сырье, содержащие алкалоиды*. Воронеж, 2006.

REFERENCES

1. Emin Cadar, Aneta Tomescu, Cristina-Luiza Erimia, Alef Mustafa, Rodica Sorbu. The Impact of Alkaloids Structures from Natural Compounds on Public Health. *European Journal of Social Sciences Education and Research*.2015.
2. Helio Nitta Matsuura, Arthur Germano Fett-Neto. *Plant Alkaloids: Main Features, Toxicity, and Mechanisms of Action*. 2017.
3. Orexov A.P. *Ximiya alkaloidov*— М.: Akademiya nauk, 1955.
4. Havva Sayhan, Serbulent Gцkhan Beyaz, Ahmet Zeliktař. The Local Anesthetic and Pain Relief Activity of Alkaloids. 2017.
5. Shaily Goyal. *Ecological Role of Alkaloids*. 2013.
6. Korenskaya I.M., Ivanovskaya N.P. *Lekarstvenny`e rasteniya i lekarstvennoe rastitel`noe sy`r`e*,

soderzhashhie alkaloidy`. Uchebnoe posobie dlya samopodgotovki. Voronezh 2006.

7. Yubin JI, Miao Y, Wang B, Zhang Y. The extraction, separation and purification of alkaloids in the natural medicine. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research. 2014.

8. Ashton Acton Q. Issues in Complementary and Alternative Medicine Research and Practice. 2013.

9. X.P. Akritidu, V.V. Bojnik, N.E. Blazheevskij. Opredelenie summy` alkaloidov v suxix e`kstraktax semyan i kornej lyurina mnogolistnogo metodom amperometriceskogo titrovaniya. 2015.

10. Ammar Altemimi, Naoufal Lakhssassi, Azam Baharlouei, Dennis G. Watson, David A. Lightfoot. Phytochemicals: Extraction, Isolation, and Identification of Bioactive Compounds from Plant Extracts. 2017.

11. I.V. Vlasova, E.N. Masyakova. E`kstrakcionno-fotometriceskij metod opredeleniya kofeina, paracetamola i acetilsalicilovoj kisloty` v lekarstvenny`x preparatax. Vestnik Omskogo universiteta, 2003.

12. Ermakov A.I., Arasimovich V.V. i dr. Metody` bioximicheskogo issledovaniya rastenij. 1952.

13. Khor Poh-Yen. Isolation and Characterization of Alkaloids Extracted from Medicinal Plant in Malaysia: *Alstonia macrophylla*. 2016.

14. Vinod Borde, Babasaheb Sonwane, Vrushali Sontakke and Bharthi Somwanshi. Isolation and purification of alkaloids from medicinal plants by HPLC. Department of Biotechnology, Vinayakrao Patil College, Vaijapur, Dist. Aurangabad, M.S.431004, India. 2014.

15. Moiseev D.V. Opredelenie alkaloidov v trave chistotela bol`shogo i list`yax maklei serdcevidnoj metodom VE`ZhX. 2013.

16. Korenskaya I.M., Ivanovskaya N.P. Lekarstvenny`e rasteniya i lekarstvennoe rastitel`noe sy`r`e, soderzhashhie alkaloidy`. Voronezh, 2006.

Поступило в редакцию 29.04.2020

Received 29 April 2020