

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2024.150.32>ИЗВЛЕЧЕНИЕ ЭССЕНЦИАЛЬНЫХ И ТОКСИЧНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ ИЗ ЛЕКАРСТВЕННОГО
РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ РАЗЛИЧНЫМИ ЭКСТРАГЕНТАМИ

Научная статья

Круглов Д.С.^{1,*}¹ ORCID : 0000-0003-1904-7901;¹ Новосибирский государственный медицинский университет, Новосибирск, Российская Федерация

* Корреспондирующий автор (kruglov_ds[at]mail.ru)

Аннотация

Токсичность лекарственных растительных препаратов определяется не только органическими веществами, такими как алкалоиды и кардиостероиды и др., но и неорганическими элементами, которые могут выполнять в организме как эссенциальные, так и токсические функции.

Помимо регламентируемых Государственной фармакопеей элементов-токсикантов, необходимо учитывать и другие потенциально опасные элементы, которые также могут присутствовать в лекарственном сырье. В подавляющем числе случаев лекарственные растительные препараты, получают из растительного сырья, путем приготовления экстенпоральных форм, с использованием жидких экстрагентов, наиболее часто это водно-спиртовые растворы. В этой связи важно провести комплексное исследование содержания микроэлементов в водно-спиртовых извлечениях из лекарственного растительного сырья и изучить, как концентрация спиртового компонента в экстрагенте влияет на уровень экстрагируемых микроэлементов.

Объектами исследований служили надземная часть медуницы мягкой *Pulmonaria mollis* Wulf. ex Horn., В качестве исследуемых элементов были выбраны макроэлементы – Mg, K, Ca; эссенциальные элементы – Mn, Fe, Cu, Zn; элементы-токсиканты – As, Cd, Hg, Pb и условно-токсичные элементы – Se, Sr, Mo, Ba. Количественное определение элементов проводили методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой.

Было установлено, что максимальное извлечение элементов (за исключением органических As, Cu, Zn) достигается при использовании экстрагентов с концентрацией этанола не более 40%, подтверждается и результатами кластерного анализа. На иерархической дендрограмме были выделены два кластера – кластер 1 с концентрациями спирта 70 и 90% и кластер 2, в котором объединились экстрагенты с концентрацией этанола от 0 до 40%. Пороговое значение в 70% может быть объяснено тем, что большинство микроэлементов находится в белково-полисахаридной матрице, которая при концентрации этанола 70% денатурируется и не извлекается из сырья.

Таким образом, лекарственные формы на основе этанола крепостью выше 70% содержат значительно меньшее количество элементов-токсикантов. В то же время для получения фитопрепаратов для профилактики дисэлементозов следует использовать водно-спиртовые экстрагенты с содержанием этанола не более 40%.

Ключевые слова: токсичность, водно-спиртовой экстрагент, эссенциальные и токсические элементы, извлекаемость, *Pulmonaria mollis*.

EXTRACTION OF ESSENTIAL AND TOXIC ELEMENTS FROM MEDICINAL PLANT RAW MATERIALS BY
DIFFERENT EXTRACTANTS

Research article

Kruglov D.S.^{1,*}¹ ORCID : 0000-0003-1904-7901;¹ Novosibirsk state medical university, Novosibirsk, Russian Federation

* Corresponding author (kruglov_ds[at]mail.ru)

Abstract

The toxicity of herbal drugs is determined not only by organic substances such as alkaloids and cardiosteroids, etc., but also by inorganic elements that can perform both essential and toxic functions in the body.

In addition to the toxicant elements regulated by the State Pharmacopoeia, it is necessary to take into account other potentially hazardous elements that may also be present in medicinal raw materials. In the vast majority of cases, herbal medicines are obtained from plant raw materials, by preparation of extemporaneous forms, using liquid extractants, most often water-alcohol solutions. In this regard, it is important to conduct a comprehensive study of the content of trace elements in water-alcohol extracts from medicinal plant raw materials and to examine how the concentration of the alcohol component in the extractant affects the level of extractable trace elements.

The objects of research were the above-ground part of *Pulmonaria mollis* Wulf. ex Horn., Macronutrients – Mg, K, Ca; essential elements – Mn, Fe, Cu, Zn; toxicant elements – As, Cd, Hg, Pb and conditionally toxic elements – Se, Sr, Mo, Ba were selected as the examined elements. Quantitative determination of elements was carried out by inductively coupled plasma mass spectrometry.

It was found that the maximum extraction of elements (except for organic As, Cu, Zn) is achieved using extractants with ethanol concentration not more than 40%, confirmed by the results of cluster analysis. Two clusters were identified on the hierarchical dendrogram – cluster 1 with alcohol concentrations of 70 and 90% and cluster 2, which combined extractants with

ethanol concentrations from 0 to 40%. The threshold value of 70% can be explained by the fact that most of the trace elements are located in the protein-polysaccharide matrix, which at an ethanol concentration of 70% denatures and is not extracted from the raw material.

Thus, dosage forms based on ethanol with strength above 70% contain significantly lower amounts of toxicant elements. At the same time, water-alcohol extractants with ethanol content not exceeding 40% should be used to obtain phytodrugs for the prevention of dyselementosis.

Keywords: toxicity, water-alcoholic extractant, essential and toxic elements, extractability, *Pulmonaria mollis*.

Введение

Любое лекарственное средство, в том числе и растительного происхождения, помимо эффективности, должно удовлетворять и требованиям безопасности его применения и прежде всего отсутствию токсичности. Токсичность лекарственных растительных препаратов определяется не только органическими веществами, такими как алкалоиды и кардиостероиды и др., но и неорганическими элементами, которые могут выполнять в организме как эссенциальные, так и токсические функции [1]. Так, биогенные элементы, такие как железо, медь, цинк и марганец, играют важную роль в поддержании гомеостаза и нормального функционирования организма и лекарственное растительное сырье, используемое для приготовления, например лекарственных растительных препаратов (ЛРП), обладающих кроветворным действием [2], является весьма востребованным для профилактики железодефицитной анемии. Однако при превышении определенных пороговых концентраций эссенциальные элементы становятся токсичными и способны провоцировать развитие различных патологий [3]. В частности, избыток железа является причиной развития печеночной недостаточности, а избыток марганца приводит к поражениям центральной нервной системы [4] и, в то же время, оба они входят в пул элементов, регулирующих кроветворение [5].

Кроме того, любое производящее лекарственное растительное сырье (ЛРС) растение, помимо биологически активных веществ, и эссенциальных (биогенных) элементов, содержат широкий спектр микроэлементов, которые могут накапливаться в организмах при длительном применении. Государственная фармакопея Российской Федерации XV издания [6] регламентирует содержание в ЛРС свинца, кадмия, мышьяка и ртути, поскольку они представляют наиболее выраженную опасность для здоровья человека.

Вместе с тем, помимо регламентируемых фармакопеей элементов-токсикантов, необходимо учитывать и другие потенциально опасные элементы, которые также могут присутствовать в лекарственном сырье. В частности, институт микроэлементов ЮНЕСКО относит к числу токсичных, например, барий, стронций, селен, молибден [4]. Эти вещества обладают широким спектром токсикологических эффектов: барий оказывает кардиотоксическое действие; стронций способен замедлять формирование костной ткани, вытесняя кальций; селен характеризуется полиорганным поражением; молибден проявляет сильное нейротоксическое действие нарушает метаболизм мочевой кислоты. Все эти элементы могут присутствовать в окружающей среде и накапливаться в растениях, что актуализирует необходимость их мониторинга в составе лекарственных препаратов на основе ЛРС.

Следует учитывать, что многие ЛРП, получаемые из растительного сырья, чаще всего используются для приготовления экстемпоральных форм, с использованием жидких экстрагентов, наиболее часто это водно-спиртовые растворы. Важно, что состав микроэлементов в водно-спиртовых извлечениях может отличаться от их содержания в исходном сухом сырье, поскольку экстракция влияет на концентрацию как биологически активных, так и токсичных элементов.

Для нормирования содержания в жидких лекарственных формах как ориентир и для оценки безопасности водно-спиртовых извлечений, особенно если такие препараты предназначены для длительного применения можно использовать нормативы предназначены для питьевой воды. Санитарные нормы, разработанные для питьевой воды, регламентируют содержание 17 элементов, включая алюминий, барий, бериллий, бор, железо, кадмий, марганец, молибден, мышьяк, никель, ртуть, свинец, цинк, селен, хром и стронций [7].

Исходя из изложенного, важно провести комплексное исследование содержания микроэлементов в водно-спиртовых извлечениях из лекарственного растительного сырья и изучить, как концентрация спиртового компонента в экстрагенте влияет на уровень экстрагируемых микроэлементов. Такие данные позволят определить оптимальные условия экстракции, при которых содержание токсичных элементов в растворах будет минимизировано, что особенно важно для обеспечения безопасности применения ЛРП. В результате данного исследования возможно создать научно обоснованные рекомендации по использованию растительных экстрактов в терапевтических целях, опираясь на стандарты безопасности, установленные для питьевой воды и фармакопеи. Это позволит повысить качество экстемпоральных форм на основе растительных экстрагентов, обеспечивая их соответствие требованиям безопасности и минимизируя риск токсического воздействия на организм.

Методы и принципы исследования

Объектами исследований служили надземная часть медуницы мягкой *Pulmonaria mollis* J.P.Wolff ex Hornem.(1813), собранной в окрестностях пос. Венгерovo Новосибирской области под пологом смешанного леса (55°41' с.ш. и 76°47' в.д.) в фазе цветения. Собранное сырье доводилось до воздушно-сухого состояния при комнатной температуре и измельчалось. Навеска измельченного сырья помещалась в колбу куда добавляли экстрагент в соотношении 1:50. Колба присоединялась к обратному холодильнику и выдерживалась на кипящей водяной бане. После охлаждения фильтрат сливали, к оставшемуся сырью добавляли тот же экстрагент в соотношении 1:30 и экстракцию повторяли. Полученные фильтраты объединяли и отбирали из объединенного фильтрата аликвоту 10,0 мл на анализ. В качестве экстрагента использовали воду и водно-спиртовые смеси содержащие 10, 20, 30,40,70 и 90% этанола. Отдельно на анализ отправлялась навеска исходного высушенного сырья.

В качестве исследуемых элементов были выбраны макроэлементы – Mg, K, Ca; эссенциальные элементы – Mn, Fe, Cu, Zn; элементы-токсиканты – As, Cd, Hg, Pb и условно-токсичные элементы – Se, Sr, Mo, Ba. Количественное

определение элементов проводили методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой на приборе ELAN DRC-II по утвержденной методике [8]. Для контроля правильности определения использовали метод добавок. Параметры работы масс-спектрометра: мощность генератора 1500 Вт; распылитель – поперечно-поточный; распылительная камера – неохлаждаемая двухходовая. Расход плазмообразующего потока аргона – 15 л/мин; расход анализируемого образца – 1,5 мл/мин. Для обеспечения стабильного режима работы масс-спектрометра все измерения проводили в термостатированных условиях при температуре $22,0 \pm 1,5$ °С. Проводили пять параллельных определений для каждого анализируемого образца, за результат принимали среднее значение.

Для анализа полученной матрицы данных была также применена иерархическая кластеризация с формированием кластеров по методу Варда [9].

При анализе принимали в расчет критерии, соответствующие уровню доверительной вероятности $P=95\%$. Расчет выполняли средствами программы Microsoft Excel. Кластерный анализ выполняли с помощью программы Statistica-10 [10].

Основные результаты

Полученные результаты приведены в таблицах 1 и 2

Таблица 1 - Содержание микроэлементов в жидких извлечениях

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2024.150.32.1>

Концентрация этанола, %	0	10	20	30	40	60	70	90
Mg, мг/л	12,3	14,1	13,2	13,0	13,6	9,2	6,6	1,0
K, мг/л	413,52	398,33	468,22	298,9	379,37	277,1	175,65	100,77
Ca, мг/л	13,08	10,75	14,64	9,75	11,3	5,25	0	0
Mn, мг/л	0,293	0,281	0,279	0,227	0,205	0,103	0,022	0
Fe, мг/л	0,894	0,54	0,527	0,455	0,404	0,286	0,221	0,218
Cu, мг/л	0,032	0,025	0,032	0,024	0,028	0,029	0,028	0,026
Zn, мг/л	0,24	0,3	0,33	0,22	0,29	0,027	0,2	0,21
As, мг/л	0,00056	0,00076	0,00099	0,00114	0,00111	0,00072	0,00056	0,00005
Se, мг/л	0,00114	0,00156	0,00122	0,00076	0,00087	0,00042	0,00003	0,00003
Sr, мг/л	0,043	0,04	0,058	0,019	0,026	0,0041	0	0
Mo, мг/л	0,0009	0,00092	0,00085	0,00076	0,00104	0,00033	0,0001	0
Cd, мг/л	0,00037	0,00018	0,00021	0,00027	0,00027	0,00013	0,00011	0
Ba, мг/л	0,075	0,075	0,09	0,069	0,077	0,028	0	0
Hg, мг/л	0	0	0	0	0	0	0	0
Pb, мг/л	0,01	0,006	0,007	0,008	0,008	0,0032	0,003	0

Таблица 2 - Содержание микроэлементов в сухом сырье и в извлечении

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2024.150.32.2>

Показатель	Содержание в сухом сырье, мкг	Содержание в извлечении, мкг	%, извлекаемости
Mg	2081,0	616,0	30,0
K	44538,0	20676,0	46,0
Ca	11842,0	654,0	5,5
Mn	107,0	14,7	13,7
Fe	180,0	44,7	24,8
Cu	10,3	1,6	15,6
Zn	33,6	12,1	36,0
Sr	50,5	2,4	4,7
As	0,29	0,057	19,0

Показатель	Содержание в сухом сырье, мкг	Содержание в извлечении, мкг	%, извлекаемости
Ba	62,8	45,0	71,6
Mo	0,19	0,052	27,4
Cd	0,13	0,019	14,3
Pb	0,38	0,05	13,0
Hg	0,009	- ^{*1}	0

Примечание: ^{*1} - содержание не превысило содержание элемента в чистом экстрагенте

Зависимости содержания микроэлементов от концентрации этанола в экстрагенте приведены на рис 1-4. Содержание макроэлементов (рис 1) резко снижается при увеличении концентрации этанола более 40% что свидетельствует о преимущественном нахождении K, Ca, Mg в виде растворимых солей карбоновых кислот, при этом общая извлекаемость кальция не превышает 5,5% что коррелирует с нахождением кальция в составе финишных продуктов растительного метаболизма – карбонатов и силикатов кальция [11], которые практически нерастворимы.

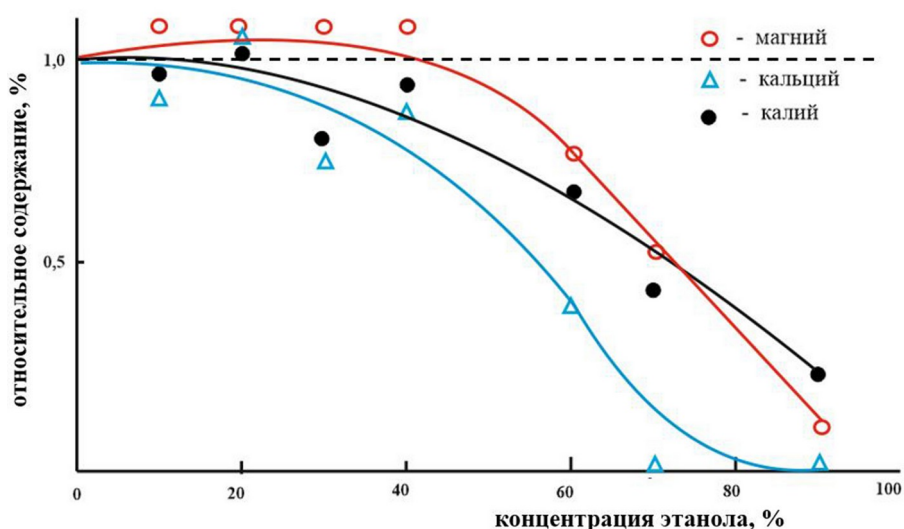


Рисунок 1 - Содержание макроэлементов K, Ca, Mg в зависимости от концентрации этанола в экстрагенте
DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2024.150.32.3>

Анализ зависимости содержания биогенных элементов Fe Mn Zn Cu (рис 2) показывает что содержание цинка не зависит от концентрации этанола а содержание меди максимально при 40% этаноле, что свидетельствует в о равном вкладе и неорганических и органических соединений меди и цинка, что коррелирует с их присутствием в составе ферментов. Железо и марганец лучше извлекаются водой, что может быть связано с их преимущественным нахождением в виде хелатных соединений с белково-полисахаридной матрицей.

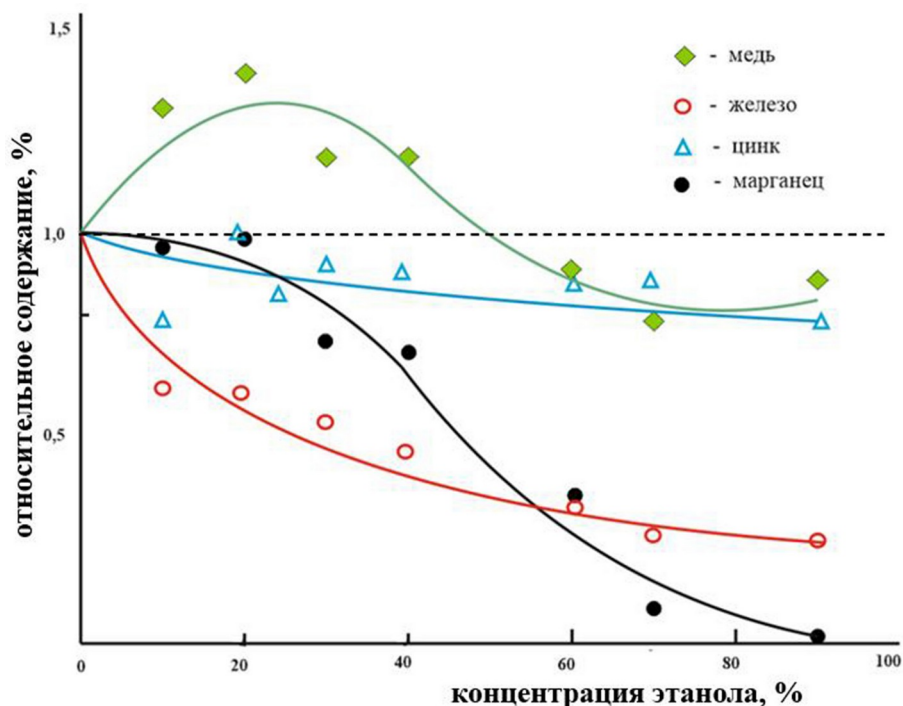


Рисунок 2 - Содержание эссенциальных микроэлементов Fe, Mn, Zn, Cu в зависимости от концентрации этанола в экстрагенте

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2024.150.32.4>

Содержание элементов отнесенных к условно-токсичным(рис. 3) снижается с увеличением содержания этанола более резко чем макроэлементов что свидетельствует о нахождении их в составе водорастворимых соединений экзогенной природы [11].

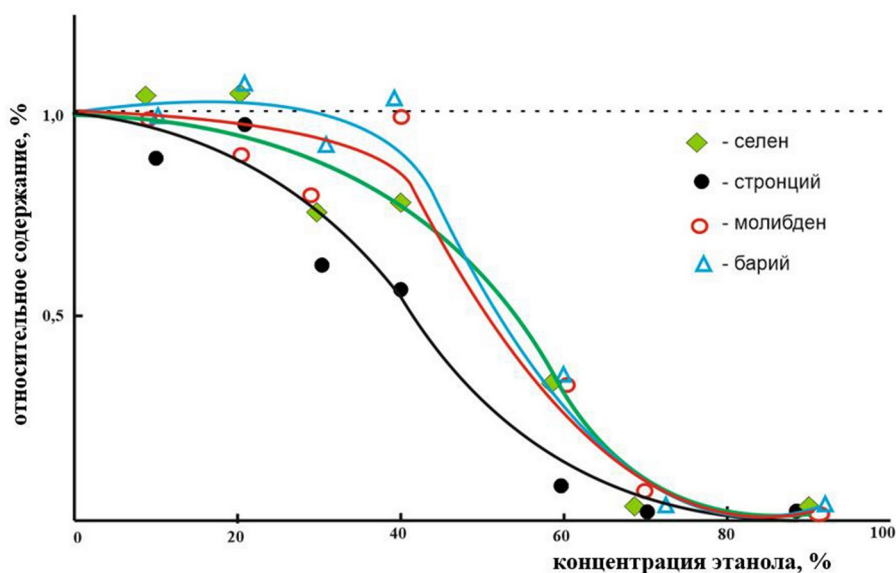


Рисунок 3 - Содержание условно-токсичных микроэлементов Ba, Se, Sr, Mo в зависимости от концентрации этанола в экстрагенте

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2024.150.32.5>

По элементам-токсикантам (рис 4) следует обратить внимание на тот факт, что несмотря на наличие ртути в сухом сырье содержание ртути в извлечении не увеличилось в сравнении с ее содержанием в примененном экстрагенте. Вероятнее всего, ртуть в сырье находится в нерастворимых соединениях попавших в растение в виде внешнего загрязнения ее надземной части. Резкий рост содержания мышьяка может свидетельствовать о том, что мышьяк может находиться в составе органических соединений, содержащих атом мышьяка, непосредственно связанный с атомом углерода и естественно что такие соединения более полно извлекаются водно-спиртовыми экстрагента. Снижение содержания мышьяка до уровня чистой воды при концентрации этанола более 60% может быть объяснено

присутствием значимого содержания мышьяка в неорганических соединениях и таким образом наличие мышьяка в составе органических и неорганических соединений в итоге может дать наблюдаемую на рис 4 зависимость

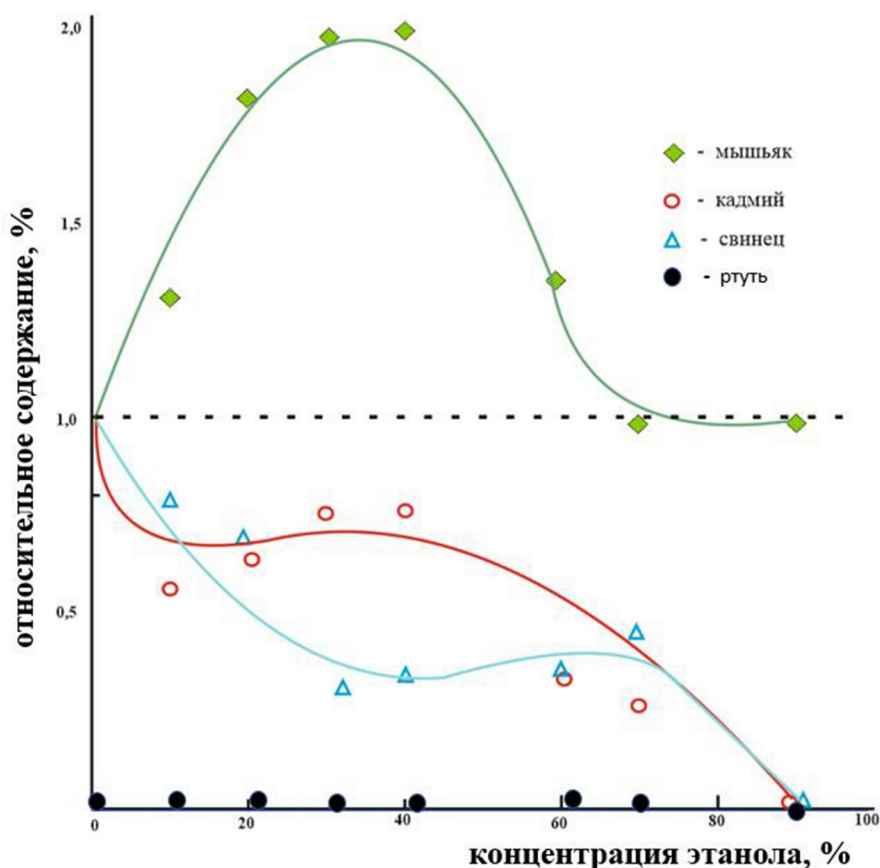


Рисунок 4 - Содержание элементов-токсикантов As,Cd,Pb,Hg в зависимости от концентрации этанола в экстрагенте
DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2024.150.32.6>

Выводы о максимальном извлечении элементов (за исключением As, Cu, Zn входящих в состав органических соединений) экстрагентами с концентрацией этанола не более 40% подтверждаются и результатами кластерного анализа. На иерархической дендрограмме (рис 5) выделяются два кластера – кластер 1 с концентрациями спирта 70 и 90% и кластер 2, в котором объединились экстрагенты с концентрацией этанола от 0 до 40%

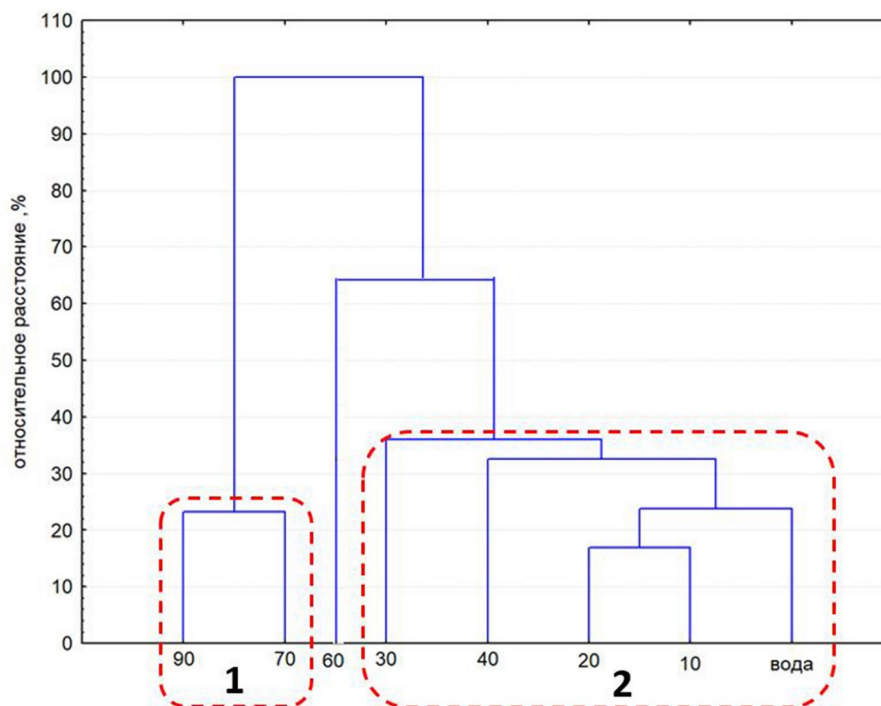


Рисунок 5 - Распределение по кластерам содержания элементов в зависимости от концентрации этанола
DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2024.150.32.7>

Пороговое значение в 70% может быть объяснено тем, что большинство микроэлементов находится в белково-полисахаридной матрице [12], которая при концентрации этанола 70% денатурируется и не извлекается из сырья.

Заключение

В результате проведенной работы:

- впервые установлены закономерности извлечения биогенных и токсичных элементов из лекарственного растительного сырья водно-спиртовыми экстрактами;
- показано, что во всем диапазоне концентраций этанола в экстрагенте содержание элементов-токсикантов не превышает норм установленных для питьевой воды;
- показано, что жидкие лекарственные формы на основе этанола крепостью выше 70% содержат значительно меньшее количество элементов-токсикантов;
- для получения ЛРП для профилактики дисэлементозов следует использовать водно-спиртовые экстракты с содержанием этанола не более 40% обеспечивающих более полное извлечение биогенных микроэлементов при незначительном увеличении извлекаемости элементов токсикантов;
- выявлена целесообразности введения контроля содержания элементов в экстенпоральных лекарственных формах.

Конфликт интересов

Не указан.

Рецензия

Все статьи проходят рецензирование. Но рецензент или автор статьи предпочли не публиковать рецензию к этой статье в открытом доступе. Рецензия может быть предоставлена компетентным органам по запросу.

Conflict of Interest

None declared.

Review

All articles are peer-reviewed. But the reviewer or the author of the article chose not to publish a review of this article in the public domain. The review can be provided to the competent authorities upon request.

Список литературы / References

1. Гравель И.В. Необходимость оценки безопасности лекарственного растительного сырья по содержанию экотоксикантов / И.В. Гравель // Вестник научного центра экспертизы средств медицинского назначения. — 2012. — № 2. — С. 37–39.
2. Круглов Д.С. Фармакогностическое исследование перспективного лекарственного растительного сырья *Pulmonariae herba* и *Pulmonariae folia* / Д.С. Круглов, В.В. Величко // Фармация. — 2024. — № 6. — С. 26–31. — DOI: 10.29296/25419218-2024-06-04.
3. Кудрин А.В. Иммунофармакология микроэлементов / А.В. Кудрин, А.В. Скальный, А.А. Жаваронков [и др.]. — Москва: КМК, 2000. — 537 с.
4. Ребров В.Г. Витамины, макро- и микроэлементы / В.Г. Ребров, О.А. Громова — Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2008. — 960 с.

5. Будко Е.В. Роль элементного комплекса в процессе гемостаза / Е.В. Будко, Л.М. Ямпольский, В.Я. Яцюк [и др.] // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований . — 2018. — № 4. — С. 53–57.
6. Государственная фармакопея Российской Федерации. XV изд. // Государственная фармакопея Российской Федерации. XV изд. — 2023 — URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-5/1-5-1/opredelenie-soderzhaniya-radionuklidov-v-lekarstvennom-rastitel'nom-syre-i-lekarstvennykh-rastitel'nykh/> (дата обращения: 04.11.2024)
7. СанПиН 1.2.3685-21 Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания. — 2021. — URL: <https://docs.cntd.ru/document/573500115> (дата обращения: 04.11.2024)
8. NSAM № 512-MS Определение элементного состава образцов растительного происхождения (травы, листья) атомно-эмиссионным и масс-спектральным методами анализа. — М.: ФГБУ ВИМС; 2017. — 57 с.
9. Круглов Д.С. Применение метода многофакторной кластеризации для анализа микроэлементного состава растений / Д.С. Круглов // Вестник Пермской государственной фармацевтической академии. — 2022. — № 6. — С. 53–57.
10. Боев В.М. Руководство по обеспечению решения медико-биологических задач с применением программы Statistica 10.0 / В.М. Боев, Е.Л. Борщук, А. К. Екимов. — Оренбург: Южный Урал, 2014. — 208 с.
11. Медведев СС Физиология растений / СС Медведев — Санкт-Петербург: БХВ-Петербург, 2015. — 496 с.
12. Круглов Д.С. Исключение влияния экзогенного загрязнения на микроэлементный состав лекарственных растений / Д.С. Круглов // Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств. — 2024. — № 3. — DOI: 10.30895/1991-2919-2024-617.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Gravel' I.V. Neobhodimost' otsenki bezopasnosti lekarstvennogo rastitel'nogo syr'ja po sodержaniyu ekotoksikantov [The need to assess the safety of medicinal plant materials for the content of ecotoxicants] / I.V. Gravel' // Bulletin of the Scientific Center for Expertise of Medical Products. — 2012. — № 2. — P. 37–39. [in Russian]
2. Kruglov D.S. Farmakognosticheskoe issledovanie perspektivnogo lekarstvennogo rastitel'nogo syr'ja Pulmonariae herba i Pulmonariae folia [Pharmacognostic study of promising medicinal plant materials Pulmonariae herba and Pulmonariae folia] / D.S. Kruglov, V.V. Velichko // Pharmacy. — 2024. — № 6. — P. 26–31. — DOI: 10.29296/25419218-2024-06-04. [in Russian]
3. Kudrin A.V. Immunofarmakologija mikroelementov [Immunopharmacology of Microelements] / A.V. Kudrin, A.V. Skal'nyj, A.A. Zhavaronkov [et al.]. — Moskva: KMK, 2000. — 537 p. [in Russian]
4. Rebrov V.G. Vitaminy, makro- i mikroelementy [Vitamins, macro- and microelements] / V.G. Rebrov, O.A. Gromova — Moskva: GEOTAR-Media, 2008. — 960 p. [in Russian]
5. Budko E.V. Rol' elementnogo kompleksa v protsesse gemostaza [The role of the elemental complex in the process of hemostasis] / E.V. Budko, L.M. Jampol'skij, V.Ja. Jatsjuk [et al.] // International Journal of Applied and Basic Research. — 2018. — № 4. — P. 53–57. [in Russian]
6. Gosudarstvennaja farmakopeja Rossijskoj Federatsii. XV izd. [State Pharmacopoeia of the Russian Federation XV ed.] // State Pharmacopoeia of the Russian Federation XV ed. — 2023 — URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-5/1-5-1/opredelenie-soderzhaniya-radionuklidov-v-lekarstvennom-rastitel'nom-syre-i-lekarstvennykh-rastitel'nykh/> (accessed: 04.11.2024) [in Russian]
7. SanPiN 1.2.3685-21 Gigienicheskie normativy i trebovanija k obespecheniju bezopasnosti i (ili) bezvrednosti dlja cheloveka faktorov sredy obitanija [SanPiN 1.2.3685-21 Hygienic standards and requirements for ensuring the safety and (or) harmlessness of environmental factors for humans]. — 2021. — URL: <https://docs.cntd.ru/document/573500115> (accessed: 04.11.2024) [in Russian]
8. NSAM № 512-MS Opredelenie jelementnogo sostava obrazcov rastitel'nogo proishozhdenija (travy, list'ja) atomno-jemissionnym i mass-spektral'nym metodami analiza [NSAM No. 512-MS Determination of the elemental composition of plant samples (grasses, leaves) by atomic emission and mass spectral methods of analysis]. — Moscow: FSBI VIMS; 2017. — 57 p. [in Russian]
9. Kruglov D.S. Primenenie metoda mnogofaktornoj klasterizatsii dlja analiza mikroelementnogo sostava rastenij [Application of the multifactor clustering method for the analysis of microelement composition of plants] / D.S. Kruglov // Bulletin of the Perm State Pharmaceutical Academy. — 2022. — № 6. — P. 53–57. [in Russian]
10. Boev V.M. Rukovodstvo po obespecheniju reshenija mediko-biologicheskikh zadach s primeneniem programmy Statistica 10.0 [Guide to ensuring the solution of medical and biological problems using the Statistica 10.0 program] / V.M. Boev, E.L. Borschuk, A. K. Ekimov. — Orenburg: Juzhnyj Ural, 2014. — 208 p. [in Russian]
11. Medvedev SS Fiziologija rastenij [Plant Physiology] / SS Medvedev — Sankt-Peterburg: BHV-Peterburg, 2015. — 496 p. [in Russian]
12. Kruglov D.S. Isključenje vlijanija ekzogenogo zagrjaznenija na mikroelementnyj sostav lekarstvennykh rastenij [Elimination of the influence of exogenous pollution on the microelement composition of medicinal plants] / D.S. Kruglov // Regulatory research and examination of medicinal products. — 2024. — № 3. — DOI: 10.30895/1991-2919-2024-617. [in Russian]