

March 2024

## HPLC METHOD FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF ACONITINE ALKALOID AND COMPARISON WITH THE TITRATING METHOD

Dilnoza MUTALOVA

*Institute Chemistry of Plant Substances, Tashkent, Uzbekistan, noza-gold@mail.ru*

Obidjon JURAEV

*Institute Chemistry of Plant Substances, Tashkent, Uzbekistan, Jurayevobidjan@gmail.com*

Alimjan SADIKOV

*Institute Chemistry of Plant Substances, Tashkent, Uzbekistan, sadikov48@list.ru*

Shomansur SAGDULLAEV

*Institute Chemistry of Plant Substances, Tashkent, Uzbekistan, ixrv@mail.ru*

Follow this and additional works at: <https://cce.researchcommons.org/journal>

---

### Recommended Citation

MUTALOVA, Dilnoza; JURAEV, Obidjon; SADIKOV, Alimjan; and SAGDULLAEV, Shomansur (2024) "HPLC METHOD FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF ACONITINE ALKALOID AND COMPARISON WITH THE TITRATING METHOD," *CHEMISTRY AND CHEMICAL ENGINEERING*: Vol. 2022: No. 3, Article 9.

DOI: 10.34920/cce202239

Available at: <https://cce.researchcommons.org/journal/vol2022/iss3/9>

This Article is brought to you for free and open access by Chemistry and Chemical Engineering. It has been accepted for inclusion in CHEMISTRY AND CHEMICAL ENGINEERING by an authorized editor of Chemistry and Chemical Engineering. For more information, please contact [zuchra\\_kadirova@yahoo.com](mailto:zuchra_kadirova@yahoo.com).

## HPLC METHOD FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF ACONITINE ALKALOID AND COMPARISON WITH THE TITRATING METHOD

*Dilnoza MUTALOVA (noza-gold@mail.ru), Obidjon JURAEV (Jurayevobidjan@gmail.com), Alimjan SADIKOV (sadikov48@list.ru), Shomansur SAGDULLAEV (ixrv@mail.ru)*  
Institute Chemistry of Plant Substances, Tashkent, Uzbekistan

The aim of this study was to develop and validate the quantitative determination of titration and HPLC methods and compare them in terms of reproducibility. The development of new approaches to quality control requires the standardization of pharmaceutical products using modern methods of quantitative analysis. An HPLC method for the quantitative analysis of aconitin alkaloids has been developed and validated. Statistical processing of the obtained results showed that all the studied validation parameters are within the selected acceptance criteria, therefore, the developed method is included in the regulatory technical document Ts 03535440-017:2020 and is used in quantitative analyzes in production control. And also a comparison was made of the HPLC method with the method of anhydrous titration of alkaloids according to the Fisher criterion.

**Keywords:** standardization, alkaloid, aconitine, HPLC, method, validation, comparison

## МЕТОД ВЭЖХ ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ АЛКАЛОИДА АКОНИТИНА И СРАВНЕНИЕ ЕГО С МЕТОДОМ ТИТРОВАНИЯ

*Дилноза МУТАЛОВА (noza-gold@mail.ru), Обиджон ЖУРАЕВ (Jurayevobidjan@gmail.com), Алимжан САДИКОВ (sadikov48@list.ru), Шомансур САГДУЛЛАЕВ (ixrv@mail.ru)*  
Институт химии растительных веществ, Ташкент, Узбекистан

Целью настоящего исследования стали разработка и валидация количественного определения методов титрования и ВЭЖХ и сравнение их по воспроизводимости. Разработка новых подходов к контролю качества требует стандартизации фармацевтической продукции с использованием современных методов количественного анализа. Разработан и валидирован ВЭЖХ метод количественного анализа алкалоида аконитина. Статистическая обработка полученных результатов показала, что все исследуемые валидационные параметры находятся в пределах выбранных критериев приемлемости, что позволило включить разработанную методику в нормативно технический документ Ts 03535440-017:2020. В настоящее время методика используется при количественных анализах в производственном контроле. Проведено сравнение метода ВЭЖХ с методом безводного титрования алкалоидов по критерию Фишера.

**Ключевые слова:** стандартизация, алкалоид, аконитин, ВЭЖХ, метод, валидация, сравнение

## YuSSX YORDAMIDA AKONITIN ALKALOIDINI MIQDORIY TAHLILI VA UNI TITRLASH USULI BILAN TAQQOSLASH

*Dilnoza MUTALOVA (noza-gold@mail.ru), Obidjon JURAEV (Jurayevobidjan@gmail.com), Alimjan SADIKOV (sadikov48@list.ru), Shomansur SAGDULLAEV (ixrv@mail.ru)*  
O'simlik moddolari kimyosi instituti, Toshkent, O'zbekiston

Ushbu tadqiqotning maqsadi titrlash va YuSSX usullarini miqdoriy aniqlashni ishlab chiqish, validatsiyasi va ularni qayta tiklanuvchanlik mezonini bilan solishtirish. Sifatni nazorat qilishda yangi yondashuvlarni ishlab chiqish zamonaviy miqdoriy tahlil usullaridan foydalangan holda farmatsevtika mahsulotlarini standartlashtirishni talab qiladi. HPLC akonitin alkaloidini miqdoriy tahlil qilish usuli ishlab chiqilgan va tasdiqlangan. Olingan natijalarni statistik qayta ishlash shuni ko'rsatdiki, o'rganilayotgan barcha tasdiqlash parametrlari tanlangan qabul qilish mezonlari doirasida, shuning uchun ishlab chiqilgan usul Ts 03535440-017:2020 me'yoriy-texnik hujjatiga kiritilgan va ishlab chiqarishni nazorat qilishda miqdoriy tahlillarda qo'llaniladi. HPLC usulini Fisher mezoniga ko'ra alkaloidlarni suvsiz titrlash usuli bilan taqqoslash ham amalga oshirildi.

**Kalit so'zlar:** standartlashtirish, alkaloid, akonitin, YuSSX, usul, validatsiya, taqqoslash

DOI: 10.34920/ccc202239

### Введение

Одним из подходов к расширению ассортимента фитопрепаратов является получение и стандартизация фармацевтических субстанций растительного происхождения, таких как, например, алкалоиды, которые представляют собой высокую фармакологическую активность. Однако введение в официальную медицинскую практику новых фармацевтических субстанций растительного происхождения возможно только после их стандартизации, а именно: комплекса исследований по выбору критериев и норм, которые характеризуют качество данных продуктов [1-3].

В многообразии современных физико-

химических методов хроматография занимает одно из ведущих мест, так как позволяет осуществить разделение веществ, их идентификацию и количественное определение. Среди хроматографических методов высокоэффективная жидкостная хроматография занимает прочные позиции как селективный высокоточный метод анализа многокомпонентных лекарственных препаратов и биореактивов [4-8].

Аконитин является алкалоидом, получаемый из клубневого растения *Aconitum karakolicum* (Аконит Караколский) и *Aconitum Soongoricum* (Аконит Джунгарский), семейства лютиковых – *Ranunculaceae* в которых содержание аконитина составляет в пределах 0,2- 0,9% от

воздушно сухой массы сырья в зависимости от периода вегетации и места сбора [9-13].

В Центральной Азии растут два вида растений рода *Aconitum* – *Aconitum karakolicum* и *Aconitum soongaricum*, содержащие в своем алкалоидном составе аконитин. В сумме алкалоидов этих растений главным алкалоидом является аконитин [14, 15]. Но в зависимости от вида растительного сырья, от их места произрастания, от почвенно-климатических условий сопутствующими алкалоидами могут быть разные алкалоиды, такие как, караколин, мезаконитин, зонгорин, диоксиаконитин и др.

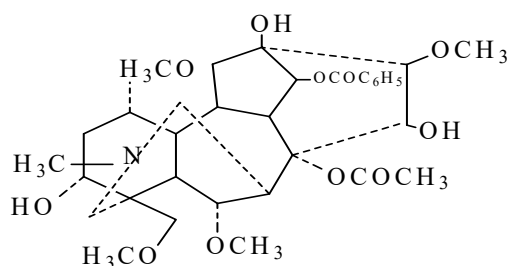


Рисунок 1. Структурная формула аконитина.

Субстанция Аконитин применяется в качестве биореактива медицинской практике для получения экспериментальной модели различных патологий сердца у лабораторных животных [16-18]. Также входит в состав гомеопатического препарата «Афлубин» (Германия) [19-21].

Аконитин (систематическое наименование 1 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,6 $\alpha$ ,14 $\alpha$ ,16 $\beta$ )-8-(ацетилокси)-20-этил-3,13,15-тригидрокси-1,6,16-триметокси-4-(метоксиметил) аконитан-14-ила бензоат) - органическое соединение, чрезвычайно токсичный алкалоид растений рода аконит (борец), нейротоксин (рис. 1). Близкий ему по свойствам алкалоид зонгорин  $C_{22}H_{31}NO_3$  обладает сходными свойствами, но меньшей токсичностью [22-25].

Алкалоид Аконитин - это тонкие, белые кристаллы, растворимые в хлороформе, бензоле, слабо в спирте и эфире, очень слабо в воде (226 мг/л при 22 °С). Температура плавления 202-203 °С [26].

Целью настоящего исследования стали разработка и валидация количественного определения методом титрования и ВЭЖХ и сравнение их по воспроизводимости.

## Методы исследования

Объектом исследования служил биореактив Аконитин, который разработан в Институте Химии растительных веществ. Разработали метод определения Аконитина в субстанциях методом потенциометрического титрования в безводной сфере.

Критериями выбора оптимального состава растворителя служили наличие четко выраженного скачка на кривой потенциометрического титрования, а также количественное содержание определяемого вещества, рассчитанное по результатам титрования. Титрование проводили с помощью микробюретки, точку эквивалентности фиксировали потенциометрически.

0,1 г субстанции биореактива (точная навеска) предварительно высушенного до постоянной массы, поместили в коническую колбу со шлифом и добавляли 10 мл ледяной уксусной кислоты, встряхивали до растворения. Готовый раствор титровали 0,1Н раствором хлорной кислоты до перехода фиолетовой окраски в синюю, используя индикатор - кристаллический фиолетовый. Параллельно проводили контрольный опыт. 1 мл 0,1Н раствора хлорной кислоты соответствует 0,06453 г аконитина  $C_{34}H_{47}O_{11}N$ .

Чтобы обеспечить наибольшую чувствительность разработанной методики при определении примесей, был снят УФ-спектр поглощения стандартного раствора Аконитина на спектрофотометре Shimadzu UV-1800 с кварцевыми кюветами толщиной 10 мм, спектральным диапазоном волн 190-1100 нм.

*Приготовление стандартного образца Аконитина:* Около 0,1 г порошка рабочего стандартного образца поместили в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавили 20 мл подкисленной воды и поместили в ультразвуковую ванну до растворения. Объем содержимого колб доводили до метки тем же растворителем и перемешивали.

Методика ВЭЖХ обладает наибольшей специфичностью среди методик количественного определения, что определяется особенностями данного аналитического метода, однако требует использования стандартного образца. В качестве стандартного образца взят образец Аконитина, каталог фирмы «LATOXAN» номер продукта 302-27-2.

Условия ВЭЖХ анализа Аконитина

Параметры	
Насос	
-состав подвижной фазы	А-буферный раствор (Ортофосфорная кислота) В-ацетонитрил
-режим элюирования	Изократическое элюирование А:В (65:35)
-скорость потока	1,0 мл/мин
Инжектор	
-объем ввода	20 мкл
Детектирование	УФ-спектрофотометрическое при $\lambda=230\pm 2$ нм
Хроматографические характеристики методики	
-примерное время удерживания, мин. ( $t_R$ )	4,6 мин

Жидкостная хроматография проводилась на жидкостном хроматографе высокого давления Agilent 1100 series (Agilent Technologies Inc., США), оснащенный 4-градиентным насосом, дегазатором, петлевым инжектором и детектором с переменной длиной волны (VWD), колонкой Zorbax Eclipse XDB C8 4,6x150 FR 1,0, в следующих условиях, представленных в таблице 1.

**Приготовление подвижной фазы. Приготовление 0,1% водного раствора ортофосфорной кислоты.** В колбу 500,0 мл водой каплями прибавляли ортофосфорную кислоту до pH=2 и перемешивали. Для дегазации помешали колбу в ультразвуковую баню.

В случае высокой концентрации Аконитина (более 0,10 мг/мл) из объема V (100 мл) отбирали аликвоту в 10 мл и разбавляли смесью ацетонитрила и воды в N раз. Разбавление учитывали при расчете концентрации.

**Описание методики.** В хроматограф, выведенный на рабочий режим, 5 раз вводят испытуемый раствор. На хроматограммах идентифицируют пик Аконитина и определяют их площадь. Время удерживания составляет примерно 4,6 мин.

Определяют параметры пригодности системы.

- 1) коэффициент емкости ( $k'$ ) = 2,83 (более 2,0);
- 2) эффективность (число теоретических тарелок) (N) = 2116 (более 2000);
- 3) фактор асимметрии пика ( $A_s$ ) = 0,87 (не более 1,5).

4) разрешение ( $R_s$ ) не определяется, так как в системе наблюдается только один пик.

**Приготовление стандартного раствора субстанции биореактива Аконитина.** Навеску стандартного образца Аконитина около 10 мг (точная навеска) помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, добавляли 30 мл смеси ацетонитрила и воды (подкисленная вода) (50/50), перемешивали до полного растворения, доводили объем до метки тем же растворителем и перемешивали, получая исходный раствор с концентрацией около 0,1 мг/мл.

**Приготовление испытуемого раствора субстанции биореактива Аконитина.** Навеску испытуемого образца Аконитина около 10 мг (точная навеска) помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, добавляли 30 мл смеси ацетонитрила и воды (подкисленная вода) (50/50), перемешивали до полного растворения, доводили объем до метки тем же растворителем и перемешивали, получая исходный раствор с концентрацией около 0,1 мг/мл.

Количественное содержание алкалоида Аконитина методом титрования в процентах (X) рассчитали по следующей формуле:

$$X = \frac{(V - V_0) \times K \times 0,06453 \times 100}{a},$$

где: a – масса навески в г; V – объем титранта (мл), израсходованный на титрование в основном опыте, в мл;  $V_0$  – объем титранта (мл), из-

расходованный на титрование в контрольном опыте, в мл; K – поправочный коэффициент 0,1 M раствора хлорной кислоты;

Содержание Аконитина в субстанциях варьировался от 96,0 до 101,0%.

Расчет определения алкалоида Аконитина методом ВЭЖХ в биореактиве проводили по формуле:

$$X = \frac{S_{исп} \times m_{ст} \times V_{исп} \times P}{S_{ст} \times m_{исп} \times V_{ст}}$$

где: X – процентное содержание аконитина; S<sub>исп</sub> – площадь пика испытуемого раствора; S<sub>ст</sub> – площадь пика стандартного раствора; m<sub>исп</sub> – масса навески испытуемого образца, в г; m<sub>ст</sub> – масса навески стандартного образца, в г; V<sub>исп</sub> – объем раствора испытуемого образца, в мл; V<sub>ст</sub> – объем раствора стандартного образца, в мл; P – процентное содержание стандартного образца, в %.

Валидацию аналитической методики проводили в соответствии с ОФС 1.1.0012.15 «Валидация аналитической методики», «Статистическая обработка результатов химического эксперимента» ГФ XII.

## Результаты и обсуждение

Для оценки пригодности предлагаемой методики была проведена её валидация. В соответствии с рекомендациями проводили одновременное изучение линейности, правильности и прецизионности (сходимости) предлагаемой методики. Были проведены восемь количественных определений в пределах аналитической области методики (80-120%). Полученные данные приведены в таблице 2.

На основании данных, представленных в таблице 2, методика может быть признана правильной. Численное значение коэффициента нормированных отклонений (коэффициента Стьюдента), рассчитанное по результатам анализа, составило t = 2,35, что ниже табличного значения коэффициента Стьюдента, который при степени свободы f=7 и доверительной вероятности 95% равен 2,37, т.е. t<sub>выч</sub> < t<sub>табл</sub>. Таким образом, результаты, полученные данным методом, являются правильными и не отягощены систематической ошибкой.

Таблица 2

Результаты количественного определения Аконитина и его метрологическая характеристика

Уровень	№	Навеска, г	Объем титранта, мл	Найдено, г	Найдено, %
1	1	0,1120	5,40	0,1111	99,21
	2	0,1220	5,98	0,1216	99,75
	3	0,1301	6,36	0,1287	99,00
	4	0,1415	6,92	0,1401	99,05
2	5	0,1500	7,32	0,1500	100,02
	6	0,1605	7,79	0,1605	100,00
	7	0,1705	8,36	0,1687	99,00
	8	0,1804	8,80	0,1788	99,12
V <sub>0</sub> =1,55; K=1,002					
Параметры линейной зависимости «навеска – объем титранта»			Метрологическая характеристика результатов определений		
b=49,195 a=0,06 y = 49,195x - 0,06 R <sup>2</sup> = 0,9992 r=0,9995			n=8, f=7 X <sub>ср</sub> =99,39 S <sup>2</sup> =0,159 S=0,6715 P,%=95 t(P,f)=2,37 F(P,f <sub>1</sub> ,f <sub>2</sub> )=4,21 ±Δx=0,56 ε,%=1,6 ε̂,%=0,56 RSD,%=0,45		

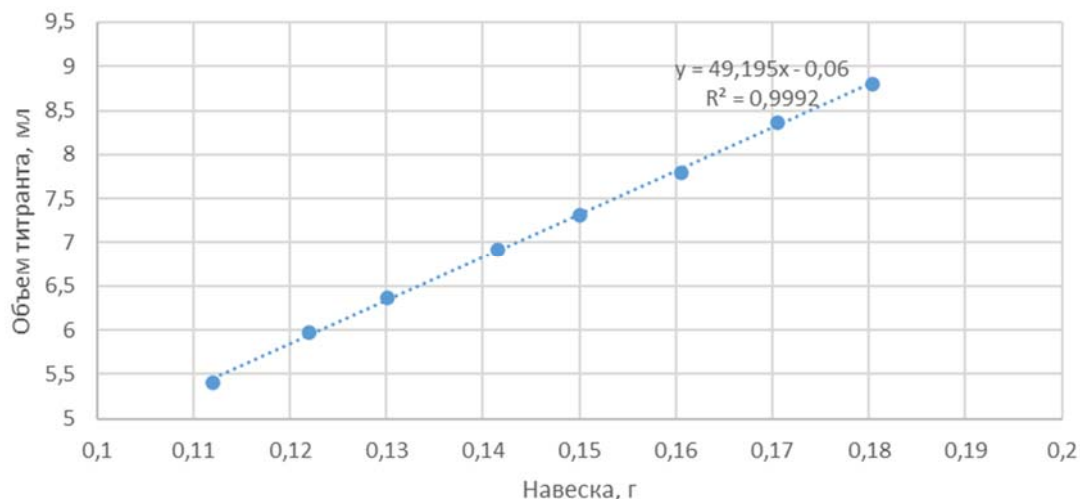


Рисунок 2. График линейной зависимости объема титранта от массы субстанции Аконитина.

График линейной зависимости объема титранта от массы субстанции Аконитина представлен на рисунке 2.

По результатам УФ-спектрометрии в качестве аналитической волны выбрана длина волны 230 нм, поскольку в данной области спектра изучаемые вещества характеризуются

симальным поглощением (рис. 3), что в итоге обеспечит наибольшую чувствительность.

Специфичность методики доказана на основании сопоставления полученных хроматограмм стандартного раствора субстанции Аконитина, модельной смеси с концентрацией Аконитина 0,1 мг/мл и используемого растворителя. В результате анализа установили, что время удерживания раствора стандартного образца Аконитина и анализируемой пробы на хроматограмме одинаковы (4,6 мин) (рис. 4).

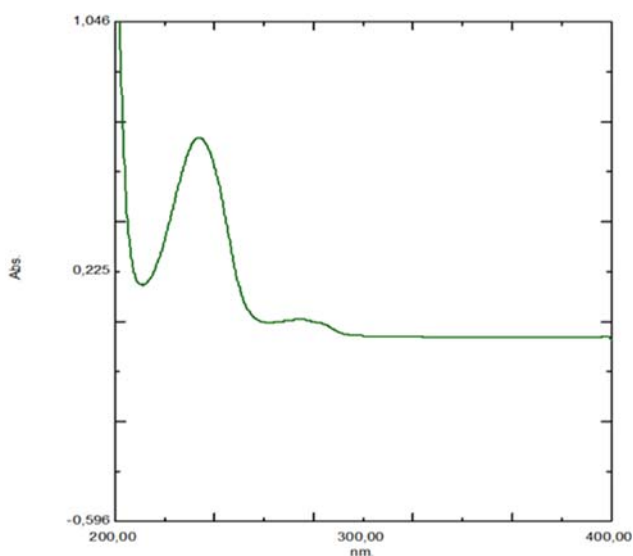


Рисунок 3. УФ-спектр поглощения раствора Аконитина.

Peak Pick			
No.	P/V	Wavelength nm.	Abs.
1	↑	398.80	0.012
2	↑	275.20	0.068
3	↑	233.80	0.666
4	↓	262.00	0.058
5	↓	211.00	0.182

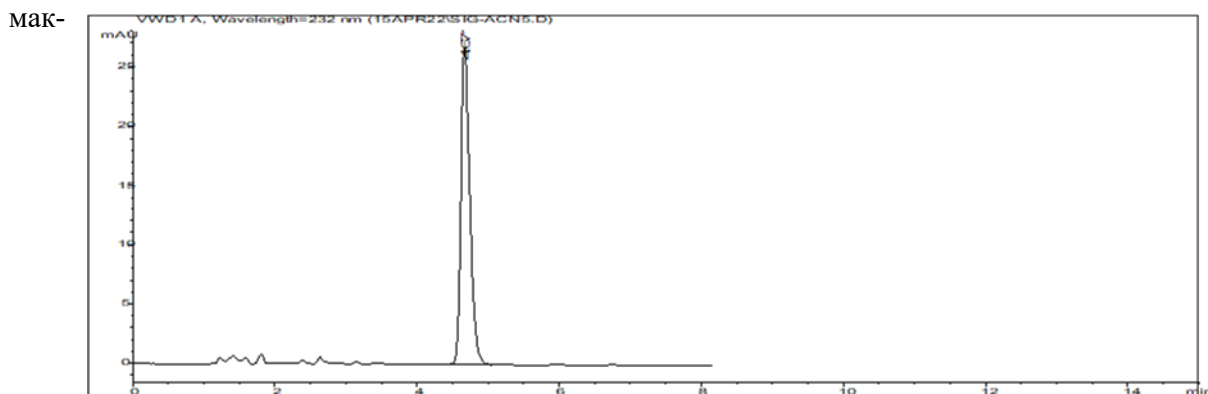


Рисунок 4. Хроматограмма раствора субстанции Аконитина (в.у. 4,67мин).

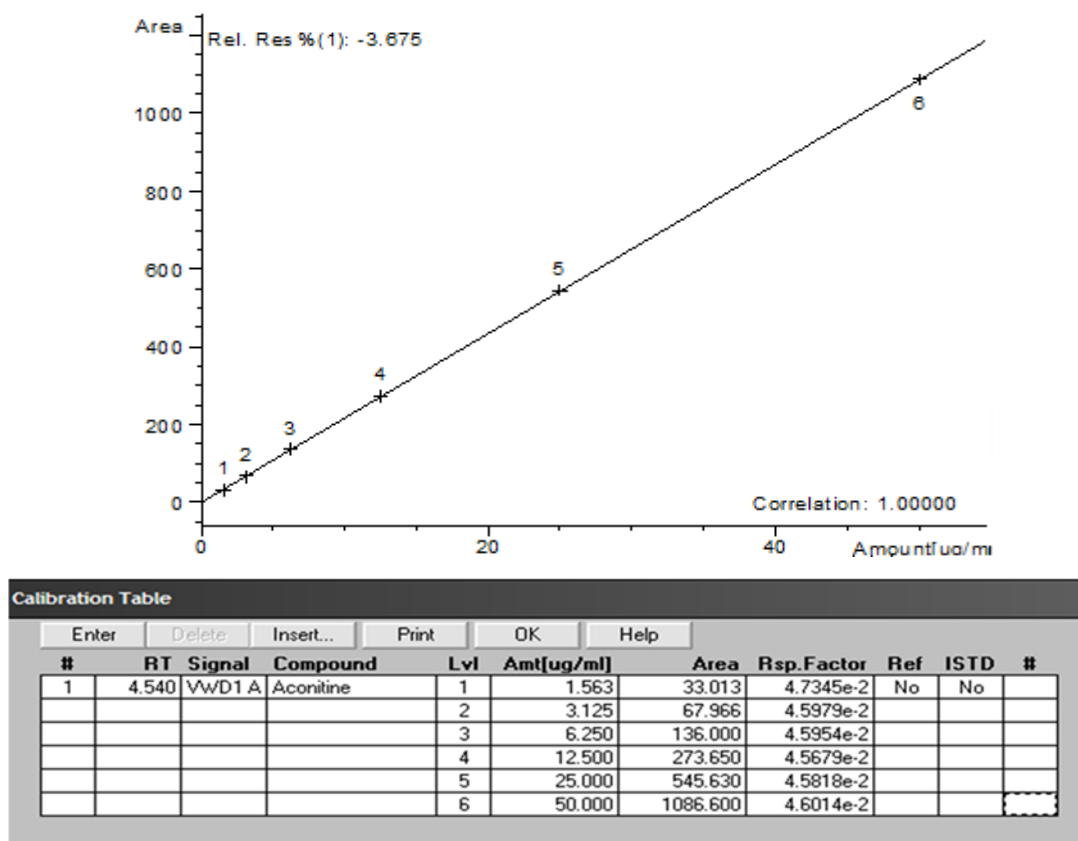


Рисунок 5. График линейной зависимости площади пика (S) от концентрации (C) раствора биореактива Акониин.

На основании графика зависимости площади полученных пиков от концентрации стандартного образца в модельных смесях была доказана линейность методики в диапазоне концентраций Антиаритмина от 1,56 мкг/мл до 50,00 мкг/мл. Полученные результаты показали, что существует линейная зависимость между площадью пика и количеством алкалоида грамина, нанесенного на колонку, что подтверждается значением коэффициента корреляции:  $R^2=1$  (рис. 5).

Результаты количественного определения Акониина в биореактиве Акониин показаны в таблице 3.

Для оценки прецизионности (сходимости) результатов был рассчитан коэффициент вариации (RSD), не превышающий 1% (0,046%).

Предел обнаружения (LOD) Акониина был установлен на уровне 0,153 мкг/мл. Предел количественного определения (LOQ) составил 0,473 мкг/мл. Пределы устанавливали согласно отклонениям сиг-

Таблица 3  
 Результаты количественного определения алкалоида акониин субстанции биореактива Акониин методом ВЭЖХ

№	Взято, мкг/мл (C1)	Найдено, мкг/мл (C2)	Абсолютная ошибка, мг/мл ( $d=C2-C1$ )	Относительная ошибка, % ( $Y=d \times 100/C1$ )	Найдено, %	Метрологические характеристики (P=95%, n=7)
1	10,00	9,9770	-0,023	-0,23	99,77	$X_{cp}=99,81$ $S^2=0,017$ $S=0,131$ $P, \%=95$ $t(P,f)=2,78$ $F(P,f_1,f_2)=4,21$ $\pm \Delta x=0,122$ $\varepsilon, \%=0,323$ $\hat{\varepsilon}, \%=0,122$ $RSD, \%=0,046$
2	10,25	10,238	-0,011	-0,11	99,89	
3	10,12	10,106	-0,013	-0,13	99,87	
4	10,54	10,521	-0,018	-0,18	99,82	
5	10,15	10,127	-0,022	-0,22	99,78	
6	10,10	10,079	-0,020	-0,20	99,80	
7	10,00	9,9790	-0,021	-0,21	99,79	

Таблица 4

Расчет определения внутрилабораторной прецизионности количественного определения алкалоида аконитина в субстанции биореактива Аконитин методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

	$X_i, \%$	$X_{cp}, \%$	$S^2$	$S$	$\pm \Delta x, \%$	$\delta, \%$	$ X_{cp1} - X_{cp2} $	$\sqrt{2} \times (0,95; f) \times \frac{S_0}{\sqrt{n}}$ ( $t(P, f)=2,45$ )
1-й	99,81	99,80	0,0048	0,11	0,1044	0,1046	0,03	0,56
	99,82							
	99,79							
	99,80							
	99,82							
	99,81							
	99,79							
2-й	99,84	99,83	0,007	0,14	0,1332	0,1334	0,03	0,56
	99,86							
	99,85							
	99,85							
	99,80							
	99,82							
	99,83							

нала и угловому коэффициенту калибровочного графика.

Внутрилабораторную прецизионность оценивали по результатам определения Аконитина: 2 раствора, приготовленные разными химиками-аналитиками. Анализ проводили по методике количественного определения алкалоида аконитин в субстанции методом ВЭЖХ. Каждый химик хроматографировал 7 раз по три повторности, на приведенной ниже таблице приведены средние значения результатов.

Результаты проведенного определения обобщены в таблице 4.

Значения  $X$  - для различных дней должны быть статистически неотличимы, что при отсутствии грубых погрешностей свидетельствует об удовлетворительной внутрилабораторной прецизионности.

Для проверки внутрилабораторную прецизионность рассчитывают средневзвешенное стандартное отклонение  $S_0$ :

$$S_0 = \sqrt{(S_1^2 + S_2^2) / 2}$$

где:  $S_1$  – стандартное отклонение результатов первого химика;  $S_2$  – стандартное отклонение результатов второго химика; 2 – количество дней измерений.

Модуль разницы между средними значениями  $X$ — для различных дней должен удовлетворять соотношению:

$$|X_{cp1} - X_{cp2}| \leq \sqrt{2} \times t(0,95; f) \times \frac{S_0}{\sqrt{n}}$$

$$0,03 \leq 0,56,$$

где  $f = 4(n-1)$ ,  $n$  – число параллельных измерений.

Из приведенных в таблице 4 результатов можно сделать вывод о том, что данная методика характеризуется удовлетворительной внутрилабораторной прецизионностью.

При сравнении воспроизводимости двух методов анализа с оценками дисперсий  $s_1^2$  и  $s_2^2$  ( $s_1^2 > s_2^2$ ) вычисляют критерий Фишера  $F$ :

$$F_{\text{табл.}} = 4,21 \quad (P=95 \%, f_1=7 \text{ и } f_2 = 6)$$

$$F_{\text{расч.}} = s_1^2 / s_2^2 = 0,159 / 0,017 = 9,35$$

При равенстве  $F(P, f_1, f_2) < F_{\text{расч}}$  различие дисперсий  $s_1^2$  и  $s_2^2$  признается статистическим с вероятностью  $P$ , что позволяет сделать заключение о более высокой воспроизводимости второго метода.

Относительная ошибка метода количественного определения алкалоида Аконитин в субстанции биореактива методом ВЭЖХ низка, что указывает на высокую точность метода.

### Заключение

Разработана методика количественного определения Аконитина в субстанции методом ВЭЖХ. В результате валидации установлена ее специфичность, линейность, прецизионность, правильность. Относительная ошибка метода количественного определения Аконитина в субстанции препарата методом ВЭЖХ низка, что указывает на высокую точность метода.



Осуществлено сравнение воспроизводимости двух методов количественного определения Аконитина по критерию Фишера. По воспроизводимости получаемых результатов

разработанная методика ВЭЖХ превышает методику безводного титрования, включенную в ТУ, и может использоваться в качестве альтернативной.

#### REFERENCES

1. Kurkin V.A. Sovremennyye aspekty khimicheskoy klassifikatsii biologicheskii aktivnykh soedineniy lekarstvennykh rasteniy [Modern aspects of the chemical classification of biologically active compounds of medicinal plants]. *Farmatsiya*, 2002, vol. 50, no. 2, pp. 8-16.
2. Samilina I.A., Balandina I.A. Puti ispolzovaniya lekarstvennogo rastitel'nogo syr'ya i yego standartizatsiya [Ways of using herbal medicinal plant and its standardization]. *Farmatsiya*, 2004, vol. 52, no. 2, pp. 39-41.
3. Kurkin V.A. Khimicheskaya klassifikatsiya farmakopoeiynykh rasteniy kak metodologicheskaya osnova standartizatsii lekarstvennogo rastitel'nogo syr'ya [Chemical classification of pharmacopoeial plants as a methodological basis for the standardization of medicinal plant materials]. *Zdorov'ye i obrazovaniye v XXI veke*, 2016, no. 12, pp. 135-137.
4. Sakanyan Ye.I., Kovaleva Ye.L., Frolova L.N., Shelestova V.V. Sovremennyye trebovaniya k kachestvu lekarstvennykh sredstv rastitel'nogo proiskhozhdeniya [Modern requirements for the quality of plant-origin medicines]. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya*, 2018, vol. 8 no. 3, pp. 170-178. DOI:10.30895/1991-2919-2018-8-3-170-178
5. Kazakevich Y., Lobrutto R. *HPLC for pharmaceutical scientists*. New Jersey: John Wiley, 2007. 1135 p.
6. Zdoryk O.A., Khokhlova K.O., Savchenko L.P., Georgiyants V.A. Method for TLC-identification test for ointment with herbal tinctures. *The 17-th International Congress Phytopharm*, Vienna, 2013, p. 51.
7. Reich E., Schibli A. *High-Performance Thin-Layer Chromatography for the Analysis of Medicinal Plants*. New York, 2006. 280 p.
8. Mutalova D.K., Zhuraev O.T., Sadikov A.Z., Sagdullaev Sh.Sh., Payziev I.B., Tursunova M.E. Alkaloid akonitine of high purity from tuber of *Aconitum jurganicum* and HPLS method of its analysis. *XIII International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds*. Shanghai, 2019, p. 8.
9. Ibragimov A.Sh., Nabieva F.X. Akonitovyye rasteniya flory Nakhchivanskoj avtonomnoj respubliki [Aconite plants of the flora of the Nakhchivan Autonomous Republic]. *Privolzhskiy nauchnyy vestnik*, 2014, vol. 33, no. 5, pp. 5-9.
10. Shpanko D.N., Belashova O.V. Nekotoryye aktual'nyye voprosy i perspektivnyye napravleniya parazitologii lekarstvennykh rasteniy [Some topical issues and promising areas of parasitology of medicinal plants]. *Fundamental'nyye issledovaniya*, 2011, no. 7, pp. 223-229.
11. Novikov V.S. *Populyarnyy atlas-opredelitel'. Dikorastushchiye rasteniya*. - 3-e izd., stereotip. Moscow, Drofa Publ., 2006. pp. 246-250.
12. Gemedzhiyeva N.G. Vidy roda *Aconitum* L. (Ranunculaceae Juss.) - sennyye istochniki syr'ya dlya polucheniya fitopreparatov [Species of the genus *Aconite* L. (Ranunculaceae Juss.) - hay springs of raw materials for the getting of phytopreparations]. *Izvestiya NAN RK. Seriya biologicheskaya*, 2008, no. 2, pp. 30-35.
13. Gemedzhiyeva N.G. Alkaloidonosnyye rasteniya Kazakhstana i perspektivy ikh ispol'zovaniya. Almati, 2012. 312 p.
14. Mutalova D.K., Juraev O.T., Sadykov A.Z., Sagdullaev Sh.Sh. Liquid-liquid technology for the of aconitene from *aconitum soongoricum*. *Uzbek Biological Journal*, 2017, no. 4, pp. 78-81.
15. Juraev O.T., Sadikov O.Z., Sagdullaev Sh.Sh., Xajiakbar Aysa, Mutalova D.K. *Akonitin olish usuli* [Method of obtaining aconite]. Patent UZ, no. 05805, 2018.
16. Teryoshina N.S., Samilina I.A., Sukanov Yu.V., Patudin A.V. Sovremennyye trebovaniya k standartizatsii gomeopaticeskogo syr'ya i substansiy [Modern requirements for the standardization of homeopathic raw materials and substances]. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya*, 2016, no. 3, pp. 16-20.
17. Lijuan Zhang, Mukadai Siyiti, Jiang Zhang, Meiqi Yao and Feicui Zhao. Anti-inflammatory and anti-rheumatic activities in vitro of alkaloids separated from *Aconitum soongoricum* Stapf. *Experimental and therapeutic medicine*, 2021, no. 21, 493 p. DOI: 10.3892/etm.2021.9924.
18. Friese J., Gleitz J., Gutser U.T. et al. *Aconitum* sp. alkaloids: the modulation of voltage-dependent Na<sup>+</sup> channels, toxicity and antinociceptive properties. *Eur. J. Pharmacol.*, 1997, vol. 337, no. 2-3, pp. 165-174.
19. Pros N., Lopatinskaya O., Tereshuk S. Kompleksnyye gomeopaticheskiye sredstva dlya lecheniya i profilaktiki grippe v assortimente aptek [Complex homeopathic remedies for the treatment and prevention of influenza in the assortment of pharmacies]. *Provizor*, 2000, no. 21, pp. 9-12.
20. Ohta H., Seto Y., Tsunoda N. et al. Determination of *Aconitum* alkaloids in blood and urine samples. II. Capillary liquid chromatographic-frit fast atom bombardment mass spectrometric analysis. *J. Chromatogr. B Biomed. Sci. Appl.*, 1998, vol. 714, no. 2, pp. 215-221.
21. Guha S., Dawn B., Dutta G. et al. Bradycardia, reversible panconduction defect and syncope following self-medication with a homeopathic medicine. *Cardiology*, 1999, vol. 91, no. 4, pp. 268-271.
22. Sadikov A.Z. Optimizatsiya tekhnologii proizvodstva alkaloidov iz rastitel'nogo syr'ya. Doktorskaya dissertatsiya v vide nauchnogo doklada [Optimization of production technologies of alkaloids from plant raw materials. Content of doctoral dissertation in form of scientific report]. Tashkent, 2015. 137 p.
23. Usmanov S.K., Gulnar S., Chen Li, Ba Hang, Aisa H.A., Shakirov P. Komponenty iz korney rasteniya *Aconitum karakolicum* [Components from the roots of the plant *Aconite karakolicum*]. *Khimiya prirodnykh soyedineniy*, 2009, no. 5, pp. 640-641.
24. Zharilgasina G.T., Nurmaganbetov J.S., Turmukhambetov A.J., Adekenov S.M. Sovremennyye sposoby vydeleniya alkaloidov iz rastitel'nogo syr'ya. *Farmatsvicheskij byulleten'*, 2014, no. 3-4, pp. 105-122.
25. Xiangting Gao, Jun Hu, Xincan Zhang, Yuanyi Zuo, Yun Wang & Shaohua Zhu. Research progress of aconitine toxicity and forensic analysis of aconitine poisoning. *Forensic Sciences Research*, 2020, vol. 5, no. 1, pp. 25-31. DOI: 10.1080/20961790.2018.1452346
26. Orekhov A.P. *Khimiya alkaloidov* [Chemistry of alkaloids]. Moscow, Izd. AN SSSR Publ., 1955. 868 p.