

УДК 615.454.1+615.32+54.06

ОЦЕНКА СОВМЕСТИМОСТИ КОМПОНЕНТОВ ГЕЛЯ НА ОСНОВЕ ХИТОЗАНА, СОДЕРЖАЩЕГО ТАУРИН И ДЕКСПАНТЕНОЛ, МЕТОДОМ ИК-СПЕКТРОСКОПИИ

А. В. Бузлама¹, С. Х. Доба¹, М. Харун², М. А. Аль-мардини³

¹ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет»

² Университет Манары

³ Университет Дамаска

Поступила в редакцию 15.09.2020 г.

Аннотация. Статья посвящена оценке совместимости компонентов геля на основе хитозана, содержащего таурин и декспантенол, предназначенного для внутреннего или наружного применения, при помощи метода ИК-спектроскопии. Лекарственная форма гель выбрана так как гели удобны в применении, при попадании на кожу или одежду легко смываются водой, не оставляя следов, по сравнению с мазями хорошо всасываются, что повышает их эффективность, способны образовывать на обрабатываемой поверхности тонкую пленку, обеспечивать защиту от микробной контаминации, пролонгировать действие лекарственных веществ, проявляют увлажняющее действие, что характеризует преимущества гелей при наружном лечении повреждений кожных покровов, а так же различных заболеваний ЖКТ при приеме внутрь.

Проведена фармацевтическая разработка оригинального геля на основе хитозана, содержащего таурин и декспантенол, состав геля: хитозан 1%, таурин 4%, декспантенол 0.43%, уксусная кислота 0.25%. Гель является прозрачным бесцветным без твердых инородных включений, стабильный при хранении при комнатной температуре в течение 10 месяцев.

Образец геля на основе хитозана с декспантенолом и таурином предварительно высушивали для удаления воды, входящие в состав отдельные компоненты геля (хитозан, таурин, декспантенол) подвергали измерению без предварительной пробоподготовки, и потом сравнили полученные ИК-спектры.

Установлено, что согласно ИК-спектрам хитозана, таурина и декспантенола и их смеси, характеристические полосы поглощения, отвечающие валентным колебаниям первичной аминогруппы в области 3400-3300 см⁻¹ в молекуле хитозана, аминогруппы в области 3130-3030 см⁻¹ и сульфогруппы в области 1207 см⁻¹ в молекуле таурина, полосы поглощения в области 1680 см⁻¹ отвечающие валентным колебаниям связи карбонильного фрагмента в составе карбамидной группы в молекуле декспантенола, присутствуют в их смеси, а отсутствие новых полос поглощения свидетельствует, что указанные группы не участвуют в ковалентном связывании и подтверждает возможность их совместного включения в состав лекарственной формы гель.

Ключевые слова: хитозан, таурин, декспантенол, гель, фармацевтическая разработка, ИК-спектроскопия

В настоящее время на фармацевтическом рынке существует большое разнообразие лекарственных форм, среди мягких лекарственных форм значительный интерес в области фармацевтической разработки новых лекарственных препаратов вызывает гель. В общем случае гели характери-

зуют как структурированные системы с жидкой дисперсионной средой, в которых частицы дисперсной фазы образуют пространственную сетку. Они представляют собой твердообразные тела, способные сохранять форму, обладающие упругостью (эластичностью) и пластичностью [1,2].

Физико-химические свойства гелей позволяют рассматривать их как перспективную лекар-

© Бузлама А. В., Доба С. Х., Харун М., Аль-мардини М. А., 2020

ственную форму для перорального применения. Гели для приема внутрь сочетают преимущества твердых и жидких пероральных лекарственных форм. Одним из их достоинств является большая биологическая доступность по сравнению с твердыми лекарственными формами [3]. Удобство приема и возможность коррекции вкуса позволяют использовать лекарственные препараты в форме гелей для приема внутрь в педиатрической и гериатрической практике, а также для пациентов, страдающих хроническими заболеваниями, в том числе связанными с нарушениями глотания [4].

В последние годы такие природные вещества, как хитозан, таурин и декспантенол, стали привлекать внимание исследователей в качестве перспективных компонентов для разработки новых лекарственных препаратов и выявления новых сфер их применения в медицине.

Хитозан – деацетилированное производное хитина, представляющее собой биополимер природного происхождения, состоящий из N-ацетил-2-амино-2-дезоксид-β-D-глюкопиранозы, связанной 1-4- гликозидными связями [5]. В целом хитозан является биосовместимым, биodeградируемым, нетоксичным соединением, LD₅₀ при пероральном введении мышам превышает 16 г/кг [6], что выше, чем у сахарозы [7]. В зависимости от физико-химических свойств хитозан различного происхождения и состава обладает многочисленными фармакологическими свойствами, в их числе известно ранозаживляющее, противовоспалительное, антиоксидантное, антибактериальное, противовирусное, фунгистатическое, иммуностимулирующее, противоопухолевое, гемостатическое, гепатопротекторное, гиполипидемическое, энтеросорбирующее, антиоксидантное, радиопротекторное действие [8, 9, 10, 11, 12, 13, 14]. Широко известно так же применение хитозана внутрь в составе БАД для снижения уровня холестерина крови и массы тела [15]. Подлинность хитозана определяют методом ИК-спектроскопии. Количественное определение осуществляют с помощью несколько методов, например один из них основан на одностадийной деполимеризации с нитритом натрия с последующей реакцией конечного продукта с тиобарбитуровой кислотой, другой метод основан на специфической реакции между полийодид-анионами и хитозаном и измерении оптической плотности нерастворимого полийодид-хитозанового комплекса [16,17,18].

Таурин представляет собой аминокислоту, которая является 2-аминопроизвод-

ным этансульфоновой кислоты, LD₅₀ при пероральном применении более 7000 мг/кг [19]. Таурин это естественная аминокислота, образующаяся в результате метаболизма метионина и цистеина. Широко известно клиническое применение таурина в комплексном лечении сердечной недостаточности, сахарного диабета 1 и 2 типа, а так же местно при дистрофических поражениях сетчатки и роговицы глаза. Сообщалось так же о применении таурина в составе БАД и диетотерапии при лечении таких расстройств, как муковисцидоз и артериальная гипертензия. На фоне воздействия таурина выявлена коррекция сердечной и скелетной мышечной дисфункции при таких состояниях, как синдром MELAS (MELAS – митохондриальная энцефаломиопатия, лактатацидоз, инсультоподобные эпизоды), выявлены улучшения при саркопении, мышечной дистрофии Дюшенна и миотонической дистрофии. В настоящее время таурин рассматривается как незаменимый нутрицевтик с разнообразными цитопротекторными и терапевтическими свойствами [20, 21, 22, 23]. Подлинность таурина определяют методом ИК-спектроскопии, количественное определение осуществляют с помощью формолового титрования [24].

Декспантенол представляет собой амид монокарбоновой кислоты, LD₅₀ для мышей перорально 15000 мг/кг, т.е. нетоксичное соединение. Известна эффективность и высокая безопасность декспантенола при местном применении в дерматологической практике для лечения мелких травм, хронических язв кожных покровов, пролежней, обширных ожогов, пеленочного дерматита и др. В исследованиях зарубежных ученых показано уменьшение размеров эпидермальных ран, обработанных эмульсией декспантенола, а так же ускоренная регенерация как эластичных, так и плотных тканей в зоне заживления. Декспантенол оказался эффективным для стимуляции процесса заживления, отмечена сохранность базальной мембраны и слизистой оболочки, подавление пролиферации воспалительных клеток, снижение уровня маркера перекисного окисления липидов – малонового диальдегида [25,26]. Подлинность декспантенола определяют методом ИК-спектроскопии, количественное определение осуществляют химическим путём с помощью хлорной кислоты [27].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценка совместимости компонентов разработанного оригинального геля на основе хитозана,

содержащего таурин и декспантенол, при помощи метода ИК-спектроскопии.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

При проведении работы для изготовления и последующих исследований геля на основе хитозана, содержащего таурин и декспантенол, использованы фармацевтические субстанции:

– хитозан, производства Sigma-Aldrich, Япония, высоковязкий из панцирей краба, со степенью деацетилирования 80%, порошок в форме чешуек, CAS №9012-76-4;

– таурин, производства ЗАО Вектон, Россия, белый кристаллический порошок или бесцветные кристаллы, 99%, CAS №107-35-7;

– декспантенол, производства ЗАО Вектон, Россия, гель, +98%, CAS №81-13-0.

ИК-спектроскопию проводили на оборудовании Vertex 70, ИК-спектрометр с Фурье-преобразователем (Bruker Optik GmbH, Германия), в диапазоне 4000-1000 см^{-1} , с последующей обработкой полученных ИК-спектров поглощения веществ по отдельности и в смеси программами OMNIC 7 и Origin 8.1 для идентификации полученных спектров по базе данных.

Образец геля на основе хитозана с декспантенолом и таурином (далее по тексту и на графиках – ХТД) предварительно высушивали для удаления воды, входящие с состав отдельные компоненты геля (хитозан, таурин, декспантенол) подвергали измерению без предварительной пробоподготовки. Используя программу OMNIC 7 производили идентификацию полученных спектров по базе данных. Экспериментальные исследования методом ИК-спектроскопии проведены на оборудовании научно-технической базы ЦКПНО ВГУ.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Проведена фармацевтическая разработка оригинального геля на основе хитозана, содержащего таурин и декспантенол, состав геля: хитозан 1%, таурин 4%, декспантенол 0.43%, уксусная кислота 0.25%, $\text{pH}=5.27\pm 0.022$. Гель является прозрачным бесцветным без твердых инородных включений, стабильный при хранении при комнатной температуре в течение 8 месяцев. Разработанный гель может быть использован для приема внутрь или для наружного применения.

Оценка совместимости компонентов разработанного геля на основе хитозана, содержащего таурин и декспантенол, проведена при помощи метода ИК-спектроскопии, ИК-спектры хитозана,

таурина, декспантенола и их смеси ХТД представлены на графиках (рис.1-5).

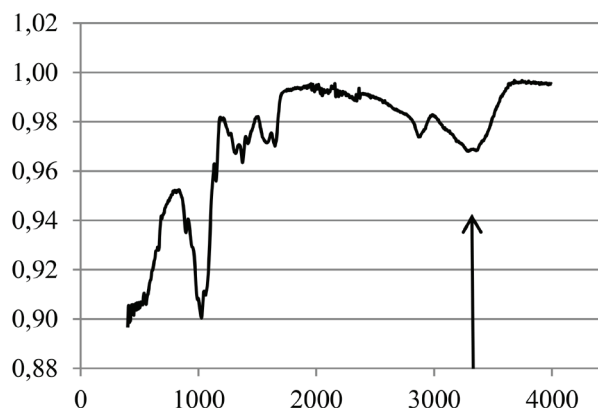


Рис.1. ИК-спектр хитозана

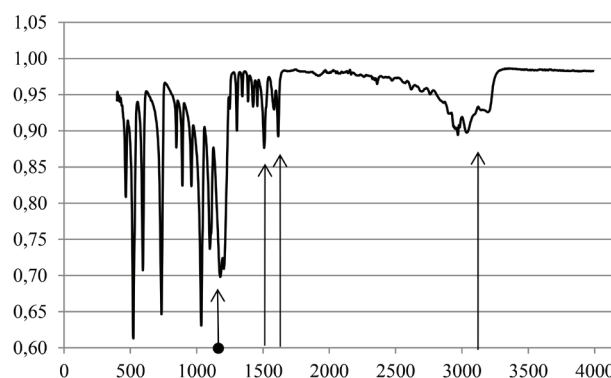


Рис.2. ИК-спектр таурина

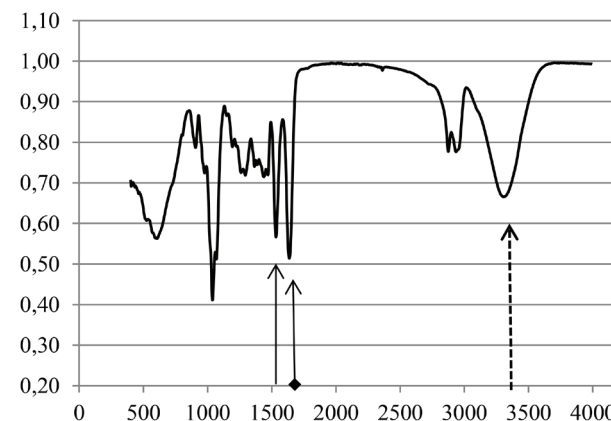


Рис.3. ИК-спектр декспантенола

Установлено, что ИК-спектры субстанции таурина (рис. 2) содержат характеристические полосы поглощения: 3130-3030 см^{-1} , 1660-1610 см^{-1} , 1550-1485 см^{-1} отвечающие валентным колебаниям аминогруппы, 1207 см^{-1} сульфогруппе. При анализе субстанции декспантенола (рис. 3) обнаружены полосы поглощения 3550-3200 см^{-1} , что вызвано колебанием связи гидроксильной группы, 1680 см^{-1} отвечающие валентным колебанием связи карбонильного фрагмента в составе

карбамидной группы, 1544 см^{-1} отвечающие валентным колебанием связи N-H вторичной карбамидной группы. В ИК-спектре хитозана (рис. 1) наблюдаются характеристические полосы поглощения, отвечающие валентным колебаниям первичной аминогруппы в области $3400\text{--}3300\text{ см}^{-1}$. В ИК-спектре смеси ХДТ (рис. 4, рис. 5) выявлено существование всех полос поглощения хитозана, таурина и декспантенола и отсутствие новых полос поглощения характерных для ковалентных связей, вероятность образования которых существовала при совместном присутствии компонентов. Незначительные смещения характеристических полос поглощения в смеси ХДТ в сравнении с исследуемыми субстанциями, указывают на образование слабых, легко разрушаемых комплексов таурин-декспантенол-хитозан, с участием молекул воды.

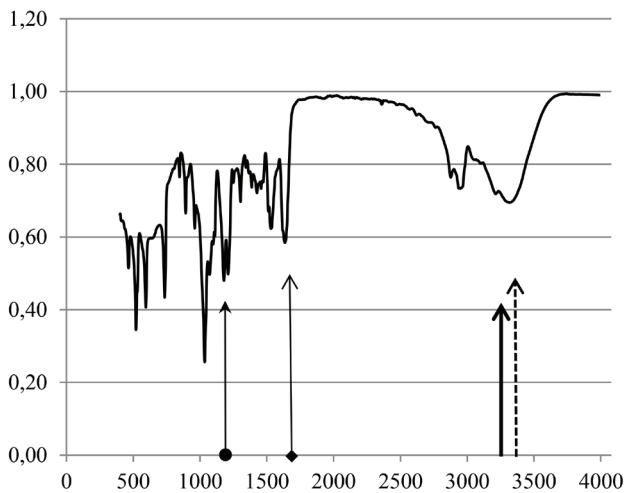


Рис. 4. ИК-спектр смеси хитозан, декспантенол, таурин (ХДТ)

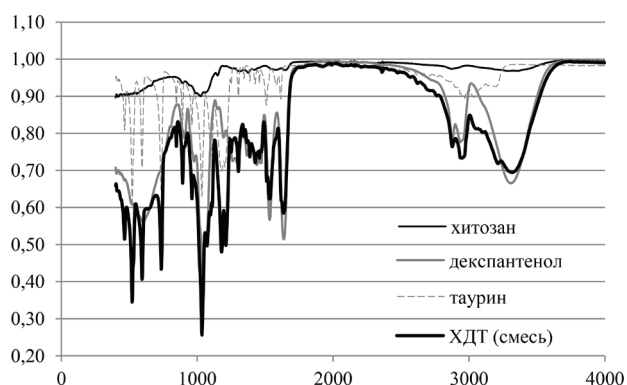


Рис. 5. ИК-спектр хитозана, таурина, декспантенола и их смеси (ХДТ)

Таким образом, данные ИК-спектроскопии свидетельствуют о перспективности дальнейшей фармацевтической разработки геля на основе хитозана, содержащего таурин и декспантенол и не-

обходимости обоснования возможности его местного наружного или перорального применения для лечения различных заболеваний.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Согласно данным ИК-спектроскопии хитозана, таурина, декспантенола и их смеси установлено, что характеристические полосы поглощения, отвечающие валентным колебаниям карбонильного фрагмента в составе карбамидной группы в молекуле декспантенола, сульфогруппы в молекуле таурина, аминогруппы в молекуле хитозана присутствуют в их смеси, при этом в смеси не наблюдается новых полос поглощения, что свидетельствует об отсутствии ковалентного связывания молекул таурина, декспантенола с макромолекулами хитозана и подтверждает возможность их совместного включения в состав лекарственной формы гель.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бирик Е. Е. Реология дисперсных систем. Ленинград, изд-во Ленинградского университета, 1981, 172 с.
2. Шрамм Г. Основы практической реологии и реометрии. Москва, КолосС, 2003, 312 с.
3. Анурова М.Н., Бахрушина Е.О., Демина Н.Б. // Фармация. 2016. № 6. С. 30–34.
4. Satyanarayana D.A., Kulkarni P.K., Shivakumar H.G. // Current Drug Therapy. 2011. Vol. 6. №2. pp. 79–86.
5. Скрыбина К.Г., Вихоревой Г.А., Варламова В.П. Хитин и хитозан: получение, свойства и применение. Москва, Наука, 2002, 368 с.
6. Arai K., Kinumaki T., Fujita T. // Bulletin Of Tokai Regional Fisheries Research Laboratory. 1968. Vol. 56, pp. 89-94.
7. Sonaje K., Lin Y.H., Juang J.H., Wey S.P., Chen C.T., Sung H.W. // Biomaterials. 2009. Vol. 30, pp. 2329-2339.
8. Jin Y., Ling P.X., He Y.L., Zhang T.M. // Burns. 2007. Vol. 33, pp. 1027–1031.
9. Buzlama A.V., Doba S.H., Slivkin A., Dagher S.R. // Research J. Pharm. and Tech. 2020. Vol. 13, №2, pp. 1043-1049.
10. Федосов П.А., Николаевский В.А., Чернов Ю. Н., Бузлама А. В., Сливкин А.И., Провоторова С. И. // Научный результат. 2017. Т. 3. №2. С.14-28.
11. Friedman A.J., Phan J., Schairer D.O., Champer J., Qin M., Pirouz A., Blecher-Paz K., Oren A., Liu P.T., Modlin R.L., Kim. J. // The Journal of Investigative Dermatology. 2013. Vol. 133, pp. 1231-1239.

12. Ozcelik E., Uslu S., Erkasap N., Karimi H. // The Kaohsiung Journal of Medical Sciences. 2014. Vol.30, №6, pp. 286-290.
13. Xie W., Xu P., Liu Q. // Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. 2001. Vol.11, №13, pp. 1699–1701.
14. Bacon A., Makin J., Sizer P.J., Jabbal-Gill I., Hinchcliffe M., Illum L., Chatfield S., Roberts M. // Infection and Immunity. 2000. Vol. 68, №10, pp. 5764-5770.
15. Preuss H.G., Kaats G.R. // Current Nutrition & Food Science. 2006. Vol.2, №3, pp.297-311.
16. Frederic Z., Laurent B., Maria J. A., Christian M., Evelyne L., Michel G. // Marine Biotechnology. 2001. Vol. 3. pp. 36–44.
17. Mohamed E.I.B. // International Journal of Carbohydrate Chemistry. 2012. p. 7.
18. Jörg N., Hans J.A., Tim M., Helga M. // Carbohydrate Research. 2011. Vol. 346(11). pp.1307-1310.
19. Нефёдов Л.И. Таурин (биохимия, фармакология и медицинское применение). Беларусь - Гродно, ГОУПП «Гродненская типография», 1999, 159 с.
20. Stephen S., Ha W.K. // Biomolecules & Therapeutics. 2018. Vol. 26(3). pp. 225-241.
21. Janusz M., Ewa K. // Amino Acids. 2014. Vol. 46. pp. 7–20.
22. Shetewy A., Shimada T.K, Warner D., Jong C.J., Mehdi A.B., Alexeyev M., Takahashi K., Schaffer S.W. // Molecular and Cellular Biochemistry. 2016. Vol. 416 (1-2). pp. 11-22.
23. Sun Q., Wang B., Li Y., Sun F., Li P., Xia W., Zhou X., Li Q., Wang X., Chen J., Zeng X., Zhao Z., He H., Liu D., Zhu Z. // Hypertension. 2016. Vol. 67. pp. 541–549.
24. Wang Y.H., Liu H.Y., Qi F.S.H., Zhong W.F., Zhang H., Li I. // "Determination of free amino acids and taurine in Sinonova- culaconstricta with 2,4-dinitrochlorobenzene precolum. derivatization", Proceedings of the International conference on new technology of agricultural engineering, May 27-29, 2011. Zibo, 2011, pp. 1030-1033.
25. Pugliese P.T., Farina J.C., Chautems Y. // Nouvelles dermatologiques. 1995. Vol. 14, pp. 130-138.
26. Omer B., Ilker S., Mehmet S., Metin K., Sakip M.E., Faruk Y. // Urology. 2012. Vol.79(5), pp.1023-1026.
27. British Pharmacopoeia 2009, Vol. I & II. London, The Stationery Office, 2009, 1828-1830 p.

Воронежский государственный университет
Бузлама А. В., доктор медицинских наук, заведующий кафедрой фармакологии и клинической фармакологии
E-mail: buzlama@pharm.vsu.ru

* Доба С. Х., аспирант кафедры фармакологии и клинической фармакологии
E-mail: silversleman23@gmail.com

Университет Дамаска
Аль-мардини М. А., доктор фармацевтических наук, профессор, кафедра фармацевтической химии и контроля качества лекарственных средств
E-mail: amer.mardini@damasuniv.edu.sy

Университет Манары
Харун М., доктор фармацевтических наук, профессор, кафедра фармацевтической химии и контроля качества лекарственных средств
E-mail: mohamed.haroun@manara.edu.sy

Voronezh State University
Buzlama A. V., M.D., DSci., Head of the Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology
E-mail: buzlama@pharm.vsu.ru

* Doba S. H., post-graduated student, Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology
E-mail: silversleman23@gmail.com

Damascus University
Almardini M. A., PhD., Full Professor, department of Pharmaceutical Chemistry and drugs quality control
E-mail: amer.mardini@damasuniv.edu.sy

Manara university
Haroun M., PhD., Full Professor, department of pharmaceutical chemistry and drugs quality control
E-mail: mohamed.haroun@manara.edu.sy

ASSESSMENT OF COMPATIBILITY OF GEL COMPONENTS BASED ON CHITOSAN CONTAINING TAURINE AND DEXPANTHENOL BY IR SPECTROSCOPY

A. V. Buzlama¹, S. H. Doba¹, M. Haroun², M. A. Almardini³

¹FSBEI of HE "Voronezh State University"

²Manara University

³Damascus University

Abstract. The article is devoted to the assessment of the compatibility of the components of a gel based on chitosan containing taurine and dexpanthenol, intended for internal or external use, using the method of IR spectroscopy. The dosage form of the gel was chosen because it's easy to use, when it gets on the skin or clothes, it's easily washed off with water, leaving no residue, compared to ointments, it's well absorbed, which increases their effectiveness, it's able to form a thin film on the treated surface, provides protection against microbial contamination, prolongs the effect of medicinal substances, exhibits a moisturizing effect, which characterizes the advantages of gels for external treatment of skin lesions, as well as various gastrointestinal diseases when taken orally.

An original gel based on chitosan, containing taurine and Dexpanthenol was developed. The composition of the developed gel is: chitosan 1%, taurine 4%, dexpanthenol 0.43%, acetic acid 0.25%. The gel is transparent, colorless without solid foreign inclusions, stable when stored at room temperature for 10 months.

A sample of a gel based on chitosan with dexpanthenol and taurine was preliminarily dried to remove water; the individual components of the gel (chitosan, taurine, dexpanthenol) included in the composition were measured without preliminary sample preparation, and then the obtained IR spectra were compared.

It was found that according to the IR spectra of chitosan, taurine, and dexpanthenol and their mixtures, the characteristic absorption bands corresponding to stretching vibrations of the primary amino group in the region of 3400-3300 cm⁻¹ in the chitosan molecule, the amino group in the region of 3130-3030 cm⁻¹ and the sulfo group in the region 1207 cm⁻¹ in the taurine molecule, absorption bands in the region of 1680 cm⁻¹ corresponding to the stretching vibrations of the bond of the carbonyl fragment in the composition of the carbamide group in the dexpanthenol molecule, are present in their mixture, and the absence of new absorption bands indicates that these groups do not participate in covalent binding and confirms the possibility of their joint inclusion in the composition of the dosage form gel.

Keywords: Chitosan, Taurine, Dexpanthenol, gel, pharmaceutical development, IR spectroscopy

REFERENCES

1. Bibik E. E. Rheology of dispersion systems. Leningrad, University of Leningrad, 1981, 172 p.
2. Shramm G. Basics of Practical Rheology and Rheometria. Moscow, Kolos-S, 2003, 312 p.
3. Anurova M.N., Bakhrushina E.O., Demina N.B. Pharmacy, 2016, No.6, pp. 30-34.
4. Satyanarayana D.A., Kulkarni P.K., Shivakumar H.G., Current Drug Therapy, 2011, Vol. 6, No. 2, pp. 79–86. DOI: 10.2174/157488511795304921
5. Skryabina K.G., Vikhorevoi G.A., Varlamova V.P. Chitin and chitosan: production, properties and application. Moscow, Nauka Publ., 2002, 368 p.
6. Arai K., Kinumaki T., Fujita T., Bulletin Of Tokai Regional Fisheries Research Laboratory. 1968, Vol. 56, pp. 89-94.
7. Sonaje K., Lin Y.H., Juang J.H., Wey S.P., Chen C.T., Sung H.W., Biomaterials, 2009, Vol. 30, pp. 2329-2339.
8. Jin Y., Ling P.X., He Y.L., Zhang T.M., Burns, 2007, Vol. 33, pp. 1027–1031. DOI: 10.1016/j.burns.2006.12.002
9. Buzlama A.V., Doba S.H., Slivkin A., Dagher S.R., Research J. Pharm. and Tech. 2020, Vol. 13, No.2, pp. 1043-1049. DOI: 10.5958/0974-360X.2020.00192.4.
10. Fedosov P.A., Nikolaevsky V. A., Chernov Y.N., Buzlama A.V., Slivkin A.I., Provotorova S.I., Research Results in Pharmacology, 2017, Vol.3, No. 2, pp. 14-28.
11. Friedman A.J., Phan J., Schairer D.O., Champer J., Qin M., Pirouz A., Blecher-Paz K., Oren A., Liu P.T., Modlin R.L., Kim. J., The Journal of Investigative Dermatology, 2013, Vol. 133, pp. 1231-1239. DOI: 10.1038/jid.2012.399.
12. Ozcelik E., Uslu S., Erkasap N., Karimi H., The Kaohsiung Journal of Medical Sciences, 2014, Vol.30, No.6, pp. 286-290.

13. Xie W., Xu P., Liu Q., *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2001, Vol.11, No.13, pp. 1699–1701. DOI: 10.1016/s0960-894x(01)00285-2.
14. Bacon A., Makin J., Sizer P.J., Jabbal-Gill I., Hinchcliffe M., Illum L., Chatfield S., Roberts M., *Infection and Immunity*, 2000, Vol. 68, No.10, pp. 5764-5770. DOI: 10.1128/iai.68.10.5764-5770.2000.
15. Preuss H.G., Kaats G.R., *Current Nutrition & Food Science*, 2006, Vol.2, No.3, pp.297-311. DOI: 10.2174/157340106778017869.
16. Frederic Z., Laurent B., Maria J. A., Christian M., Evelyne L., Michel G. *Marine Biotechnology*, 2001, Vol. 3, pp. 36–44. DOI: 10.1007/s101260000042.
17. Mohamed E.I.B., *International Journal of Carbohydrate Chemistry*, 2012, p. 7. DOI : 10.1155/2012/139328
18. Jörg N., Hans J.A., Tim M., Helga M., *Carbohydrate Research*, 2011, Vol. 346(11), pp.1307-1310. DOI: 10.1016/j.carres.2011.03.040.
19. Nefedov L.I. *Taurin (biokhimiya, farmakologiya i meditsinskoe primenenie)*. Belarus - Grodno, GOUPP «Grodno Printing House», 1999, 159 с.
20. Stephen S., Ha W.K., *Biomolecules & Therapeutics*, 2018, Vol. 26(3), pp. 225-241. DOI : 10.4062/biomolther.2017.251
21. Janusz M., Ewa K., *Amino Acids*, 2014, Vol.46, pp. 7–20. DOI : 10.1007/s00726-012-1361-4.
22. Shetewy A., Shimada T.K, Warner D., Jong C.J., Mehdi A.B., Alexeyev M., Takahashi K., Schaffer S.W., *Molecular and Cellular Biochemistry*, 2016, Vol. 416(1-2), pp. 11-22. DOI: 10.1007/s11010-016-2688-z
23. Sun Q., Wang B., Li Y., Sun F., Li P., Xia W., Zhou X., Li Q., Wang X., Chen J., Zeng X., Zhao Z., He H., Liu D., Zhu Z., *Hypertension*, 2016, Vol. 67, pp. 541–549. DOI : 10.1161/Hypertensionaha.115.06624.
24. Wang Y.H., Liu H.Y., Qi F.S.H., Zhong W.F., Zhang H., Li L., "Determination of free amino acids and taurine in *Sinonova-culaconstricta* with 2,4-dinitrochlorobenzene precolumn derivatization", *Proceedings of the International conference on new technology of agricultural engineering*, May 27-29, 2011. Zibo, 2011, pp. 1030-1033. DOI: 10.1109/ICAE.2011.5943964
25. Pugliese P.T., Farina J.C., Chautems Y., *Nouvelles dermatologiques*, 1995, Vol.14, pp.130-138.
26. Omer B., Ilker S., Mehmet S., Metin K., Sakip M.E., Faruk Y., *Urology*, 2012, Vol. 79 (5), pp.1023-1026. DOI: 10.1016/j.urology.2012.01.025.
27. *British Pharmacopoeia 2009 Volume I & II*. London, The Stationery Office, 2009, 1828-1830 p.