

ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ДУБИЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ В ЛИСТЬЯХ РЯБИНЫ ЧЕРНОПЛОДНОЙ

О. В. Пугачева, О. Л. Свиридова, Т. А. Брежнева, А. И. Сливкин

ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет»

Поступила в редакцию 08.11.2021 г.

Аннотация. Арония Мичурина, более известная как рябина черноплодная, широко культивируется в нашей стране. Она представляет собой гибрид аронии черноплодной и рябины обыкновенной, выведенный И.В. Мичуриным в прошлом веке. Плоды ее хорошо изучены и используются в медицине в свежем и высушенном виде за счет высокого содержания антоцианов. Листья так же содержат большой перечень БАВ: флавоноиды, в том числе антоцианы, танины, аскорбиновую кислоту, сапонины. Достаточно высоко содержание в них дубильных веществ.

Дубильные вещества в растительном сырье могут быть определены различными методами: титриметрическими, спектрофотометрическими и т.д. По результатам исследований, которые проводились ранее, был сделан вывод, что оптимальной методикой количественного определения танинов в данном сырье является спектрофотометрическое определение в пересчете на (+)-катехин.

Целью исследования являлась апробация и валидация методики количественного определения дубильных веществ в листьях рябины черноплодной.

В качестве объекта исследования использовали высушенные листья рябины черноплодной. Собранные они были ранней осенью в период плодоношения растения в Воронежской области в 2019 году, сушка воздушно-тенева.

Содержание дубильных веществ в исследуемых листьях составило $10.61\% \pm 0.18\%$. Методика была валидирована по следующим показателям: специфичность, правильность, сходимость, внутрिलाбораторная прецизионность и линейность.

Все валидационные характеристики находятся в пределах критериев приемлемости. При добавлении раствора стандартного образца к извлечению спектр имел значительное увеличение максимума поглощения, что подтвердило специфичность методики. При определении правильности средний процент открываемости для трех добавленных концентраций (+)-катехина составил $101.42\% \pm 2.63\%$, что входит в предел $100\% \pm 5\%$. Используемая методика линейна, так как рассчитанный коэффициент корреляции $r \geq 0.99$. Стандартное отклонение при определении сходимости составило 1.59% , что не превышает 2% . При исследовании внутрिलाбораторной прецизионности стандартное отклонение так же входило в норму, не превышая 5% и составляло 4.93% .

На основании описанных выше результатов было доказано, что методика определения дубильных веществ валидна по вышеперечисленным показателям и может использоваться для определения дубильных веществ в листьях рябины черноплодной.

Ключевые слова: арония Мичурина, рябина черноплодная, спектрофотометрия, валидация, дубильные вещества, катехин

Род Арония (*Aronia Med.*) включает в себя ветвящиеся кустарники родом из Северной Америки. К данному роду принадлежат виды: Арония черноплодная (*Aronia Melanocarpa (Michx.) Elliott*) с черными плодами, Арония древовидная (*A. arbutifolia (L.) Pers.*) с красными плодами, их природный гибрид Арония сливолистная (*A.*

prunifolia (Marshall) Rehder) с пурпурными плодами и искусственно выведенный вид Арония Мичурина (*A. mitschurinii Skvortsov & Maitulina*) [1, 2, 3, 4].

Арония Мичурина (*Aronia mitschurinii Skvortsov & Maitulina*), известная в народе как рябина черноплодная, является ценным плодово-ягодным растением с большим перечнем биологически активных веществ (БАВ). Ошибоч-

но ее называют Аронией черноплодной (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott). Этот вид был искусственно выведен И.В. Мичуриным из семян Аронии черноплодной путем скрещивания с близкородственными растениями, предположительно с рябиной обыкновенной. В итоге получилось растение с более крупными соцветиями, плодами, широкой и раскидистой кроной. Арония Мичурина более пригодна для климатических условий средней полосы России – выдерживает понижения температуры до минус 40°C. [1, 2]

Принадлежность рябины черноплодной к отдельному виду подтверждается не только по фенотипическим признакам. Ряд исследований показывает присутствие в ее генотипе участков, характерных как для рода *Aronia*, так и для рода *Sorbus* [3, 4].

Плоды данного растения широко изучены. В Государственную фармакопею включены две фармакопейные статьи – на свежие и высушенные плоды аронии черноплодной, стандартизация которых ведется по содержанию антоцианов. Однако в нашей стране этот вид аронии не произрастает, поэтому вероятнее всего все литературные данные и требования ГФ касаются плодов аронии Мичурина [5].

Нормативной документации на листья рябины черноплодной в настоящее время не разработано. На данный момент исследования показывают, что листья содержат в своем составе вещества в основном полифенольной природы: флавоноиды, в том числе антоцианы в лейко-формах, дубильные вещества, а так же аскорбиновую кислоту и спирторастворимые сапонины [6-13].

Надо отметить, что в листьях было обнаружено достаточно высокое содержание дубильных веществ. Дубильные вещества известны своим вяжущим, противовоспалительным, противомикробным и кровоостанавливающим действием. В медицинской практике они применяются при заболеваниях полости рта и горла (при стоматите, гингивите, фарингите и т.д.), для лечения язв, ран, ожогов, а также при воспалениях желудочно-кишечного тракта (при диспепсиях, энтеритах, энтероколитах) и т.д. [6, 14, 15]. По причине высокого содержания танинов листья рябины черноплодной являются перспективным источником данной группы БАВ, поэтому нами было решено провести валидацию методики их количественного определения.

Дубильные вещества могут присутствовать в растениях в двух формах – конденсированные и гидролизуемые танины. Обычно в растительном

сырье присутствуют обе группы с преобладанием одной из них [15, 16].

В растительном сырье определение количества танинов может проводиться различными методами. В соответствии с требованиями ГФ РФ XIV для этих целей могут использоваться титриметрический метод в пересчете на танин, а так же спектрофотометрический метод в пересчете на пирогаллол или катехин [5, 17].

Согласно данным ГФ XIV по содержанию дубильных веществ стандартизируют корневища бадана толстолистного (не менее 20%), кору дуба (не менее 7%), корневища змеевика (не менее 15%), корневища и корни кровохлебки (не менее 14%), корневища лапчатки прямостоячей (не менее 20%) и плоды черемухи обыкновенной (не менее 1,7%) [7]. Кроме того, к растительному сырью, богатому данной группой БАВ относятся листья скумпии (не менее 15%) и листья сумача (не менее 15%) [14]. Для всех перечисленных видов сырья определение дубильных веществ проводится титриметрическим методом в пересчете на танин. Данный метод является неселективным и дает завышенные результаты, так как окислению подвергаются не только танины, но и другие вещества фенольной природы [6, 17].

Целью исследования являлись апробация и валидация методики количественного определения дубильных веществ в листьях рябины черноплодной.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

В качестве объекта исследования использовали высушенные листья Аронии Мичурина, заготовленные от культивируемого растения в Воронежской области в 2019 году ранней осенью в период плодоношения. Содержание влаги предварительно определяли в соответствии с требованиями ОФС.1.5.3.0007.15 ГФ XIV; влагосодержание составляло 9.38%, сушка воздушно-тенева.

В качестве стандарта использовали (+)-катехин гидрат (Aldrich, Германия, степень чистоты $\geq 96\%$).

Для количественного определения дубильных веществ в листьях рябины черноплодной использовали спектрофотометрическую методику, приведенную в ОФС.1.5.3.0008.18 «Определение содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» с небольшими модификациями. Определение проводили на спектрофотометре СФ-2000 (Россия) при длине волны 280 ± 2 нм.

Валидацию методики проводили в соответствии с ОФС.1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик» по показателям специфичности, правильности, линейности, внутрिलाбораторной прецизионности [5].

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

На основании результатов проведенных ранее исследований было показано, что оптимальной методикой количественного определения танинов в листьях рябины черноплодной, является фармакопейная спектрофотометрическая методика в пересчете на катехин. Преимущественное преобладание дубильных веществ конденсированной группы было подтверждено как качественными, так и количественными методиками [6, 9, 10].

Основные метрологические характеристики методики представлены в таблице 1.

Специфичность можно считать доказанной, так как при добавлении раствора стандартного образца (СО) (+)-катехин спектр имеет значительное увеличение максимума поглощения (рис. 1) [18].

Правильность методики определяли методом добавок стандартного образца (+)-катехина. К аликвоте полученного извлечения прибавляли по 0,5, 1,0 и 1,5 мл 0,1% раствора СО в трех повторениях. Полученные модельные смеси анализировали по выбранной методике. Результаты определения правильности методики приведены в таблице 2. Критерием приемлемости по показателю правильности является открываемость, которая должна находиться в пределах $100\% \pm 5\%$ [19, 20].

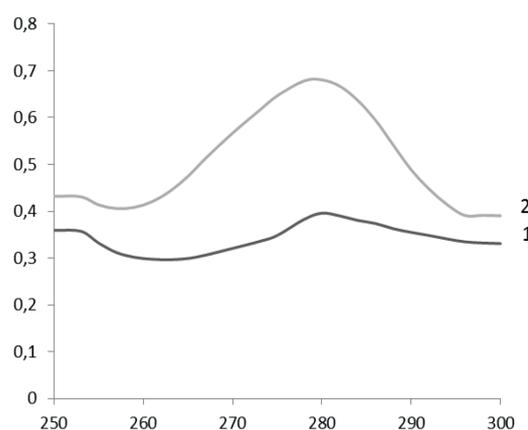


Рис. 1. Вид спектра поглощения извлечения из листьев рябины черноплодной: 1 – без добавки СО катехина, 2 – с добавкой СО катехина

Согласно табличным данным, средний процент открываемости для трех добавленных концентраций (+)-катехина составляет $101.42\% \pm 2.63\%$.

Для подтверждения линейности методики отбирали 8 аликвот в пределах от 70% до 130% от номинального значения. Схема приготовления растворов для проведения анализа представлена в таблице 3.

График зависимости оптической плотности от содержания дубильных веществ в пересчете на (+)-катехин в извлечениях из листьев рябины черноплодной имеет линейный характер (рис. 2).

Валидационные характеристики определения линейности методики приведены в таблице 4.

Так как коэффициент корреляции $r \geq 0.99$, подтверждается наличие линейной зависимости оптической плотности от концентрации дубильных веществ в листьях рябины черноплодной [5, 18].

Таблица 1

Метрологические характеристики спектрофотометрического определения дубильных веществ в листьях рябины черноплодной в пересчете на (+) катехин ($P=95\%$, $t(P, f)=2,57$)

$x', \%$	n	f	s^2	s	s'_0	S, %	Δx	$\Delta x'$	$\epsilon', \%$
10.61	6	5	0.0286	0.1690	0.0690	0.6501	0.43	0.18	1.67

Таблица 2

Результаты определения правильности методики количественного определения дубильных веществ в листьях рябины черноплодной

Содержание дубильных веществ в извлечении, мг/мл	Введено безводного (+)-катехина, мг/мл	Рассчитанное количество, мг/мл	Найдено, мг/мл	Открываемость, %
0.900	0.500	1.400	1.460	104.34
		1.400	1.449	103.52
		1.400	1.446	103.34
	1.000	1.900	1.976	104.04
		1.900	1.878	98.85
		1.900	1.977	104.09
	1.500	2.400	2.283	95.12
		2.400	2.339	97.48
		2.400	2.410	100.42

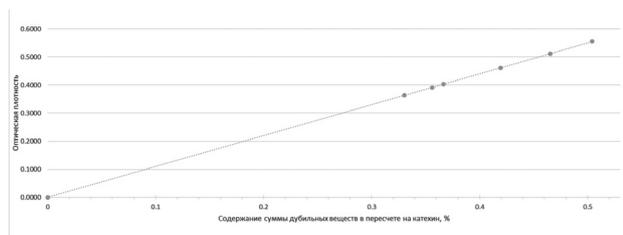


Рис. 2. График линейной зависимости оптической плотности от содержания дубильных веществ в пересчете на (+)-катехин

Таблица 3

Схема приготовления растворов различных концентрация для определения линейности методики

Уровень концентрации	Объем аликвоты, мл	Объем разведения, мл
70%	0.7	25
80%	0.8	25
90%	0.9	25
100%	1.0	25
110%	1.1	25
120%	1.2	25
130%	1.3	25

Таблица 4

Валидационные характеристики линейности методики определения дубильных веществ в листьях рябины черноплодной

Статистическая характеристика	Результаты
Уравнение прямой	$y=1.1001x$
Угловой коэффициент (a)	1.1001
Свободный член b	0
Коэффициент корреляции	0.9999

Показатель сходимости методики определяли выполнением 6 параллельных определений в одних условиях одним исследователем на одном оборудовании. Результаты приведены в таблице 5. Относительное стандартное отклонение не превысило 2% [18-20].

Таблица 5

Результаты оценки сходимости методики количественного определения дубильных веществ в листьях рябины черноплодной

№ опыта	Содержание суммы дубильных веществ в пересчете на (+)-катехин, %
1	10.34
2	10.64
3	10.73
4	10.48
5	10.78
6	10.70
Доверительный интервал (P=95%), %	10.61±0.18
Относительное стандартное отклонение, %	1.59

Определение межлабораторной прецизионности рассматриваемой методики проводили два разных исполнителя, выполняя по 6 измерений каждый. Результаты представлены в таблице 6. Относительное стандартное отклонение не превышает 5% [21].

Таблица 6

Результаты оценки межлабораторной прецизионности методики количественного определения дубильных веществ в листьях рябины черноплодной

№ опыта	Содержание суммы дубильных веществ в пересчете на (+)-катехин, %	
	Исследователь 1	Исследователь 2
1	9.50	10.34
2	9.87	10.64
3	10.09	10.73
4	9.57	10.48
5	10.01	10.78
6	9.50	10.70
Доверительный интервал (P=95%), %	10.18±0.45	
Относительное стандартное отклонение, %	4.93	

Исходя из результатов проведенных анализов методика валидна и может использоваться для определения дубильных веществ в листьях рябины черноплодной.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведена апробация и валидация спектрофотометрической методики определения дубильных веществ в листьях рябины черноплодной.

В результате использования модифицированной фармакопейной методики установлено, что содержание дубильных веществ в листьях составляет $10.61\% \pm 0.18\%$.

Использованная нами спектрофотометрическая методика селективна по отношению к дубильным веществам. Таким образом содержание танинов в листьях рябины черноплодной сопоставимо с таковым в фармакопейных видах сырья, а в ряде случаев и превышает это содержание (кора дуба, плоды черемухи обыкновенной).

Методика валидирована по показателям: специфичность, правильность, сходимость, воспроизводимость и линейность и может использоваться для определения дубильных веществ в листьях рябины черноплодной.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Куклина А.Г. // Лесохозяйственная информация. 2015. №2. С. 46-56.

2. Дейнека В.И., Третьяков М.Ю., Олейниц Е.Ю, Павлов А.А., Дейнека Л.А., Блинова И.П., Манохина Л.А // Химия растительного сырья, 2019. №2. С.161-167.
3. Peter J. Leonard, Mark H. Brand, Bryan A. Connolly, Samuel G. Obae // HortScience. 2019. №48 (5). pp. 520-524.
4. Mark H. Brand, Bryan A. Connolly, Lanfang H. Levine, Jeffrey T. Richards, Stacey M. Shine, Lashelle E. Spencer // Scientia Horticulturae. 2017. Vol. 224. pp. 332-342
5. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV издание. Режим доступа: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php> (дата обращения 10.02.2021).
6. Пугачева О.В., Брежнева Т.А., Сливкин А.И. // «Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения», сборник трудов седьмой научной конференции, Москва, 2019, с.292-298
7. Пугачева О.В., Брежнева Т.А., Сливкин А.И. // Инновационное развитие экономики : материалы второго Крымского инновационного форума, июнь-сентябрь 2020 г., Симферополь, 2020, с.96-98
8. Пугачева О.В., Брежнева Т.А., Сливкин А.И. // «Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения». Сборник научных трудов Международной научной конференции, Москва, 2020, с.256-259
9. Недолужко Е.И., Брежнева Т.А., Логвинова Е.Е., Мальцева А.А., Сливкин А.И. // Университетская наука: взгляд в будущее. Сборник научных трудов по материалам Международной научной конференции, посвященной 83-летию Курского государственного медицинского университета 2 февраля 2018 года, Курск, 2018, том 2, с. 74-77.
10. Брежнева Т.А., Недолужко Е.И., Логвинова Е.Е., Гудкова А.А., Сливкин А.И. // Вестник ВГУ, серия: Химия. Биология. Фармация. 2018. №2. С. 306-311.
11. Логвинова Е. Е., Брежнева Т. А., Сливкин А. И., Недолужко Е. И. // Вестник ВГУ, серия: Химия. Биология. Фармация. 2016. №4. С. 142-146
12. Aleksandra Cvetanović Gökhan Zengin, Zoran Zeković, Jaroslava Švarc-Gajić, Slavica Ražić, Ana Damjanović, Pavle Mašković, Milan Mitić // Food and Chemical Toxicology. 2018. Vol. 121 pp. 458-466.
13. Ji Eun Lee, Gon-Sup Kim, Semin Park Yun-Hi Kim, Man-Bae Kim, Won Sup Lee, Sung Woo Jeong, Soo Jung Lee, Jong Sung Jin, Sung Chul Shin // Food Chemistry. 2014. Vol. 146. pp. 1-5
14. Куркин В.А. Фармакогнозия: учебник для студентов фармацевтических вузов (факультетов). Самара, ООО «Офорт»; ГОУ ВПО «СамГМУ», 2007, 1239 с.
15. Иванов В.В., Денисенко О.Н. // Современные проблемы науки и образования. 2014. № 6 Режим доступа: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=16511> (дата обращения: 27.04.2021).
16. Алехина Е.А., Ефремов А.Н., Емельянова О.А. // Химия растительного сырья. 2018. №3. С. 179-184.
17. Хисьямова Д.М. Автореф. дис. на соиск. учен. степ. канд. фармацевт. наук. Самара, 2017. – 24 с.
18. Тринеева О.В., Казьмина М.А., Сливкин А.И. // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2017. №1. С.138-143.
19. Дроздова И.Л., Лупилина Т.И. // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». 2016. №1. С.106-112
20. Чистякова А. С., Гудкова А. А., Тринеева О. В., Сорокина А. А., Васильева С. А. // Химия растительного сырья, 2020. № 3. С. 155-162.
21. Кутателадзе Г.Р., Федосеева Л.М. // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2019. Т.8. №2. С. 80-86

ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет»

Пугачева О. В., аспирант 2-го года, преподаватель кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии

E-mail: pugachevaov1@yandex.ru

Свиридова О. Л., студентка 3 курса фармацевтического факультета

E-mail: olya.sviridova.1999@mail.ru

FGBOU HE "Voronezh State University"

Pugacheva O. V., post-graduate student, dept. of pharmaceutical chemistry and pharmaceutical technology

E-mail: pugachevaov1@yandex.ru

Sviridova O. L., student of 3rd course of pharmaceutical faculty

E-mail: Olya.sviridova.1999@mail.ru

Брежнева Т. А., доцент кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии
E-mail: t_brezhneva@mail.ru

Brezhneva T. A., PhD., Associate Professor, pharmaceutical chemistry and pharmaceutical technology dept.
e-mail: t_brezhneva@mail.ru

Сливкин А. И., д.ф.н., профессор, зав. кафедрой фармацевтической химии и фармацевтической технологии, декан фармацевтического факультета
E-mail: slivkin@pharm.vsu.ru

Slivkin A. I., PhD., DSci., Full Professor, department of pharmaceutical chemistry and pharmaceutical technology, dean of pharmaceutical faculty of VSU
E-mail: slivkin@pharm.vsu.ru

VALIDATION OF A METHOD FOR THE QUANTIFICATION OF TANNINS IN BLACK CHOKEBERRY LEAVES

O. V. Pugacheva, O. L. Sviridova, T. A. Brezhneva, A. I. Slivkin

Voronezh State University

Abstract. Aronia mitschurinii, better known as black chokeberry, is widely cultivated in our country. It is a hybrid of chokeberry and rowan, cultivated by I.V. Michurin in the last century. Its fruits are well researched and used in medicine in fresh and dried form due to high content of anthocyanins. Leaves also contain a large list of biologically active substances: flavonoids, including anthocyanins, tannins, ascorbic acid and saponins. Their tannins content is relatively high.

Tannins in herbal raw materials can be determined by different methods: titrimetric, spectrophotometric, etc. The purpose of this research was to validate the method of quantitative determination of tannins in black chokeberry leaves. In previous studies it was shown that the optimum method for quantitative determination of tannins in these raw materials is spectrophotometric determination in equivalent to (+)-catechin hydrate.

The green dried leaves of black chokeberry, collected in early autumn during the fruiting period, were used as an object of study. The content of tannins in the studied leaves was 10.61%±0.18%. The methodology has been validated on the following characteristics: specificity, accuracy, linearity, repeatability, intermediate precision.

All validation characteristics are within the acceptance criteria. The addition of a reference sample solution to the extraction shows a similar spectrum, confirming the specificity of the method. In determining the accuracy the average percentage of openness for the three added concentrations of (+)-catechin hydrate was 101.42%±2.63%, which is within the limit of 100%±5%. The methodology is linear, as the calculated correlation coefficient is $r \geq 0.99$. The standard deviation in determining repeatability was 1.59%, which is less than 2%. In a study of intermediate precision the standard deviation was also within the normal range, less than 5% and was equal to 4.93%.

Based on these results, it was proved that the methodology for the determination of tannins is valid for the above parameters and can be used to determine tannins in black chokeberry leaves.

Keywords: Aronia mitschurinii, black chokeberry, spectrophotometry, validation, tannins, catechin

REFERENCES

1. Kuklina A.G., Lesokhozyaistvennaya informatsiya, 2015, №2, S. 46-56.
2. Deineka V.I., Tret'yakov M.Yu., Oleinits E.Yu., Pavlov A.A., Deineka L.A., Blinova I.P., Manokhina L.A., Khimiya rastitel'nogo syr'ya, 2019, №2, S.161-167.
3. Peter J. Leonard, Mark H. Brand, Bryan A. Connolly, Samuel G. Obae, HortScience, 2019, №48 (5), pp. 520-524. DOI: 10.21273/HORTSCI.48.5.520
4. Mark H. Brand, Bryan A. Connolly, Lanfang H. Levine, Jeffrey T. Richards, Stacey M. Shine, Lashelle E. Spencer, Scientia Horticulturae, 2017, Vol. 224, pp. 332-342 DOI: 10.1016/j.scienta.2017.06.021
5. Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiiskoi Federatsii. XIV izdanie. Available at: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php> (accessed 10 February 2021).
6. Pugacheva O.V., Brezhneva T.A., Slivkin A.I., «Sovremennye tendentsii razvitiya tekhnologii

zdorov'esberezheniya», sbornik trudov sed'moi nauchnoi konferentsii, Moskva, 2019, s.292-298

7. Pugacheva O.V., Brezhneva T.A., Slivkin A.I., Innovatsionnoe razvitie ekonomiki : materialy vtorogo Krymskogo innovatsionnogo foruma, iyun'sentyabr' 2020 g., Simferopol', 2020, s.96-98

8. Pugacheva O.V., Brezhneva T.A., Slivkin A.I., «Sovremennye tendentsii razvitiya tekhnologii zdorov'esberezheniya». Sbornik nauchnykh trudov Mezhdunarodnoi nauchnoi konferentsii, Moskva, 2020, s.256-259

9. Nedoluzhko E.I., Brezhneva T.A., Logvinova E.E., Mal'tseva A.A., Slivkin A.I., Universitetskaya nauka: vzglyad v budushchee. Sbornik nauchnykh trudov po materialam Mezhdunarodnoi nauchnoi konferentsii, posvyashchennoi 83-letiyu Kurskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta 2 fevralya 2018 goda, Kursk, 2018, tom 2, s. 74-77.

10. Brezhneva T.A., Nedoluzhko E.I., Logvinova E.E., Gudkova A.A., Slivkin A.I., Vestnik VGU, seriya: Khimiya. Biologiya. Farmatsiya. 2018, №2, S. 306-311.

11. Logvinova E. E., Brezhneva T. A., Slivkin A. I., Nedoluzhko E. I., Vestnik VGU, seriya: Khimiya. Biologiya. Farmatsiya, 2016, №4, S. 142-146

12. Aleksandra Cvetanović Gökhan Zengin, Zoran Zeković, Jaroslava Švarc-Gajić, Slavica Ražić, Ana Damjanović, Pavle Mašković, Milan Mitić, Food and Chemical Toxicology, 2018, Vol. 121, pp. 458-466. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.09.045>.

13. Ji Eun Lee, Gon-Sup Kim, Semin Park Yun-Hi Kim, Man-Bae Kim, Won Sup Lee, Sung Woo Jeong, Soo Jung Lee, Jong Sung Jin, Sung Chul Shin, Food Chemistry, 2014, Vol. 146, pp. 1–5. DOI: 10.1016 / j.foodchem.2013.09.029.

14. Kurkin V.A. Farmakognoziya: uchebnik dlya studentov farmatsevticheskikh vuzov (fakul'tetov), Samara, OOO «Ofort»; GOU VPO «SamGMU», 2007, 1239 s.

15. Ivanov V.V., Denisenko O.N., Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya, 2014, № 6 Available at: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=16511> (accessed 27 April 2021).

16. Alekhina E.A., Efremov A.N., Emel'yanova O.A., Khimiya rastitel'nogo syr'ya, 2018, №3, S. 179-184.

17. Khisyamova D.M., Avtoref. dis. na soisk. uchen. step. kand. farmatsevt. nauk, Samara, 2017, 24 s.

18. Trineeva O.V., Kaz'mina M.A., Slivkin A.I., Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv, 2017, №1, S.138-143.

19. Drozdova I.L., Lupilina T.I., Kurskii nauchno-prakticheskii vestnik «Chelovek i ego zdorov'e», 2016, №1, S.106-112

20. Chistyakova A. S., Gudkova A. A., Trineeva O. V., Sorokina A. A., Vasil'eva S. A., Khimiya rastitel'nogo syr'ya, 2020, № 3, S. 155-162

21. Kutateladze G.R., Fedoseeva L.M., Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv, 2019, T.8, №2, S. 80-86