

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ЭКСТРАКТА СУХОГО НА ОСНОВЕ СБОРА АНГИОПРОТЕКТОРНОГО

В. М. Минович, А. А. Посохина

ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет»

Поступила в редакцию 29.12.2021 г.

Аннотация. В настоящее время наиболее важным направлением в фармацевтической отрасли является внедрение доступных отечественных средств. Перспективны разработки растительных средств, предназначенных для лечения и профилактики сосудистых заболеваний. Создание многокомпонентных растительных препаратов, полученных на их основе, представленных комплексом биологически активных веществ (БАВ), оказывающих мягкое полифункциональное воздействие на все стадии патологического процесса, является задачей актуальной.

Объектом исследования являлся сбор ангиопротекторный, состоящий из шести лекарственных растений, разрешенных к применению в медицинской практике, обладающий капилляроукрепляющей, противовоспалительной и антиоксидантной активностью. Перспективность использования экстрактов сухих заключается в возможности точности дозирования и дальнейшего получения различных лекарственных форм.

Целью исследования является изучение условий экстракции сырья сбора ангиопротекторного для выделения максимального количества биологически активных веществ в процессе разработки технологии экстракта сухого на его основе.

При получении экстракта для наилучшего обеспечения выхода БАВ предложен метод мацерации в динамических условиях по трем ступеням экстракции с дальнейшей очисткой, сушкой и измельчением. Об эффективности процесса экстракции судили по выходу флавоноидов (в пересчете на рутин), фенолкарбоновых кислот (в пересчете на 3-О- кофейлхинную кислоту) и экстрактивных веществ. Измерение оптической плотности проводили на спектрофотометре LEKI SS 1207UV (Финляндия).

В результате проведенных исследований установлены наиболее приемлемые критерии для получения экстракта сухого на основе сбора ангиопротекторного: оптимальный экстрагент – 40% спирт этиловый, соотношение сырье-экстрагент 1:16, размер частиц 1 мм, температура экстракции – 60°C. Целесообразное время контакта сырья и экстрагента для каждой ступени процесса экстракции по 1-ой ступени – 90 мин, 2-ой ступени – 60 мин, 3-ей ступени – 30 мин. Количественное содержание суммы флавоноидов в экстракте сухом составило $7.85 \pm 0.24\%$, суммы фенолкарбоновых кислот $8.62 \pm 0.25\%$. На основании полученных данных по трем сериям экстракта установлен средний выход готового продукта, который составляет $31.8 \pm 5\%$.

Ключевые слова: экстракт сухой, сбор ангиопротекторный, мацерация, экстрактивные вещества, флавоноиды, фенолкарбоновые кислоты

Согласно статистическим данным, венозные заболевания встречаются у 20% мужчин и 40% женщин трудоспособного населения. Основными факторами развития венозной патологии являются стрессы, малоподвижный образ жизни, ожирение, беременность, гормональные нарушения и наследственность [1, 2, 3]. Для профилактики и лечения сосудистых заболеваний применяется широкий спектр лекарственных средств на основе соединений природного происхождения, а также

полученных синтетическим или полусинтетическим путем, направленных на восстановление проницаемости капилляров, укрепление стенок сосудов, повышение их эластичности [4, 5]. Биологически активные вещества (БАВ) растений флавоноиды, сапонины, антоцианы, фенолкарбоновые кислоты обладают ангиопротекторной активностью [6, 7]. Внедрение в отечественную фармацию многокомпонентных препаратов растительного происхождения является наиболее перспективным направлением данной отрасли, поскольку они оказывают многопрофильное воз-

действие на организм человека, не являются токсичными и имеют минимум побочных эффектов даже в условиях длительного применения [8, 9].

Лекарственное растительное сырье используется для получения экстрактов сухих, которые представляют собой порошкообразные массы с высоким содержанием БАВ [10, 11]. Перспективность использования экстрактов сухих заключается в возможности точности дозирования, и изготовления на их основе различных лекарственных форм, например таких как гранулы, таблетки, капсулы, мази [12, 13].

На отечественном фармацевтическом рынке имеется препарат «Ангионорм», представляющий собой водно-этанольный экстракт из смеси лекарственного растительного сырья: семян конского каштана обыкновенного, корней солодки голой, плодов боярышника и плодов шиповника. Препарат выпускается в форме таблеток и рекомендуется для применения при сосудистых заболеваниях, таких как тромбозы, тромбоэмболии, нарушении проницаемости капилляров [14, 15]. Комплекс биологически активных веществ данного экстракта обеспечивает антиагрегационное, противовоспалительное, венотонизирующее действие, активизирует диуретическую функцию почек, повышает физическую работоспособность, проявляет стресс-протекторную активность [16, 17].

Ранее нами был разработан шестикомпонентный сбор ангиопротекторный, обладающий антиоксидантным, противовоспалительным и капилляроукрепляющим действием для лечения различных форм сосудистых патологий. В состав сбора входит сырье лекарственных растений, разрешенных для медицинского применения [18].

Химический состав компонентов сбора ангиопротекторного представлен флавоноидами (рутин, изокверцетрин, изорамнетин 3-*O*-глюкозид, нарциссин, кверцетин, изорамнетин, кемпферол, гиперозид, гисперидин, спиреозид), фенолкарбоновыми кислотами (3-*O*-кофеилхинная, 5-*O*-кофеилхинная, протокатеховая, кофейная), антоцианами (цианидин-3-*O*-глюкозид, цианидин-3-*O*-арабинозид), сапонинами, кумаринами, эфирными маслами, полисахаридами, аминокислотами, дубильными веществами [19-26].

Целью исследования является изучение условий экстракции сырья сбора ангиопротекторного для выделения максимального количества биологически активных веществ в процессе разработки технологии экстракта сухого на его основе.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Объектом исследования являлся сбор ангиопротекторный, в состав которого входят: *Bupleuri multinervis herba* – володушки многожилковой трава (ВФС-42-580-76), *Aesculi hippocastani semina* – конского каштана семена (ТУ 9377075048682442008), *Filipendulae ulmariae flores* – лабазника вязолистного цветки (ВФС – 42-1717-87), *Aroniae melanocarpae sicco fructus* – аронии черноплодной сухие плоды (ФС.2.5.0003.15), *Fragariae vescae folia* – земляники лесной листья (ФС.2.5.0016.15), *Calendulae officinalis flores* – календулы лекарственной цветки (ФС.2.5.0030.15) в соотношении 20:20:30:10:10:10. Товароведческие показатели сбора ангиопротекторного определяли согласно методикам Государственной фармакопеи XIV издания [27]. Влажность сбора ангиопротекторного - 5,68%, содержание экстрактивных веществ, извлекаемых 40% спиртом этиловым, 42,3%, суммы флавоноидов – 3,97%, суммы фенолкарбоновых кислот – 3,46%.

В ходе исследования влияния условий экстракции на выход БАВ определяли содержание суммы флавоноидов, суммы фенолкарбоновых кислот, экстрактивных веществ.

Количественное содержание суммы флавоноидов и суммы фенолкарбоновых кислот определяли спектрофотометрическим методом. Расчет процентного содержания суммы флавоноидов проводили в пересчете на рутин, суммы фенолкарбоновых кислот с использованием удельного показателя поглощения 3-*O*-кофеилхинной кислоты. Оптическую плотность анализируемых растворов измеряли на спектрофотометре LEKI SS 1207UV (Финляндия). В ходе работы устанавливали технологические параметры, определяющие влияние на выход из растительного сырья БАВ: оптимальный экстрагент, степень измельченности сырья, соотношение сырье-экстрагент, температурный режим, кратность процесса экстракции. Для установления оптимального экстрагента сырье сбора настаивали при комнатной температуре в течение 24 часов с водой и спирто-водными растворами с концентрацией от 10% до 95% спирта этилового при соотношении сырье-экстрагент 1:10. Степень измельченности, при которой достигается наибольший выход БАВ, устанавливали в ходе анализа извлечений с размером частиц сырья от 1 до 5 мм. Для определения оптимального количества экстрагента при контакте сырья и растворителя исследовали выход БАВ и экстрактивных веществ при соотношениях сырья и экстрагента от 1:8 до 1:18. Кроме того,

исследовали температурный режим экстракции и продолжительность контакта фаз по трем ступеням. Определение эффективности экстракции проводили по выходу флавоноидов, фенолкарбоновых кислот и экстрактивных веществ.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием компьютерной программы Statistica MS Excel. Достоверность результатов устанавливали по параметрическому критерию Стьюдента (t) при $p > 95$ [27].

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Фармакологическое действие сбора ангиопротекторного обусловлено содержанием в его составе флавоноидов, фенолкарбоновых кислот, тритерпеновых сапонинов, которые проявляют капилляроукрепляющую, противовоспалительную и антиоксидантную активность. При исследовании процесса экстракции биологически активных веществ из сбора ангиопротекторного контролировали выход суммы флавоноидов, суммы фенолкарбоновых кислот и экстрактивных веществ.

Исследование влияния на выход БАВ показало, что максимальное количество экстрактивных веществ извлекается при использовании воды и 10% спирта этилового, но при этом выход флавоноидов и фенолкарбоновых кислот составляет только 54% от максимально возможного в эксперименте. Приемлемым результатом можно считать по выходу экстрактивных веществ, флавоноидов и фенолкарбоновых кислот для получения экстракта сухого использование 40-60% спирта этилового. С целью уменьшения фактических затрат растворителя оптимальным экстрагентом выбран 40 % спирт этиловый (рис. 1).



Рис. 1. Выход флавоноидов, фенолкарбоновых кислот и экстрактивных веществ из сырья сбора ангиопротекторного в зависимости от экстрагента

Проведенные испытания по установлению максимального выхода флавоноидов, фенолкарбоновых кислот и экстрактивных веществ в зависимости от степени измельченности сырья, показали, что наиболее оптимальным является размер частиц сырья 1-2 мм.

Наибольший выход флавоноидов, фенолкарбоновых кислот и экстрактивных веществ зафиксирован в соотношениях сырье-экстрагент 1:16 и 1:18 (рис 2).

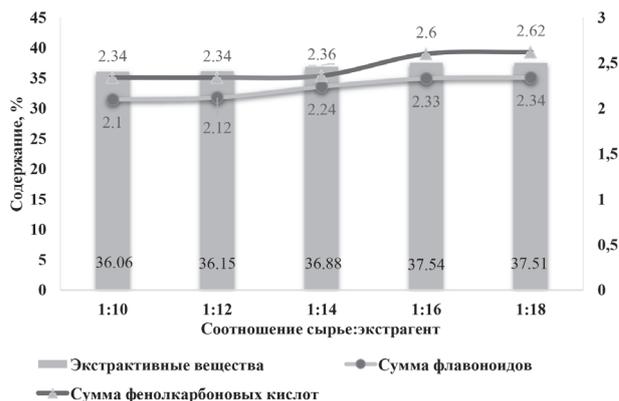


Рис. 2. Выход флавоноидов, фенолкарбоновых кислот и экстрактивных веществ из сбора ангиопротекторного в зависимости от соотношения фаз сырье-экстрагент

Учитывая незначительные различия между двумя параметрами, а также с целью сокращения расхода экстрагента, выбрано оптимальное соотношение фаз сырье-экстрагент – 1:16.

Влияние температуры на процесс экстрагирования изучали, применяя 40 % спирт этиловый, размер частиц сырья 1 мм, соотношение сырье-экстрагент 1:16 и для интенсификации процесса использовали перемешивание на магнитной мешалке. Опытным путем установлено, что с увеличением температуры экстракции, повышается выход БАВ и экстрактивных веществ, достигая своего максимума при 60°C и остается стабильным до 80°C. Для предотвращения деструкции природных соединений и снижения энергозатрат, процесс экстрагирования рекомендуется проводить при температуре 60°C.

Для установления оптимальной продолжительности контакта фаз провели 3 опыта с варьированием времени при первом контакте: в первом опыте – 60 мин, во втором опыте – 90 мин, в третьем опыте 120 мин. При втором и третьем контакте фаз время оставалось одинаковым – 60 мин и 30 мин соответственно.

Наибольшая эффективность выхода флавоноидов, фенолкарбоновых кислот и экстрактивных веществ достигается в опыте 2 и 3 (табл. 1).

Таблица 1

Эффективность выхода флавоноидов, фенолкарбоновых кислот и экстрактивных веществ из сырья сбора ангиопротекторного в зависимости от времени контакта фаз

№ опыта	Время контакта фаз	Эффективность экстракции, %		
		Флавоноиды	Фенолкарбоновые кислоты	Экстрактивные вещества
1	I – 60 мин II – 60 мин III – 30 мин	69.73	77.00	90.50
2	I – 90 мин II – 60 мин III – 30 мин	79.95	80.36	95.38
3	I – 120 мин II – 60 мин III – 30 мин	78.94	82.13	94.00

Параметры опыта 2 наиболее приемлемы для получения экстракта сухого из сбора ангиопротекторного: первый контакт фаз – 90 мин, второй – 60 мин, третий – 30 мин.

Согласно установленным параметрам экстракции технологический процесс получения экстракта сухого из сырья сбора ангиопротекторного состоит из 5 стадий: 1– экстракция сырья с размером частиц 1-2 мм 40% спиртом этиловым по трем ступеням при соотношении сырье-экстрагент – 1:16, при температуре 60°C и постоянном перемешивании (получение первичной вытяжки); 2- очистка вытяжки от балластных и сопутствующих веществ с использованием друк-фильтра после отстаивания при температуре +6°C в течение трех суток; 3 – сгущение вытяжки на роторном испарителе до ¼ от первоначального объема; 4 – сепарирование и высушивание полученного густого экстракта в вакуум-сушильном шкафу до остаточной влажности не более 5%; 5 – измельчение полученной массы.

При наработке 3-х серий экстракта сухого выход готового продукта в 1-ой серии составил 32%, во второй - 31.8%, в третьей - 31.6%, т.е. в среднем выход готового продукта по разработанной технологии составляет 31.8±0.5%.

Количественное содержание в экстракте сухом суммы флавоноидов составило 7.85±0.24%, суммы фенолкарбоновых кислот 8.62±0.25%.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработана технология получения экстракта сухого на основе сбора ангиопротекторного методом трехступенчатой мацерации в динамических условиях. Установлены оптимальные параметры процесса экстрагирования, обеспечивающие наибольший выход из сырья сбора ангиопротекторного биологически активных веществ, определяющих основную фармакологическую активность.

Эффективность экстракции по флавоноидам составляет 79.95%, фенолкарбоновым кислотам - 80.36%, экстрактивным веществам – 95.38%. В экстракте сухом содержится суммы флавоноидов 7.85±0.24%, суммы фенолкарбоновых кислот 8.62±0.25%.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кукеев Т.К., Балмагамбетов Б.Р., Абдикадилов А.А., Айтаханов К.А. // Вестник АГИУВ. 2011. № 4. С.35-38.
2. Покровский А. В., Сапелкин С.В. // Ангиология и сосудистая хирургия. 2003. Т. 9. № 1. С. 53-60.
3. Prandoni P., Noventa F., Ghirarduzzi A., Pengo V., Bernardi E., Pesavento R., Iotti M., Simioni P., Pagnan A. // Haematologica. 2007. Vol. 92, pp.199-205. DOI:10.3324/haematol.10516
4. Young J.Y., Juyong L. // Korean J Intern Med. 2019. Vol. 34, pp. 269-283 DOI:10.3904/kjim.2018.230
5. Запорожская Л.И., Чеснокова Н.Н. // Ремедиум Приволжье. 2016. № 3. С. 143.
6. Denev N., Kratchanov G., Milan C., Antonin L., Kratchanova M. // Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 2012. Vol. 11. No. 5, pp. 471-489.
7. Irekhubayar J.I., Shatar S., Tuyagerel B., Altantsetseg S., Taeho K., Nanzad T., Lee B.J. // Planta Medica. 2009. Vol. 75. No. 9, pp. 1057. DOI:10.1055/s-0029-1234914
8. Altantsetseg S., Shatar S., Javzmaa N. // Mongolian Journal of Chemistry. 2012. Vol. 13, pp. 28-30. DOI:10.5564/mjc.v13i0.156.
9. Otajagic S., Vidic S., Maksimovic D. // Glas hem tehnol Bosne Hereg. 2012. Vol. 38, pp. 35-38.
10. Zdunić G., Aradski A.A., Gođevac D., Živković I., Duletic S., Krstić-Milošević D. // Industrial Crops and Products. 2020. Vol. 148, pp.

112-328. DOI:10.1016/j.indcrop.2020.112328

11. Самылина И.А., Блинова О.А., Кумышева Л.А., Марченко С. Д., Иванов А.И. // Фармация. 2006. № 2. С. 43-46.

12. Шилина Т.С., Ермакова В.А., Самылина И.А., Бардаков А. И. // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. 2004. № 2. С. 282-287.

13. Лубсандоржиева П.Б., Ажунова Т.А., Цыбанов К.Ц. // Химия растительного сырья. 2008. № 1. С. 107-110.

14. Колхир В.К., Воскобойникова И.В. Патент РФ, № 2241483, 2004.

15. Воскобойникова И.В., Леонидова Ю.А., Лупанова И.А., Стрелкова Л. Б., Ферубко Е. В., Колхир В. К. // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2014. № 4. С. 42-43.

16. Стручков П.А., Белобородов В.Л., Колхир В.К., Воскобойникова И.В., Савватеев А.М. // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2018. Т. 21. № 5. С. 10-15. DOI:10.29296/25877313-2018-05-02

17. Стручков П.А., Мельников Е.С., Белобородов В.Л., Колхир В.К., Воскобойникова И.В. // Химико-фармацевтический журнал. 2018. Т. 52. № 12. С. 17-23. DOI:10.30906/0023-1134-2018-52-12-17-23

18. Мирович В.М., Посохина А.А., Петухова С.А., Цыренжапов А.В. Патент РФ, № 2729784, 2020.

19. Мирович В.М., Оленников Д.Н., Петухова С.А., Посохина А.А. // Химия растительного сырья. 2020. № 4. С. 121-128. DOI:10.14258/jcrpm.2020047530

20. Chandurkar P., Murab T., Ahakey N., Tripathi N, Choudhary A. // International Journal of Pure & Applied Bioscience. 2015. Vol. 3, No 2, pp. 386-388.

21. Das S., Kanodia L. // Journal of Natural Pharmaceuticals. 2011. Vol. 2 (1), pp. 20-23.

22. Bermúdez-Soto M.J., Tomás-Barberán F.A., García-Conesa M.T. // Food chemistry. 2007. Vol. 102, No. 3, pp. 865-874.

23. Ehlers V.B., Hill G.A. // Journal of the American Oil Chemists' Society. 1951. Vol. 28, No. 2, pp. 45-46.

24. Vasiliauskas A., Leonaviciene L., Bradunaite R., Vaitkiene D. // Trace Elements & Electrolytes. 2011. Vol. 28, No. 4, pp. 199-207. DOI:10.5414/TEX01179

25. Olennikov D.N., Kruglova M.Y. // Chem. Nat. 2013. Vol. 49, pp. 524-529. DOI:10.1007/s10600-013-0691-0

26. Olennikov, D.N., Partilkhayev V.V. // Chemistry of Natural Compounds. 2013. Vol. 48, No 6, pp. 1078-1082. DOI: 10.1007/s10600-013-0471-x.

27. Государственная фармакопея Российской Федерации: в 4 томах /ред. С.В. Емшанова, О.Г. Потанина, Е.В. Буданова, В.В. Чистяков. – XIV изд. – Москва, 2018 – URL: <http://www.femb.ru/femb/pharmacopea.php> (дата обращения 02.11.2021).

Иркутский государственный медицинский университет

Мирович В. М., доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой фармакогнозии и фармацевтической технологии

E-mail: mirko02@yandex.ru

Посохина А. А., кандидат фармацевтических наук, ассистент кафедры фармакогнозии и фармацевтической технологии

E-mail: alinapos@yandex.ru

Irkutsk State Medical University

Mirovich V. M., PhD., DSci., Full Professor, Head of the Department of Pharmacognosy and Pharmaceutical Technology

E-mail: mirko02@yandex.ru

Posokhina A. A., PhD., Assistant Professor of the Department of Pharmacognosy and Pharmaceutical Technology

E-mail: alinapos@yandex.ru

DEVELOPMENT OF DRY EXTRACT TECHNOLOGY BASED ON COLLECTION OF ANGIOPROTECTIVE

V. M. Mirovich, A. A. Posokhina

Irkutsk State Medical University

Abstract. Currently, the most important area in the pharmaceutical industry is the introduction of affordable domestic funds. The development of herbal products for the treatment and prevention of vascular

diseases is promising. Creation of multicomponent herbal preparations, obtained on their basis, represented by a complex of biologically active substances (BAS), which have a mild polyfunctional effect on all stages of the pathological process, is a topical task.

The object of the study was to collect angioprotective, consisting of six medicinal plants allowed for use in medical practice, having capillary-strengthening, anti-inflammatory and antioxidant activity. The prospect of using dry extracts lies in the possibility of accurate dosing and further preparation of various dosage forms.

The aim of the study is to study the conditions of extraction of angioprotective raw materials to extract the maximum amount of biologically active substances in the process of development of dry extract technology based on it.

In preparing the extract, a method of maceration under dynamic conditions in three extraction stages with further purification, drying and grinding is proposed to best ensure BAS yield. The efficiency of the extraction process was judged by the yield of flavonoids (in terms of rutin), phenol carboxylic acids (in terms of 3-*O*-caffeylquinic acid) and extractive substances. The optical density was measured on a LEKI SS 1207UV spectrophotometer (Finland).

As a result of the conducted studies, the most acceptable criteria for obtaining a dry extract based on angioprotective collection were established: optimal extractant - 40% ethyl alcohol, raw-extractant ratio 1:16, particle size 1 mm, extraction temperature 60°C. The reasonable contact time of the raw material and extractant for each stage of the extraction process in the 1st stage is 90 minutes, the 2nd stage is 60 minutes, the 3rd stage is 30 minutes. The quantitative content of the sum of flavonoids in the extract in dry form was 7.85±0.24%, the sum of phenolic carboxylic acids is 8.62±0.25%. Based on the obtained data for three series of extract, the average yield of the finished product, which is 31.8 ± 5%, is established.

Keywords: dry extract, angioprotective collection, maceration, extractive substances, flavonoids, phenolic carboxylic acids.

REFERENCES

1. Kukeev T.K., Balmagambetov B.R., Abdikadirov A.A., Aitakhanov K.A. J. of Vestnik AGIUV, 2011, No. 4, pp. 35-38.
2. Pokrovskii A. V., Sapelkin S.V. J. of Angiologiya i sosudistaya khirurgiya. 2003. Vol. 9, No. 1, pp. 53-60.
3. Prandoni P., Noventa F., Ghirarduzzi A., Pengo V., Bernardi E., Pesavento R., Iotti M., Simioni P., Pagnan A., Haematologica, 2007, Vol. 92, pp.199-205. DOI:10.3324/haematol.10516
4. Young J. Y., Juyong L., Korean J Intern Med., 2019, Vol. 34, pp. 269-283. DOI:10.3904/kjim.2018.230
5. Zaporozhskaya L.I., Chesnokova N.N. J. Remedium Privolzh'e, 2016, No. 3, pp. 143.
6. Denev N., Kratchanov G., Milan C., Antonin L., Kratchanova M., Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety., 2012, Vol. 11. No. 5, pp. 471-489.
7. Irekhubayar J.I., Shatar S., Tuyagerel B., Altantsetseg S., Taeho K., Nanzad T., Lee B.J., Planta Medica, 2009, Vol. 75, No. 9, pp. 1057. DOI:10.1055/s-0029-1234914
8. Altantsetseg S., Shatar S., Javzmaa N., Mongolian Journal of Chemistry., 2012, Vol. 13, pp. 28-30. DOI:10.5564/mjc.v13i0.156.
9. Otajagic S., Vidic S., Maksimovic D., Glas hem tehnol Bosne Hereg, 2012, Vol. 38, pp. 35-38.
10. Zdunić G., Aradski A.A., Godevac D., Živkovic I., Duletic S., Krstic-Milošević D., Industrial Crops and Products, 2020. Vol. 148, pp. 112-328 DOI:10.1016/j. indcrop.2020.112328
11. Samylina I.A., Blinova O.A., Kumysheva L.A., Marchenko S. D., Ivanov A.I. J. Farmatsiya, 2006, No. 2, pp. 43-46.
12. Shilina T.S., Ermakova V.A., Samylina I.A., Bardakov A. I. J. of Vestnik Voronezhskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Khimiya. Biologiya. Farmatsiya, 2004, No. 2, pp. 282-287.
13. Lubsandorzhieva P.B., Azhunova T.A., Tsybanov K.Ts. J. Khimiya rastitel'nogo syr'ya, 2008, No. 1, pp. 107-110.
14. V.K. Kolkhir, Voskoboinikova I.V. Patent RF, No. 2241483, 2004.
15. Voskoboinikova I.V., Leonidova Yu.A., Lupanova I.A., Strelkova L.B., Ferubko E.V., Kolkhir V. K.J. Voprosy biologicheskoi, meditsinskoi i farmatsevticheskoi khimii, 2014, No. 4, pp. 42-43.
16. Struchkov P.A., Beloborodov V.L., Kolkhir V.K., Voskoboinikova I.V., Savvateev A.M. J. Voprosy biologicheskoi, meditsinskoi i farmatsevticheskoi khimii, 2018, Vol. 21. No. 5, pp. 10-15. DOI:10.29296/25877313-2018-05-02
17. Struchkov P.A., Mel'nikov E.S., Beloborodov V.L., Kolkhir V.K., Voskoboinikova I.V. J. Khimiko-farmatsevticheskii zhurnal, 2018, Vol. 52, No. 12. pp. 17-23. DOI:10.30906/0023-1134-2018-52-12-17-23

18. Mirovich V.M., Posokhina A.A., Petukhova S.A., Tsyrenzhapov A.V. Patent RF, No. 2729784, 2020.
19. Mirovich V.M., Olennikov D.N., Petukhova S.A., Posokhina A.A. *J. of Chemistry of plant raw materials*, 2020, No. 4. pp. 121-128. DOI:10.14258/jcprm.2020047530.
20. Chandurkar P., Murab T., Ahakey N., Tripathi N, Choudhary A. // *International Journal of Pure & Applied Bioscience*, 2015, Vol. 3, No. 2, pp. 386-388.
21. Das, S., Kanodia L., *Journal of Natural Pharmaceuticals*, 2011, Vol. 2 (1), pp. 20-23.
22. Bermúdez-Soto M.J., Tomás-Barberán F.A., García-Conesa M.T., *Food chemistry*, 2007, Vol. 102, No.3, pp. 865-874.
23. Ehlers V.B., Hill G.A., *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 1951, Vol. 28, No. 2, pp. 45-46.
24. Vasiliasuskas A., Leonaviciene L., Bradunaite R., Vaitkiene D., *Trace Elements & Electrolytes*, 2011, Vol. 28, No. 4, pp. 199-207. DOI:10.5414/TEX01179
25. Olennikov D.N., Kruglova M.Y., *Chem. Nat*, 2013, Vol. 49, pp. 524-529. DOI:10.1007/s10600-013-0691-0
26. Olennikov, D.N., Partilkhaev V.V., *Chemistry of Natural Compounds*, 2013, Vol. 48, No. 6, pp. 1078-1082. DOI: 10.1007/s10600-013-0471-x.
27. Emshanova S.V., Potanina O.G., Budanova E.V., Chistyakov V.V. *State Pharmacopoeia of the Russian Federation: in 4 volumes - XIV ed.* Access Mode: <http://www.femb.ru/femb/pharmacopea.php> (accessed 02.11.2021).