

ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИК КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПОЛИСАХАРИДОВ *SAUSSUREA SALICIFOLIA* L.

Е.И. Гулина, Ю.А. Николаева, А.В. Зыкова

ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России
Поступила в редакцию 29.06.2023 г.

Аннотация. Род растений сосюрея (*Saussurea* DC.) является одним из крупнейших представителей семейства сложноцветные (*Asteraceae*), его численность превышает 450 видов, широко распространенных на территории всего мира, на территории Сибири произрастает 54 вида. Для наиболее распространенных видов проведено изучение элементного состава, содержания флавоноидов, фенольных соединений и полисахаридов.

Группа полисахаридов особенно привлекает внимание исследователей в современной фармацевтической науке, так как для нее характерен широкий спектр биологической активности (гиполипидемические, противовоспалительные, иммуностимулирующие и противоопухолевые свойства). Кроме этого для полисахаридов, выделенных из *Saussurea salicifolia*, *Saussurea controversa* и *Saussurea frolovii* установлено наличие прямого NO-активирующего действия на антигенпрезентирующие клетки.

Таким образом, разработка препаратов на основе полисахаридов, выделенных из растений рода *Saussurea* является актуальной задачей. Однако для введения в фармацевтическую практику необходима разработка методик определения подлинности и количественного содержания, подтверждающих доброкачественность и химический состав, от которого зависит биологическая активность. Валидация методик количественного определения биологически активных веществ является важным этапом стандартизации лекарственного растительного сырья и препаратов на его основе.

Целью исследования являлась валидация методик количественного определения полисахаридов сосюреи иволистной (*Saussurea salicifolia* (L.) DC.). В данной статье предложены и валидированы спектрофотометрические методики количественного определения гексоз и уоновых кислот в полисахаридном комплексе *Saussurea salicifolia*, основанные на реакциях взаимодействия продуктов гидролиза полисахаридов с фенолом и 3,5-диметилфенолом. Проведена валидационная оценка результатов методик по показателям: специфичность, линейность, правильность и прецизионность. Все валидационные характеристики находятся в пределах критериев приемлемости. Линейность методики установлена в диапазоне концентраций 60-120 % ($r \geq 0.99$), значения относительного стандартного отклонения варьировались при оценке правильности в пределах 96.92-98.83 %, прецизионности в условиях повторяемости 0.22-2.57 % и воспроизводимости 1.08-2.53 %.

На основании вышеописанных результатов доказано, что методики определения гексоз и уоновых кислот валидны по исследуемым показателям и могут рекомендоваться к включению в проект нормативной документации.

Ключевые слова: количественное определение, валидация, сосюрея иволистная, полисахаридный комплекс, спектрофотометрия.

В современной фармацевтической науке большое внимание уделяется изучению химического состава и фармакологической активности растительного сырья. Одним из наиболее многочисленных родов (более 450 видов), широко распространенных на территории всего мира и Сибири, является род растений сосюрея (*Saussurea* DC.),

входящий в семейство сложноцветные (*Asteraceae*) [1]. Растения рода *Saussurea* широко используются в традиционной народной Китайской и Тибетской медицине, народной медицине Дальнего востока, Сибири, Бурятии и Монголии [2-3]. Представители рода сосюрея (*Saussurea* DC.), относятся к перспективным объектам для разработки, так как содержат в своем составе комплекс биологически активных веществ, обладающих

широким спектром фармакологической активности [4-6, 7]. Для семи видов, произрастающих на территории Сибири, проведено изучение элементного состава, содержания флавоноидов, фенольных соединений и полисахаридов [8]. В настоящее время интерес к изучению группы полисахаридов и проявляемой ими иммуностропной активности, только возрастает [9-10]. Это объясняется тем, что подавляющее большинство растительных полисахаридов являются биосовместимыми, биоразлагаемыми и относительно не токсичными и не вызывают значимых побочных эффектов, что является существенным ограничением для медицинского применения в качестве иммуномодуляторов полисахаридов микробного и синтетического происхождения [11-13]. Установлено, что виды *Saussurea salicifolia*, *Saussurea controversa* и *Saussurea frolovii* содержат в своем составе наибольшее количество водорастворимых полисахаридов. В результате ранее проведенного исследования иммуностропной активности полисахаридного комплекса (ПСК), выделенного из растений рода *Saussurea*, установлено прямое NO-активирующее действие на антигенпрезентирующие клетки [14]. Показано, что полисахариды, выделенные из *S. salicifolia* не оказывали цитотоксического действия и вызывали увеличение активности продукции оксида азота макрофагами в 19.2-20.1 раз [15]. Таким образом, полисахариды, выделенные из наземных частей растений *S. salicifolia*, являются перспективным объектом для дальнейшего исследования химического состава, биологической активности и стандартизации, неотъемлемой частью которой является валидация методик количественного определения основных групп биологически активных веществ [16].

Для количественного определения фармацевтических субстанций на основе полисахаридов часто применяется сочетание нескольких методов, основанных на спектрофотометрическом определении различных моносахаридов после реакции со специфическими реагентами [17-19]. Нами предложен способ количественного определения полисахаридного комплекса травы *S. salicifolia* по содержанию гексоз и уроновых кислот, в основе которого лежат реакции с фенолом и 3,5-диметилфенолом продуктов окислительного гидролиза серной кислотой концентрированной.

На основе предварительного исследования мономерного состава, проведенного методом газожидкостной хроматографии триметилсилильных эфиров, выявлены преобладающие структур-

ные элементы полисахарида: глюкоза, галактоза, ксилоза, рамноза.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

В качестве объекта исследования использовали полисахаридный комплекс, выделенный из травы соссуреи иволистной - *Saussurea salicifolia* (L.) DC. В ходе предварительного скринингового исследования влияния условий экстракции, установлено, что pH экстракции 2 позволяет получить целевую группу БАВ обладающую эндотоксин независимым NO-стимулирующим действием на антигенпрезентирующие клетки [15]. При исследовании влияния температуры экстракции (25, 60 и 95°C) на выход ПСК установлено, что выход, содержание гексоз и уроновых кислот в нем преобладают при температуре экстракции 95°C. Таким образом экстракцию ПСК проводили на кипящей водяной бане в течение 3 часов при соотношении сырья и экстрагента 1:30, pH=2. Раствор ПСК отделяли фильтрацией, затем осаждали спиртом этиловым 96% в соотношении 1:4 и оставляли на сутки. Полученный осадок центрифугировали, растворяли в воде очищенной и диализировали с использованием полупроницаемой мембраны в течение 48 часов против воды очищенной с контролем электропроводности (не более 4,0 мкСм/см, кондуктометр F3 FiveGo™ («Mettler-Toledo», Kuma)). Концентрат подвергали сублимационной вакуумной сушке.

Подготовка проб. Стандартные растворы моносахаридов (глюкоза, галактуроновая кислота) готовили следующим образом: 0.1000 г стандартного образца помещали в мерную колбу на 100.0 см³, добавляли 60 см³ воды очищенной и перемешивали до полного растворения. После чего доводили объем раствора до метки тем же растворителем и перемешивали. Отбирали 2.5 см³ полученного раствора в мерную колбу вместимостью 25 см³, доводили объем раствора до метки водой очищенной и перемешивали.

Для количественного определения около 0.1000 г испытуемого образца полисахарида помещали в мерную колбу на 100 см³, добавляли 40 см³ воды очищенной и помещали на мешалку на 30 минут. После чего доводили объем раствора до метки тем же растворителем и перемешивали. Отбирали 2.5 см³ полученного раствора в мерную колбу вместимостью 25 см³, доводили объем раствора до метки водой очищенной и перемешивали.

В пробирку №1 помещали 0.20 см³ испытуемого раствора, добавляли 0.20 см³ 5% раствора

фенола, 1 см³ кислоты серной концентрированной, перемешивали и через 10 минут измеряли оптическую плотность испытуемого и стандартных растворов относительно раствора сравнения при длине волны 480 нм.

В пробирку №2 помещали 0.25 см³ испытуемого раствора, добавляли 0.25 см³ 20% боратного раствора, перемешивали. По стенке пробирки медленно добавляли 2 см³ кислоты серной концентрированной, содержимое пробирки перемешивали. Нагревали на кипящей водяной бане в течение 40 минут. Далее пробирку охлаждали до комнатной температуры, добавляли 50 мкл 3,5-диметилфенола, тщательно перемешивали и через 10 минут измеряли оптическую плотность. Для нивелирования влияния нейтральных сахаров оптическую плотность испытуемого и стандартных растворов измеряли относительно раствора сравнения при длинах волн 400 и 450 нм.

Количественное содержание моносахаридов определяли из градуировочных графиков, построенных по данным оптических плотностей, полученных для стандартных растворов моносахаридов в диапазонах концентраций 0.01-0.10 мг/см³ для глюкозы и 0.01-0.12 мг/см³ для галактурановой кислоты.

Валидационные показатели методик определяли согласно требованиям ОФС.1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик» по показателям специфичность, линейность, правильность, прецизионность [20].

Специфичность методик устанавливали сравнением двух электронных спектров, записанных в присутствии образцов стандартных моносахаридов.

Линейность методик определяли на шести уровнях концентраций стандартных растворов в диапазоне от 60 до 120% (60, 80, 90, 100, 110 и 120%). Критерием приемлемости являлся коэффициент корреляции, рассчитанный на основе регрессионного анализа полученных данных ($r \geq 0,99$).

Правильность методик устанавливали для модельных растворов следующих концентраций: 0.06, 0.08, 0.10, 0.12 мг/см³. Оценку проводили по значениям относительного стандартного отклонения (σ_r , %).

Прецизионность методик определяли в условиях повторяемости и воспроизводимости.

Проверку повторяемости проводили по значениям величины относительного стандартного отклонения (σ_r , %) в трехуровневом эксперименте с использованием растворов стандартных концен-

траций ПСК: 80, 100, 120 % (n=6).

Воспроизводимость методик определяли, сравнивая результаты, полученные двумя исследователями в двух разных лабораториях на трех уровнях концентраций в шести повторностях по значениям σ_r (%).

Промахи в выборке выявляли с использованием значений Q-критерия.

Для количественных показателей вычисляли среднее значение (X) и стандартную ошибку среднего (δ_{cp} , %).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Специфичность методик доказывали сравнением спектров стандартных образцов моносахаридов. На рисунках 1 и 2 представлены электронные спектры продуктов реакции стандартов моносахаридов и ПСК с фенолом и 3,5-диметилфенолом, доказывающие специфичность методики. На рисунке 1 наблюдается максимум поглощения равный 483 нм, характерный для продукта взаимодействия фенола с оксиметилфурфуролом, образующимся в результате кислотного гидролиза. На рисунке 2 – максимум поглощения 450 нм, что соответствует литературным данным по определению галактурановой кислоты.

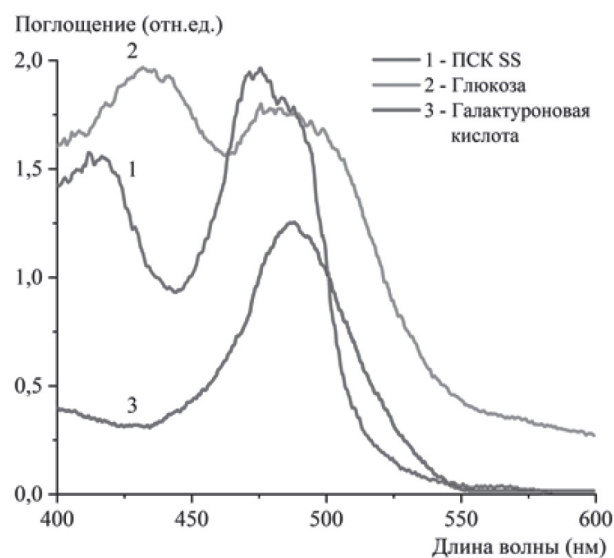


Рис. 1. Электронные спектры, полученные при определении специфичности с фенолом.

Линейность устанавливали в диапазоне содержания ПСК от 60 до 120%. Для оценки линейности строили градуировочные графики, описанные уравнениями: $y=0.3688x-0.2314$ для гексоз, $y=0.0869x-0.698$ для урановых кислот. Значения коэффициентов корреляции $r=0.9995$ и $r=0.9991$ соответственно, что свидетельствует об удовлет-

ворительной линейной зависимости оптической плотности от концентрации моносахаридов в заданном диапазоне.

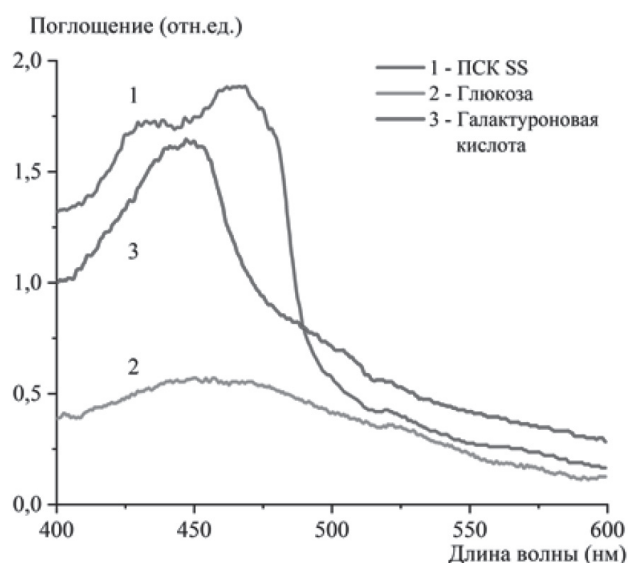


Рис. 2. Электронные спектры, полученные при определении специфичности с 3,5-диметилфенолом.

Относительное стандартное отклонение (σ_r , %) находится в диапазоне 0.22-2.57 %, что указывает на удовлетворительную прецизионность методик в условиях повторяемости (табл. 1).

Таблица 1

Оценка повторяемости методик количественного определения уроновых кислот и гексоз в полисахаридном комплексе *S. salicifolia*

Уровень содержания	X_{cp} , %	S_x	ΔX	σ_r , %
Содержание гексоз, %				
80	80.47	2.06	2.94	2.57
100	100.76	1.67	3.60	1.66
120	117.30	0.25	0.36	0.22
Содержание уроновых кислот, %				
80	75.52	1.71	1.86	1.73
100	100.65	2.21	3.14	2.20
120	116.43	1.61	3.46	1.38

Результаты оценки межлабораторной прецизионности, представленные в табл. 2, свидетельствуют, что величина относительного стандартного отклонения не превышает 2.53 %, следовательно, методики анализа воспроизводимы.

Исходя из полученных данных, представленных в табл. 3, установлено, что методики являются правильными, относительная ошибка в диапазоне концентраций 60-120 % не превышает 5 %.

Согласно выполненной валидационной оценке, методики количественного определения уроновых кислот и гексоз в полисахаридном ком-

плексе *S. salicifolia* являются специфичными, линейными, повторяемыми, воспроизводимыми и правильными.

Таблица 2

Оценка воспроизводимости методик количественного определения уроновых кислот и гексоз в полисахаридном комплексе *S. salicifolia*

Уровень содержания	$X_{1,cp}$, %	$X_{2,cp}$, %	$F_{расч}$	S_x	σ_R , %
Содержание гексоз, %					
80	80.47	79.31	1.31	1.93	2.41
100	100.76	100.37	1.39	1.85	1.84
120	116.81	119.03	1.32	1.27	1.08
Содержание уроновых кислот, %					
80	78.82	75.52	1.74	1.18	2.53
100	100.23	100.65	1.40	1.95	1.94
120	119.41	116.43	1.14	1.67	1.42

Таблица 3

Оценка правильности методик количественного определения уроновых кислот и гексоз в полисахаридном комплексе *S. salicifolia*

Содержание гексоз, мкг/мл	теоретическое	найденное	δ , %	δ_{cp} , %
		21.80	0.94	98.12
		21.36	2.91	
29,34		29.94	2.06	
		29.58	0.84	98.57
		28.93	1.40	
36,67		36.65	0.06	
		37.32	1.76	98.76
		37.37	1.90	
44,01		43.87	0.32	
		42.91	2.49	98.83
		43.69	0.70	
Содержание уроновых кислот, мкг/мл				
4.88		4.51	3.08	
		4.40	0.37	96.92
		4.63	5.79	
6.51		5.88	1.04	
		5.80	2.37	98.00
		5.79	2.59	
7.43		7.08	4.71	
		7.11	4.36	96.71
		7.37	0.82	
8.92		8.78	1.55	
		8.71	2.29	98.64
		8.90	0.22	

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, валидированы спектрофотометрические методики количественного определения гексоз и уроновых кислот в полисахаридном комплексе *S. salicifolia*. В результате эксперимента установлено, что методики специфичны и обеспечены приемлемой линейностью в диапазоне

концентраций 60-120%, значения относительно стандартного отклонения варьировались при оценке правильности 96.92-98.83 %, прецизионности в условиях повторяемости 0.22-2.57 % и воспроизводимости 1.08-2.53 %.

Работа выполнена в рамках государственного задания № 056-00116-23-01.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Wen J., Zhang J. Q., Nie Z. L., Zhong Y., Sun H. // *Front. Genet.* 2014. Vol. 5, pp. 1-16.
2. Bandi A.K., Lee D.U. // *Chem. Biodivers.* 2012. Vol. 9. № 8, pp. 1403-1421.
3. Погодин Е.С., Лукша Е.А. Предейн. Н.А. // *Химия растительного сырья.* 2014. №. 3. С. 43-52.
4. Wang Y. F., Ni Z. Y., Dong M., Cong B., Shi Q. W., Gu Y. C., Kiyota H. // *Chem Biodivers.* 2010. Vol. 7. № 11, pp. 2623-2659.
5. Yang J. L., Wang R., Liu L. L., Shi Y. P. J. // *Asian Nat Prod Res.* 2010. Vol. 12. № 2, pp. 162-175.
6. Zhang H., Li X., Meng X., Ling X., Li S., Song G., Li L. // *Chem Biodivers.* 2023. Vol. 20. № 1.
7. Yu Y., Shen M., Song Q., Xie J. // *Carbohydr. Polym.* 2018. Vol. 2018. № 235, pp. 91-101.
8. Решетов Я. Е., Белоусов М. В., Авдеева Е. Ю., Шурупова М. Н. // *Химия растительного сырья.* 2018. № 4. С. 205-214.
9. Wainwright C. L., Teixeira M. M., Adelson D. L., Buenz E. J., David B., Glaser K. B., Harata-Lee Y., Howes M. R., Izzo A. A., Maffia P., Mayer A. M., Mazars C., Newman D. J., Nic Lughadha E., Pimenta A. M., Parra J. A., Qu Z., Shen H., Spedding M., Wolfender J. L. // *Pharmacol. Res.* 2022. Vol. 177.
10. Di Sotto A., Vitalone A., Di Giacomo S. // *Vaccines.* 2020. Vol. 8. № 3, pp. 1-34.
11. Barbosa J.R., de Carvalho Junior R.N. // *Trends Food Sci. Technol.* 2021. Vol. 108, pp. 223-235.
12. Yin M., Zhang Y., Li H. // *Front. Immunol.* 2019. Vol. 10.
13. Singh D., Rajput A., Bhatia A., Kumar A., Kaur H., Sharma P., Kaur P., Singh S., Attri S., Buttar H. S., Singh B., Arora S. // *Funct. Foods Heal. Dis.* 2021. Vol. 11. № 4, pp. 179-200.
14. Решетов Я.Е., Лигачёва А.А., Авдеева Е.Ю., Данилец М.Г., Головченко В.В., Трофимова Е.С., Гулина Е.И., Шерстобоев Е.Ю., Гурьев А.М., Ровкина К.И., Кривошеков С.В., Белоусов М.В. // *Химия растительного сырья.* 2019. №4. С. 77-85.
15. Лигачёва А.А., Гулина Е.И., Шабанова Ю.В., Трофимова Е.С., Кривошеков С.В., Гуркин Н.В., Шурупова М.Н., Шерстобоев Е.Ю., Данилец М.Г., Белоусов М.В. // *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2022. Т. 11. № 2. С. 59-64.
16. Кахраманова С.Д., Боков Д.О., Самылина И.А. // *Фармация.* 2020. Т. 69. № 8. С. 5-12.
17. Albalasmeh A.A., Berhe A.A., Ghezzehei T.A. // *Carbohydr Polym.* 2013. Vol. 97. № 2, pp. 253-261.
18. Kumar V., Nagar S. // *Carbohydr Polym.* 2014. Vol. 99, pp. 291-296.
19. Кривошеков С.В., Исаков Д.А., Гурьев А.М., Белоусов М.В. // *Медицинский вестник Башкортостана.* 2022. Т. 17. № 5. С. 48-52.
20. Государственная фармакопея Российской Федерации. - 14 изд.: в 4 т. М.: Министерство здравоохранения Российской Федерации, 2018. - Режим доступа: <http://www.femb.ru/femb/pharmacopea.php> (дата обращения: 21.04.2023).

ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России

**Гулина Е. И., ассистент кафедры фармацевтического анализа*

E-mail: e.gulina1@gmail.com

Николаева Ю. А., студент

E-mail: irinanikolaeva11081982@mail.ru

Зыкова А. В., аспирант кафедры фармацевтического анализа

E-mail: anastasya.zykova@mail.ru

Siberian State Medical University

**Gulina E. I., assistant of the Department of Pharmaceutical Analysis*

E-mail: e.gulina1@gmail.com

Nikolaeva Y. A., student

E-mail: irinanikolaeva11081982@mail.ru

Zykova A. V., postgraduate student of the Department of Pharmaceutical Analysis

E-mail: anastasya.zykova@mail.ru

VALIDATION OF METHODS FOR QUANTITATIVE DETERMINATION OF SAUSSUREA SALICIFOLIA L. POLYSACCHARIDES

E.I. Gulina, A.V. Zykova, Yu.A. Nikolaeva

Siberian State Medical University

Abstract. *Saussurea* plant genus (*Saussurea* DC.) is one of the largest representatives of the *Asteraceae* family, its number exceeds 450 species, widely distributed throughout the world, 54 species grow in Siberia. The study of the elemental composition, content of flavonoids, phenolic compounds and polysaccharides for the most common species was carried out.

The group of polysaccharides especially attracts the attention of researchers in modern pharmaceutical science, since it is characterized by a wide range of biological activity (lipid-lowering, anti-inflammatory, immunostimulating and antitumor properties). In addition, for polysaccharides isolated from *Saussurea salicifolia*, *Saussurea controversa* and *Saussurea frolovii*, a direct NO-activating effect on antigen-presenting cells was found.

Thus, the development of drugs based on polysaccharides isolated from plants of the *Saussurea* genus is an urgent task. However, for introduction into pharmaceutical practice, it is necessary to develop methods for determining the authenticity and quantitative content, confirming the good quality and chemical composition, on which biological activity depends. Validation of methods for the quantitative determination of biologically active substances is an important step in the standardization of medicinal plant materials and preparations based on it.

The aim of the study was to validate the methods for quantitative determination of polysaccharides in *Saussurea salicifolia* (L.) DC. This article proposes and validates spectrophotometric methods for the quantitative determination of hexoses and uronic acids in the *Saussurea salicifolia* polysaccharide complex, based on the interaction reactions of polysaccharide hydrolysis products with phenol and 3,5-dimethylphenol. A validation evaluation of the results of the methods was carried out in terms of indicators: specificity, linearity, correctness and precision. All validation characteristics are within the acceptance criteria. The linearity of the technique was established in the concentration range of 60-120% ($r \geq 0.99$), the values of the relative standard deviation varied in the assessment of accuracy within 96.92-98.83%, precision under repeatability conditions 0.22-2.57% and reproducibility 1.08-2.53%.

Based on the results described above, it was proved that the methods for determining hexoses and uronic acids are valid in terms of the studied indicators and can be recommended for inclusion in the draft regulatory documentation.

Keywords: quantitative determination, validation, *Saussurea salicifolia*, polysaccharide complex, spectrophotometry.

REFERENCES

1. Wen J., Zhang J. Q., Nie Z. L., Zhong Y., Sun H, *Front. Genet.*, 2014, Vol. 5, pp. 1-16, DOI:10.3389/fgene.2014.00004
2. Bandi A.K., Lee D.U. *Chem. Biodivers*, 2012, Vol. 9, No. 8, pp. 1403-1421, DOI:10.1002/cbdv.201100172
3. Pogodin E.S., Luksha E.A. Predejn N.A., *Khimija Rastitel'nogo Syr'ja*, 2014, No. 3, C. 43-52, DOI: 10.14258/jcprm.1403043.
4. Wang Y. F., Ni Z. Y., Dong M., Cong B., Shi Q. W., Gu Y. C., Kiyota H., *Chem Biodivers*, 2010, Vol. 7, No. 11, pp. 2623-2659, DOI:10.1002/cbdv.200900406.
5. Yang J. L., Wang R., Liu L. L., Shi Y. P. J., *Asian Nat Prod Res*, 2010, Vol. 12, No. 2, pp. 162-175, DOI: 10.1080/10286020903496455.
6. Zhang H., Li X., Meng X., Ling X., Li S., Song G., Li L., *Chem Biodivers*, 2023, Vol. 20, No. 1, DOI: 10.1002/cbdv.202200885.
7. Yu Y., Shen M., Song Q., Xie J., *Carbohydr. Polym.*, 2018, Vol. 2018, № 235, pp. 91-101, DOI: 10.1016/j.carbpol.2017.12.009/
8. Reshetov Ya.E., Belousov M.V., Avdeeva E.Yu., Shurupova M.N., *Khimija Rastitel'nogo Syr'ja*, 2018, No. 4, pp. 205-214, DOI:10.14258/jcprm.2018043710
9. Wainwright C. L., Teixeira M. M., Adelson D. L., Buenz E. J., David B., Glaser K. B., Harata-Lee Y., Howes M. R., Izzo A. A., Maffia P., Mayer A. M., Mazars C., Newman D. J., Nic Lughadha E., Pimenta A. M., Parra J. A., Qu Z., Shen H., Spedding M., Wolfender J. L., *Pharmacol. Res.*, 2022, Vol. 177, DOI: 10.1016/j.phrs.2022.106076.

10. Di Sotto A., Vitalone A., Di Giacomo S., Vaccines, 2020, Vol. 8, No. 3, pp. 1-34, DOI:10.3390/vaccines8030468.
11. Barbosa J.R., de Carvalho Junior R.N., Trends Food Sci. Technol., 2021, Vol. 108, pp. 223-235, DOI:10.1016/j.tifs.2020.12.026.
12. Yin M., Zhang Y., Li H., Front. Immunol., 2019, Vol. 10, DOI:10.3389/fimmu.2019.00145.
13. Singh D., Rajput A., Bhatia A., Kumar A., Kaur H., Sharma P., Kaur P., Singh S., Attri S., Buttar H. S., Singh B., Arora S., Funct. Foods Heal. Dis., 2021, Vol. 11, No. 4, pp. 179-200, DOI:10.31989/ffhd.v11i4.773.
14. Reshetov Ya.Ye., Ligachova A.A., Avdeyeva Ye.Yu., Danilets M.G., Golovchenko V.V., Trofimova Ye.S., Gulina Ye.I., Sherstoboyev Ye.Yu., Gur'yev A.M., Rovkina K.I., Krivoshchekov S.V., Belousov M.V., Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya, 2019, No. 4, pp. 77-85, DOI: 10.14258/jcprm.2019045483.
15. Ligacheva A.A., Gulina E.I., Shabanova I.V., Trofimova E.S., Krivoshchekov S.V., Gurkin N.V., Shurupova M.N., Sherstoboev E.Yu., Danilets M.G., Belousov M.V., Drug development & registration, 2022, Vol. 11, No. 2, pp. 59-64, DOI:10.33380/2305-2066-2022-11-2-59-64.
16. Kakhramanova S.D., Bokov D.O., Samylina I.A., Farmatsiya, 2020, Vol. 69, No. 8, pp. 5-12. DOI: 10.29296/25419218-2020-08-01.
17. Albalasmeh A.A., Berhe A.A., Ghezzehei T.A., Carbohydr Polym., 2013, Vol. 97, No. 2, pp. 253-261, DOI:10.1016/j.carbpol.2013.04.072.
18. Kumar V., Nagar S., Carbohydr Polym., 2014, Vol. 99, pp. 291-296, DOI:10.1016/j.carbpol.2013.07.083.
19. Krivoshchekov S.V., Isakov D.A., Gur'yev A.M., Belousov M.V., Bashkortostan Medical Journal, 2022, Vol. 17, No. 5, pp. 48-52.
20. Gosudarstvennaja farmakopeja Rossijskoj Federacii. 14 izd.: v 4 t. M.: Ministerstvo zdravooxranenija Rossijskoj Federacii, 2018, Available at: <http://www.femb.ru/femb/pharmacopea.php>. ((accessed 21 April 2023)).