

## ИССЛЕДОВАНИЕ СОСТАВА ЛИСТЬЕВ АРОНИИ МИЧУРИНА МЕТОДОМ ГАЗОВОЙ ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ

О.В. Пугачева, О.В. Тринеева, А.И. Сливкин

ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет»

Поступила в редакцию 01.11.2023 г.

**Аннотация.** Метод газовой хроматографии с масс-спектрометрическим (ГХ-МС) детектором находит широкое применение для качественного и количественного анализа соединений в фармации. Данный метод позволяет выявлять маркерные соединения растительного сырья, которые можно подразделить на уникальные, специфические и неспецифические. Зная состав маркерных соединений, можно использовать метод ГХ - МС для идентификации растительного сырья.

Целью исследования являлось изучение компонентного состава листьев аронии Мичурина, как потенциального источника биологически активных веществ, а также динамики их накопления методом ГХ – МС.

Объектом служили высушенные листья аронии Мичурина на четырех стадиях развития растительного сырья, заготовленные в 2021 году в Тамбовской области. Спиртовые извлечения листьев подвергали анализу методом газовой хромато-масс-спектрометрии.

В результате исследования были получены масс-спектры спиртовых извлечений из листьев аронии, заготовленных в разные фазы вегетации растения, содержащие от 6 до 11 веществ органической природы.

Наибольшее количество соединений группы сахаров и стероидов характерно было для листьев фазы сбора III – фазы технической зрелости плодов

Сесквитерпеноид 2-Бутанон, 4-(2,6,6-триметил-1-циклогексен-1-ил)- и горький гликозид - D-амигдалин, вероятно, являются наиболее уникальными соединениями. Однако данные соединения встречаются только на стадии полной зрелости плодов, что не позволяет использовать его для идентификации на других фазах развития растения.

Как наиболее специфичные маркерные соединения, присутствующие в листьях на всем протяжении их развития, следует выделить 1,2,3,5-Циклогексантирол (1 $\alpha$ , 2 $\beta$ , 3 $\alpha$ , 5 $\beta$ )-,  $\gamma$ -ситостерол и  $\alpha$ -амирин. Данные маркеры для нашего сырья не являются уникальными. Поэтому указанные вещества не могут быть рекомендованы для идентификации данного растительного сырья без использования дополнительных методов анализа.

**Ключевые слова:** листья аронии Мичурина, газовая хромато-масс-спектрометрия, ГХМС, маркерные соединения

Важнейшей задачей современного этапа развития фармакогнозии является поиск видов лекарственного растительного сырья (ЛРС), а также ранее мало изученных частей известных лекарственных растений – источников комплекса биологически активных веществ (БАВ) с целью дальнейшей разработки лекарственных растительных препаратов (ЛРП). Природные объекты, в особенности растительные содержат уникальные комбинации молекул БАВ, обеспечивающих прояв-

ление различных фармакологических свойств, и находят применение в отечественной и мировой фармацевтической и косметологической промышленности.

Арония Мичурина (*Aronia mitschurinii* A.K. Skvortsov & Maitul), более известная как рябина черноплодная, широко культивируется в нашей стране и представляет собой гибрид аронии черноплодной и рябины обыкновенной. Наиболее изучен состав БАВ ее плодов, богатых соединениями полифенольной природы, в том числе флавоноидами, антоцианами и дубильными веществами.

Являются источниками цианидина и его гликозидов, рутина, катехина, кемферола и др. Применение их в медицине обусловлено антиоксидантной активностью антоцианов, а также Р-витаминной активностью рутина. Так же они могут служить источником витаминов и микроэлементов [1]. В тоже время фитохимический состав листьев арони Мичурина изучен недостаточно. Ранее проведенными исследованиями доказано наличие в них флавоноидов, сапонинов в спирторастворимой форме, дубильных веществ, аскорбиновой кислоты, лейкоантоцианов [2–5]. При этом содержание дубильных веществ в пересчете на катехин высоко и составляет около 10%, что позволяет рассматривать листья арони Мичурина в качестве перспективного источника данной группы БАВ [6]. В связи с большим сырьевым запасом и высоким фитохимическим потенциалом листьев, данное растение было выбрано нами как потенциальное сырье для поиска целебных соединений, открывающих дополнительные возможности и показывая к применению сырья и ЛРП на его основе.

Метод газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектором находит широкое применение для качественного и количественного анализа соединений в фармации, что обусловлено высокой селективностью и чувствительностью, а также возможностью разделять разные типы соединений в смеси с достаточной степенью разрешения [7]. В фармакогнозии в настоящее время в мировой практике все чаще данный метод используется для поиска маркерных соединений – уникальных компонентов, встречающихся только в данном виде ЛРС [8–11], присутствие которых может быть достаточным для идентификации сырья, его стандартизации и оценки качества. ГХ-МС может использоваться также при исследовании новых видов растительного сырья, играя важную роль в фитохимическом анализе и хемотаксономических исследованиях лекарственных растений. Так метод ГХ-МС перспективен для выявления характерных БАВ в листьях арони Мичурина для их идентификации [12].

Целью исследования являлось изучение компонентного состава листьев арони Мичурина, как потенциального источника БАВ, а также динамики их накопления методом ГХ – МС.

### МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Объектом исследования служили высушенные листья арони Мичурина сорта «Мулатка», заготовленные от культивируемого растения в

Тамбовской области в 2021 году. Сушку проводили воздушно-теневым методом до остаточной влажности не более 10%. В зависимости от сроков сбора сырья было подготовлено четыре образца:

Образец 1 – на стадии цветения растения, май (влажность 9,12 %);

Образец 2 – на стадии начала плодоношения, июнь (влажность 9,16 %);

Образец 3 – на стадии зрелости плодов, август (влажность 9,48 %);

Образец 4 – на стадии начала покраснения листьев, сентябрь (влажность 9,52%).

Экстрагирование БАВ проводили по методике 1 ОФС.1.5.3.0006.15 «Определение содержания экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» [13], экстрагент – спирт этиловый 96%, выбор которого обоснован ранее в работе [14].

Изучение объектов исследования проведено с помощью научно-технической базы Центра коллективного пользования научным оборудованием ВГУ. Для анализа применяли хроматограф газовый Agilent 7890B с масс-спектрометрическим интерфейсом Agilent 5977A MSD. Ионизация – электронный удар, энергия ионизации 70 эВ, сканирование 30-550 а.е.м. (Да). Газ-носитель – гелий (1,0 мл/мин); термостат 50°C – 3 минуты, 50-190°C 10 мин, 190-250°C 20 мин, 300°C 10 мин. Инжекция – 1 мкл, деление потока 80:1. Колонка неполярная HP-5MS UI 30м x 0,25мм, 0,25мкм. Идентификацию соединений проводили по характеристичным m/z с использованием базы спектров, встроенной в программную оболочку аналитического оборудования, а также литературных данных. Количественное содержание компонентов выделенных фракций осуществляли методом внутренней нормализации. Следует отметить, что в работе при анализе состава экстракта осуществлялось прямое введение образца в хроматограф без пробоподготовки и дериватизации, поэтому следует считать, что проанализировать удалось только те компоненты экстракта, что являются летучими в условиях анализа (что составляет от 5 до 15 % введенной пробы).

### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В результате исследования извлечений из листьев арони были получены масс-спектры от 6 до 11 веществ органической природы. Все они были идентифицированы (табл. 1). Масс-спектры основных идентифицированных компонентов представлены на рис. 1.

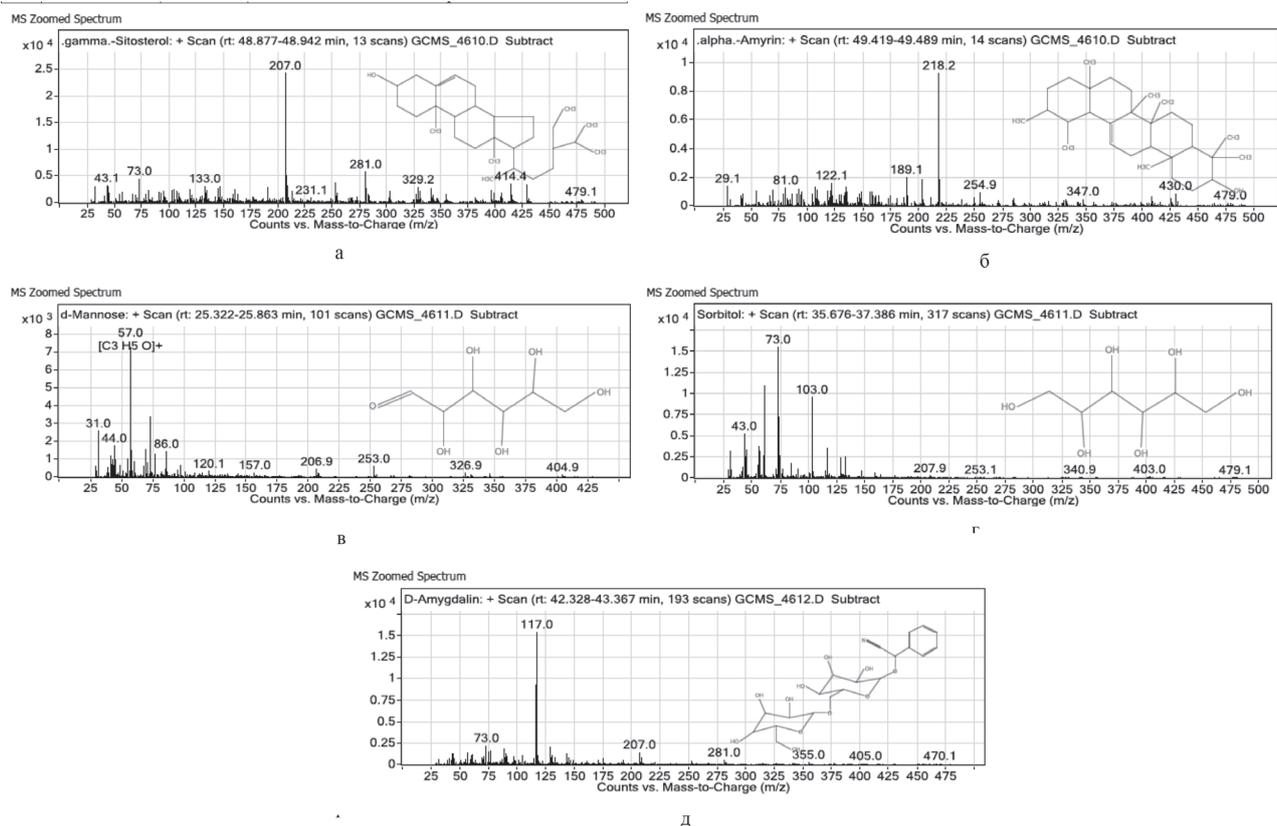


Рис. 1. Масс-спектры основных идентифицированных компонентов: а – γ-ситостерин, б – α-амирин, в – d-манноза, г – сорбитол, д – D-амигдалин

Таблица 1

Результаты ГХ-МС анализа листьев аронии Мичурина, заготовленных на различных стадиях вегетации растения

| № п/п             | Время удерживания | Площадь пика, % | Идентифицированное соединение   |
|-------------------|-------------------|-----------------|---|
| Стадия 1 (май)    |                   |                 |   |
| 1                 | 25,558            | 0,52            | d-Манноза   |
| 2                 | 29,081            | 3,9             | 1,2,3,5-Циклогексантетрол (1α, 2β, 3α, 5β)-   |
| 3                 | 33,741            | 0,04            | Z-(13,14-Эпоксид)тетрадек-11-ен-1-ол ацетат   |
| 4                 | 36,383            | 3,21            | d-Маннитол  |
| 5                 | 48,897            | 0,29            | γ-ситостерол  |
| 6                 | 49,443            | 0,1             | α-амирин  |
| Стадия 2 (июнь)   |                   |                 |   |
| 1                 | 25,554            | 0,62            | d-Манноза   |
| 2                 | 29,083            | 3,34            | 1,2,3,5-Циклогексантетрол (1α, 2β, 3α, 5β)-   |
| 3                 | 36,851            | 7,38            | сорбитол  |
| 4                 | 45,7              | 0,06            | 3,9-Эпоксипрегн-16-ен-20-он, 3-метокси-7,11,18-триацетокси-   |
| 5                 | 48,899            | 0,2             | γ-ситостерол  |
| 6                 | 49,446            | 0,13            | α-амирин  |
| Стадия 3 (август) |                   |                 |   |
| 1                 | 25,538            | 0,53            | d-Манноза   |
| 2                 | 26,236            | 1,99            | β- d-глюкопираноза  |
| 3                 | 29,083            | 1,58            | 1,2,3,5-Циклогексантетрол (1α, 2β, 3α, 5β)-   |
| 4                 | 29,912            | 0,03            | 2-Бутанон, 4-(2,6,6-триметил-1-циклогексен-1-ил)-   |
| 5                 | 37,002            | 6,04            | Сорбитол  |
| 6                 | 42,48             | 5,11            | D-Амигдалин   |
| 7                 | 45,706            | 0,07            | 3,9-Эпоксипрегн-16-ен-20-он, 3-метокси-7,11,18-триацетокси-   |
| 8                 | 47,319            | 0,11            | 1H-Циклопропа[3,4]бенз[1,2-e]азулен-5,7b,9,9a-тетрол, 1a,1b,4,4a,5,7a,8,9-октигидро-3-(гидрокиметил)-1,1,6,8-тетраметил-, 5,9,9a-триацетат, [1aR-(1a.α.,1b.β.,4a.β.,5.β.,7a.α.,7b.α.,8.α.,9.β.,9a.α.)]- |
| 9                 | 48,899            | 0,58            | γ-ситостерол  |

Таблица 1 (Продолжение)

Результаты ГХ-МС анализа листьев аронии Мичурина, заготовленных на различных стадиях вегетации растения

| № п/п               | Время удерживания | Площадь пика, % | Идентифицированное соединение   |
|---------------------|-------------------|-----------------|---|
| 10                  | 49,446            | 0,14            | $\alpha$ -амирин  |
| Стадия 4 (сентябрь) |                   |                 |   |
| 1                   | 25,516            | 0,89            | d-Манноза   |
| 2                   | 26,242            | 0,21            | $\beta$ - d-глюкопираноза   |
| 3                   | 29,056            | 1,98            | 1,2,3,5-Циклогексантетрол (1 $\alpha$ , 2 $\beta$ , 3 $\alpha$ , 5 $\beta$ )-   |
| 4                   | 37,235            | 7,45            | сорбитол  |
| 5                   | 40,255            | 0,45            | Бензил- $\beta$ -D-глюкозид   |
| 6                   | 42,561            | 1,75            | D-Амигдалин   |
| 7                   | 44,049            | 0,03            | Этилизоаллохолат  |
| 8                   | 45,706            | 0,06            | 3,9-Эпоксипрегн-16-ен-20-он, 3-метокси-7,11,18-триацетокси-   |
| 9                   | 47,324            | 0,1             | 1H-Циклопропа[3,4]бенз[1,2-e]азулен-5,7b,9,9a-тетрол, 1a,1b,4,4a,5,7a,8,9-октигидро-3-(гидрокиметил)-1,1,6,8-тетраметил-, 5,9,9a-триацетат, [1aR-(1a. $\alpha$ ,1b. $\beta$ ,4a. $\beta$ ,5. $\beta$ ,7a. $\alpha$ ,7b. $\alpha$ ,8. $\alpha$ ,9. $\beta$ ,9a. $\alpha$ )]- |
| 10                  | 48,899            | 0,51            | $\gamma$ -ситостерол  |
| 11                  | 49,446            | 0,1             | $\alpha$ -амирин  |

Следует отметить, что количество неполярных компонентов, извлекаемых 96% этиловым спиртом в листьях аронии Мичурина, мало. На всех этапах сбора в сырье присутствовали сахар d-манноза, многоатомный спирт - 1,2,3,5-циклогексантетрол (1 $\alpha$ , 2 $\beta$ , 3 $\alpha$ , 5 $\beta$ )-, фитостерины  $\gamma$ -ситостерол, и  $\alpha$ -амирин. Прослеживается образование метаболитов в листьях аронии Мичурина на более поздних стадиях развития. Так многоатомный спирт d-маннитол, обнаруженный в листьях, собранных в мае, на последующих стадиях сбора сырья превращается в сорбитол. Сесквитерпеноид 2-Бутанон, 4-(2,6,6-триметил-1-циклогексен-1-ил)-, вероятно, является наиболее уникальным соединением, так как нами не было найдено литературных данных о его присутствии в других видах растительного сырья. Однако данное соединение встречается только на стадии полной зрелости плодов, что не позволяет использовать его для идентификации листьев аронии Мичурина на других фазах развития растения. Горький гликозид - D-амигдалин также можно отнести к маркерным соединениям листьев. Однако, его появление в сырье характерно только для стадии зрелости плодов (август), сохраняясь на стадии начала покраснения листьев. По данным литературы остальные соединения, обнаруженные в этанольных экстрактах из листьев аронии Мичурина, присутствуют также и в других растительных источниках.

Наибольшее количество соединений группы сахаров и стеридов характерно было для листьев фазы сбора III – фазы технической зрелости плодов, что обуславливается накоплением данных БАВ в процессе жизнедеятельности (рис. 2 и 3).

Максимальное количество стеридов установлено для периода сбора урожая (конец августа) и в сентябре (фаза покраснения листьев).

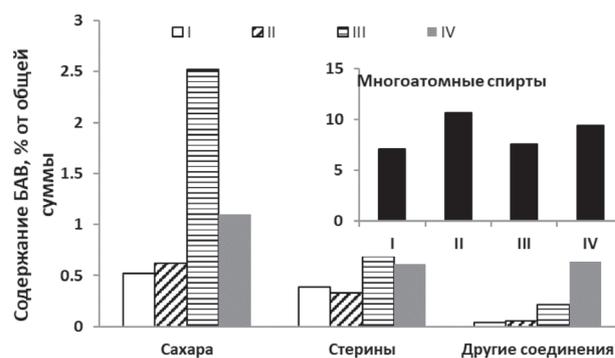


Рис. 2. Сравнительные данные по содержанию групп БАВ (%) в спиртовых извлечениях листьев аронии Мичурина различных фаз заготовки

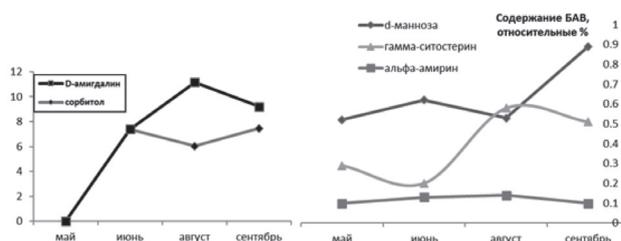


Рис. 3. Сравнительные данные по относительному содержанию отдельных БАВ (%) в спиртовых извлечениях листьев аронии Мичурина различных фаз заготовки

Манноза – распространенный в растительном сырье моносахарид, впервые выделенный из ясеня манного [15]. Полисахариды, содержащие остатки маннозы, встречаются в зеленых кофейных бобах, в красных и зеленых морских водорос-

лях, в лиственной и хвойной древесине, луковичах лилейных и т.д. [16-17].

В соответствии с литературными данными 1,2,3,5-Циклогексантетрол (1 $\alpha$ , 2 $\beta$ , 3 $\alpha$ , 5 $\beta$ )- содержится в траве стевии медовой [18], цветах каштана конского [19] плодах маклюры [20]. Z-(13,14-Эпоксид)тетрадек-11-ен-1-ол ацетат ранее был обнаружен в корнях женьшеня обыкновенного [21]. 3,9-Эпоксипрегн-16-ен-20-он, 3-метокси-7,11,18-триацетокси- выявлен в метанольном экстракте цикламены персидской [22].

Лотос орехоносный [23], тис китайский [24] содержат в своем составе 1Н-Циклопропа[3,4]бенз[1,2-е]азулен-5,7b,9,9a-тетрол, 1a,1b,4,4a,5,7a,8,9-октигидро-3-(гидроксиметил)-1,1,6,8-тетраметил-, 5,9,9a-триацетат, [1aR-(1a. $\alpha$ ., 1b. $\beta$ .,4a. $\beta$ .,5. $\beta$ .,7a. $\alpha$ .,7b. $\alpha$ .,8. $\alpha$ .,9. $\beta$ .,9a. $\alpha$ .)]-.

D-Амигдалин является типичным компонентом, характерным для представителей рода Розоцветные и, как правило, содержится только в семенах растений [25].

$\gamma$ -Ситостерол – фитостерин, который встречается в таких видах сырья, как клопогон вонючий [26], представителях рода Очанка [27], семенах фасоли обыкновенной [28], семенах амаранта печального [29], цветках и коре каштана конского [19].

$\alpha$ -амирин – сапонин, также характерный для таких видов растительного сырья как володушка козелецелистная [30], кора березы [31] мискантус [32], татарник колючий [33]. Согласно литературным данным, в дурмане обыкновенном [34], рисе посевном [35], табернемонтане родственной [36] выявлен этилизоаллохолат. Такое вещество, как бензил- $\beta$ -D-глюкозид выявлено, например, в цедронелле канарской [37].

Сорбитол является распространенным компонентом растительного сырья. Особенно им богаты плоды рябины обыкновенной [38]. Кроме того, он обнаружен и в плодах растений рябины черноплодной [39, 40].

d-Маннитол встречается в зеленых листьях, плодах, корнях, коре, семенах, соке древесных растений, например, в ясене обыкновенном [41, 42]. Оба сахароспирта, согласно литературным данным, являются активными метаболитами углеводного обмена растений, могут принимать участие в дыхании и степень их накопления в органах растений зависит от стадии развития растения [42]. Как показывает наше исследование, в процессе развития растительных органов маннитол может превращаться в сорбитол.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Впервые был проведен ГХ-МС-анализ спиртовых экстрактов листьев аронии Мичурина. Состав БАВ, извлекаемых 96% этиловым спиртом, на разных стадиях развития листьев варьируется. В извлечениях были идентифицированы от 6 до 11 веществ органической природы.

Наибольшее количество соединений группы сахаров и стероидов характерно было для листьев фазы сбора III – фазы технической зрелости плодов, что обуславливается накоплением данных БАВ в процессе жизнедеятельности.

На основании полученных результатов ГХ-МС анализа спиртового экстракта листьев аронии Мичурина как наиболее специфичные маркерные соединения, присутствующие в листьях на всем протяжении их развития, следует выделить 1,2,3,5-Циклогексантетрол (1 $\alpha$ , 2 $\beta$ , 3 $\alpha$ , 5 $\beta$ )-,  $\gamma$ -ситостерол и  $\alpha$ -амирин. Данные маркеры для нашего сырья не являются уникальными. Поэтому указанные вещества не могут быть рекомендованы для идентификации данного растительного сырья без использования дополнительных методов анализа.

Сесквитерпеноид 2-Бутанон,4-(2,6,6-триметил-1-циклогексен-1-ил)- и горький гликозид - D-амигдалин, вероятно, являются наиболее уникальными соединениями, так как нами не было найдено литературных данных об их присутствии в листьях других видов растительного сырья. Однако данные соединения встречается только на стадии полной зрелости плодов, что не позволяет использовать его для идентификации листьев аронии Мичурина на других фазах развития растения.

Присутствие малого числа специфичных маркеров при отсутствии уникальных на большинстве стадий заготовки сырья, свидетельствует о том, что ГХ-МС не может рассматриваться как единственный метод стандартизации листьев аронии Мичурина. Для получения достоверных результатов необходимы дополнительные методы исследования.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Куклина А.Г. Натурализация аронии Мичурина в лесах европейской части России / А.Г. Куклина // Лесохозяйственная информация. – 2015. - №2. – С.46-56.
2. Cveticanović A. Comparative in vitro studies of the biological potential and chemical composition of stems, leaves and berries Aronia melanocarpa's extracts obtained by subcritical water extraction /

A. Cvetanović, G. Zengin, Z. Zeković // Food and Chemical Toxicology. - 2018. - №121. - P. 458-466.

3. Брежнева Т.А. Изучение биологически активных веществ листьев рябины черноплодной / Т.А. Брежнева, Е.И. Недолужко, Е.Е. Логвинова, А.И. Сливкин // Вестник ВГУ. Серия Химия. Биология. Фармация. - №2. - 2018. - С. 306-311.

4. Пугачева О.В. Определение дубильных веществ в листьях рябины черноплодной различными аналитическими методами / О.В. Пугачева, Т.А. Брежнева, А.И. Сливкин // Сборник трудов седьмой научной конференции «Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения». - Москва : ВИЛАР, 2019. - С.292-298

5. Szopa A. Comparative analysis of different groups of phenolic compounds in fruit and leaf extracts of Aronia sp.: A. melanocarpa, A. arbutifolia, and A. ×prunifolia and their antioxidant activities / A. Szopa, A. Kokotkiewicz, P. Kubica, P. Banaszczak, A. Wojtanowska-Krośniak, M. Krośniak, U. Marzec-Wróblewska, A. Badura, P. Zagrodzki, A. Bucinski, M. Luczkiewicz, H. Ekiert // European Food Research and Technology. - 2017. -Vol.243. - P.1645-1657.

6. Пугачева О.В. Валидация методики количественного определения дубильных веществ в листьях рябины черноплодной / О.В. Пугачева, О.Л. Свиридова, Т.А. Брежнева, А.И. Сливкин // Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация. - 2022. - №1. - С. 98-104

7. Olivia N.U. Phytochemical profiling and GC-MS analysis of aqueous methanol fraction of Hibiscus asper leaves / N.U. Olivia, U.C. Goodness, O.M. Obinna // Futur J Pharm Sci. - 2021. - Vol. 59. - №7. Available at: <https://fjps.springeropen.com/articles/10.1186/s43094-021-00208-4> (дата обращения 23.02.2023)

8. Гладилович В.Д. Возможности применения метода гх-мс (обзор) / В.Д. Гладилович, Е.П. Подольская // Научное приборостроение. - 2010. - №4. - С. 36-49.

9. Жестовская Е.С. Исследование компонентного состава лекарственного растительного сырья методом газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием / Е.С. Жестовская, А.М. Антохин, В.Ф. Таранченко, С.В. Василевский, А.В. Аксенов // Химия растительного сырья. - 2018. - №3. - С. 149-157.

10. Разживин Р.В. Возможность применения специфических маркеров определенных видов лекарственного растительного сырья при анализе многокомпонентных растительных сборов и фиточаев / Р.В. Разживин, В.Ю. Решетняк, А.Н.

Кузьменко, О.В. Нестерова, В.А. Попков // Вестник Московского университета. Серия 2. Химия. - 2009. - Т.50. - №2. - С. 129-132.

11. Разживин Р.В. Применение хромато-масс-спектрометрии для изучения компонентного состава фармакопейных видов лекарственного растительного сырья / Р.В. Разживин, В.Ю. Решетняк, А.Н. Кузьменко, О.В. Нестерова, В.А. Попков // Вестник Московского университета. Серия 2. Химия. - 2009. - Т.50. - №1. - С.67-70.

12. Чистякова А.С. Исследование состава травы горца почечуйного методом газовой хромато-масс-спектрометрии / А.С. Чистякова, А.А. Гудкова, А.А. Сорокина, А.И. Сливкин // Научный результат. Медицина и фармация. - 2017. - Т.3. - №4. - С. 61-69.

13. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV издание. Режим доступа: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php> (дата обращения 10.07.2022).

14. Пугачева О.В. Определение экстрактивных веществ в листьях аронии Мичурина / Пугачева О.В., Панова К.Е., Брежнева Т.А., Сливкин А.И. // Биофармацевтический журнал. - 2023. - №4. - С.3-6.

15. Rushforth K. Trees of Britain and Europe. (Collins Wild Guide) / K. Rushforth. - Harpercollins Pub Ltd, 1999. - 1333 p.

16. Moreira L.R.S. An overview of mannan structure and mannan-degrading enzyme systems / L.R.S. Moreira, E.X.F. Filho // Applied Microbiology and Biotechnology. - 2008. - Vol. 79. - P. 165-178

17. Willför S. Characterisation of water-soluble galactoglucomannan from Norway spruce wood and thermomechanical pulp / S. Willför, R. Sjöholm, C. Laine, M. Roslund, J. Hemming, B. Holmbom // Carbohydrate Polymers. -2003. - V. 52. - P. 175-187.

18. Платонов В.В. Хромато-масс-спектрометрия спиртового экстракта маклюры / В.В. Платонов, А.А. Хадарцев, Л.И. Белозерова // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. - 2017. - №2. - С. 26-66.

19. Курченко В.П. Состав биологически активных веществ каштана конского (Aesculus hippocastanum L.) / В.П. Курченко, Н.В. Сушинская, К.И. Майорова, Е.И. Тарун, А.М. Бондарук, В.Г. Цыганков, С.А. Фатыхова, П.С. Шабуня // Экобиотех. - 2021. - Т. 4. - № 1. - С. 33-39.

20. Платонов В.В. Химический состав этанольного экстракта стевии (stevia rebaudiana - медовая трава, семейство хризантемовых) / В. В. Платонов, А.А. Хадарцев, Г.Т. Сухих, М.В. Во-

лочаева, И.В. Дунаева // Вестник новых медицинских технологий. – 2020. – Т. 27. - № 1. – С. 92-99.

21. Хадарцев А.А. Хромато-масс-спектрометрия спиртового экстракта каланхоэ перистого / А.А. Хадарцев, В.В. Платонов, Л.И. Белозерова // Вестник новых медицинских технологий. - 2017. - №4. – С. 11-24.

22. Israa A. Cyclamen persicum: Methanolic Extract Using Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) Technique / A. Israa, H. Imad., H. Haider // International Journal of Pharmaceutical Quality Assurance. – 2017. – N8. - P. 200-213

23. Abdelhamid M. S. GC-MS analysis of phytocomponents in the ethanolic extract of Nelumbo nucifera seeds from Russia / M. S. Abdelhamid, E. I. Kondratenko, N. A. Lomteva // Journal of Applied Pharmaceutical Science. 2015. - Vol. 5. - №4. - P. 115-118.

24. Hu Z. Chemical components and functions of Taxus chinensis extract / Z. Hu, J.-T. Chen, S.-C. Jiang, Z. Liu, S.-B. Ge, Z. Zhang // Journal of King Saud University – Science. – 2020. – Vol. 32, №2. – P. 1562-1568

25. Маняхин А.Ю. Амигдалин в плодах растений семейства Rosaceae, произрастающих в Приморье / А.Ю. Маняхин, В.М. Колдаев // Тихоокеанский медицинский журнал. - 2019. - №2. – С. 62-64.

26. Захарченко А.В. Исследование компонентного состава CO<sub>2</sub>-экстрактов клопогона вонючего (*Cimicifuga foetida* L.) методом хромато-масс-спектрометрии / А.В. Захарченко, Н.Г. Базарнова, Д.В. Минаков, Ю.А. Морозова, А.С. Орлова // Материалы Международной научно-практической онлайн конференции «Увалиевские чтения-2020» на тему «Актуальные вопросы развития науки и образования». – Усть-Каменогорск, 2020. – С. 329-333.

27. Кроткова О.А. Сравнительное изучение липофильных веществ растений рода *Euphrasia* L. / О. А. Кроткова, Т. В. Бомбела, В. М. Петриченко // Химия растительного сырья. -2014. - № 1. - С. 147-151

28. Самылина И.А. Фасоль обыкновенная / И.А. Самылина, А.А. Сорокина, Н.В. Пятигорская // Фарматека. – 2010. - №3. – С. 101-102.

29. Фурса Н.С. Хромато-масс-спектрометрический анализ компонентного состава этанольного извлечения семян сорта Воронежский амаранта печального до и после экстракции гексаном // Н.С. Фурса, А.А. Парфенов, Ю.А. Джурко, И.М. Коренская // Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2013. - №1. – С. 240-247

30. Петухова С. А. Тритерпеновые соединения надземных органов володушки козелецелист-

ной (*Vupleurum scorzonerifolium* Willd.) флоры Прибайкалья / С. А. Петухова, Д. Н. Оленников, В. М. Минович // Химия растительного сырья. - 2019. - № 4. - С. 215-222.

31. Фалеев Д.И. Скрининг и определение пентациклических тритерпеноидов в растительном сырье хроматографическими и масс-спектрометрическими методами : специальность 02.00.02 «Аналитическая химия»: диссертация на соискание ученой степени кандидата химических наук / Фалеев Даниил Иванович; ФГАОУ ВО «Северный (Арктический) федеральный университет имени М.В. Ломоносова» – Архангельск, 2020. – 123 с.

32. Слынько Н.М. Метод газовой хроматографии-масс-спектрометрии для таксономии мискантуса / Н.М. Слынько, Н.В. Бурмакина, О.М. Поцелуева, С.Ю. Капустянчик, Г.Ю. Галицын, Т.Н. Горячкова, Л.В. Куйбида, С.В. Шеховцов, С.Е. Пельтек, В.К. Шумный // Вавиловский журнал генетики и селекции. -2019. - № 23. – С.1076-1081.

33. Рыжов В.М. Исследование перспективы комплексной переработки надземной части татарника колючего *Oenothera macrantha* L. / В.М. Рыжов, А.С. Бельченко // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2014. – Т. 16. - №1. – С. 812 – 816.

34. Huda A. Analysis of alkaloid phytochemical compounds in the ethanolic extract of *Datura stramonium* and evaluation of antimicrobial activity / A. Huda, H. Imad, K. Muhanned // African journal of biotechnology. –2015. - N.14. – P. 1668-1674.

35. Malathi K. Ethyl Iso-allocholate from a Medicinal Rice *Karungkavuni* Inhibits Dihydropteroate Synthase in *Escherichia coli*: A Molecular Docking and Dynamics Study. / K. Malathi, A. Anand, S. Ramaiah // Indian Journal of Pharmaceutical Sciences. – 2016. – N.78. – P. 780–788.

36. Boligon A.A. Chemical composition and antioxidant activity of the essential oil of *Tabernaemontana catharinensis* A. DC. Leaves / A.A. Boligon, T.G. Schwanz, M. Piana, R.V. Bandeira, J.K. Frohlich, T.F. de Brum, M. Zadra, M.L. Athayde // Natural Product Research. – 2013. –Vol.27. - №1. – P. 68-71.

37. Coen M. Chavicol  $\beta$ -d-glucoside, a phenylpropanoid heteroside, benzyl- $\beta$ -d-glucoside and glycosidically bound volatiles from subspecies of *Cedronella canariensis* / M. Coen, R. Engel, A. Nahrstedt // Phytochemistry. – Vol. 40. - №1. – 1995. – P. 149-155.

38. Абидулина Р.Г. Биохимический состав плодов некоторых представителей рода *Sorbus* L.

коллекции южно-уральского ботанического сада / Р.Г. Абидуллина, К.А. Пупыкина, С.Г. Денисова, В.В. Пупыкина // Химия растительного сырья. - 2021. - №3. - С. 235-243

39. Елисеева Л.Г. Плоды аронии черноплодной – источник витаминно-минеральных комплексов / Елисеева Л.Г., Блинникова О.М. // Пищевая промышленность. -2013. -№4. - С. 28-29.

40. Щетилина И.П. Растительное сырье как источник физиологически функциональных пищевых ингредиентов: по материалам Воронежской области / И.П. Щетилина, Н.Н. Попова //

Russian Journal of Agricultural and Socio-Economic Sciences. - 2017. - №7. - С. 243-251.

41. Керимли Э.Г. D-маннитол из *Fraxinus excelsior* / Э.Г. Керимли, С.В. Серкеров // Химия растительного сырья. - 2016. - №1. - С. 191–194.

42. Федосеева Г.П. О распространении, физиологической функции и биосинтезе сахароспиртов у высших растений / Г.П. Федосеева, Н.И. Завадовская // Материалы по экологии и физиологии растений Уральской флоры - Свердловск: УрГУ, 1976. - С.124-131.

*Воронежский государственный университет*

*\*Пугачева Ольга Валериевна., преподаватель кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии*

*E-mail: pugachevaov1@yandex.ru*

*Voronezh State University*

*\*Pugacheva Olga V., assistant professor, dept. of pharmaceutical chemistry and pharmaceutical technology*

*E-mail: pugachevaov1@yandex.ru*

*Тринева Ольга Валерьевна., д.фарм.н., профессор кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии*

*E-mail: trineevaov@mail.ru*

*Trineeva Olga V., PhD., DSci., full professor, Dept. of pharmaceutical chemistry and pharmaceutical technology*

*E-Mail: trineevaov@mail.ru*

*Сливкин Алексей Иванович. д.фарм.н., проф., зав. кафедрой фармацевтической химии и фармацевтической технологии*

*E-mail: slivkin@pharm.vsu.ru*

*Slivkin Alexey I., PhD., DSci., full professor, professor, Head of the pharmaceutical chemistry and pharmaceutical technology dept.*

*E-mail: slivkin@pharm.vsu.ru*

## **STUDY OF THE COMPOSITION OF ARONIA MICHURINA LEAVES BY GAS CHROMATOGRAPHY-MASS SPECTROMETRY**

**O.V. Pugacheva, O.V. Trineeva, A.I. Slivkin**

*Voronezh State University*

**Abstract.** Gas chromatography with mass spectrometric detector (GC-MS) is widely used for the qualitative and quantitative analysis of substances in pharmacy. This method can identify biomarker compounds of plant raw materials, which can be classified as unique, specific and non-specific. Knowing the composition of the marker compounds, the GC-MS method can be used for the identification of plant raw materials.

The aim of the study was to investigate the component composition of Michurin's chokeberry leaves as a potential source of biologically active substances, as well as the dynamics of their accumulation by GC-MS method.

The object was dried leaves of Michurin's chokeberry at four phases of plant growth, harvested in 2021 in the Tambov region. Alcohol extracts of the leaves were analysed by gas chromatography-mass spectrometry.

As a result of the study, mass spectra of alcohol extracts from chokeberry leaves harvested in different phases of vegetation of the plant were obtained, containing from 6 to 11 substances of organic nature.

The highest amount of compounds of the group of sugars and sterols was characteristic for leaves of harvesting phase III - the phase of technical maturity of fruits

The sesquiterpenoid 2-Butanone, 4-(2,6,6-trimethyl-1-cyclohexen-1-yl)- and bitter glycoside - D-amygdalin are probably the most unique compounds. However, these compounds are only found at the stage of full fruit maturity, which prevents its use for identification at other phases of plant development.

As the most specific marker compounds present in leaves throughout their development, 1,2,3,5-Cyclohexantetrol (1 $\alpha$ , 2 $\beta$ , 3 $\alpha$ , 5 $\beta$ )-,  $\gamma$ -sitosterol and  $\alpha$ -amyrin should be identified. These markers are not unique to our raw materials. Therefore, these substances cannot be recommended for the identification of these plant raw materials without the use of additional analytical methods.

**Keywords:** aronia Michurina leaves, Gas chromatography–mass spectrometry, GC-MS, biomarker compounds.

## REFERENCES

1. Kuklina A.G. Naturalizatsiya aronii Michurina v lesakh evropeiskoi chasti Rossii / A.G. Kuklina // Forestry Information. – 2015. - № 2. - P. 46-56.
2. Cvetanović A. Comparative in vitro studies of the biological potential and chemical composition of stems, leaves and berries Aronia melanocarpa's extracts obtained by subcritical water extraction / A. Cvetanović, G. Zengin, Z. Zeković // Food and Chemical Toxicology. - 2018. – №121. - P. 458-466.
3. Brezhneva T.A. Izuchenie biologicheski aktivnykh veshchestv list'ev ryabiny chernoplodnoi / T.A. Brezhneva, E.I. Nedoluzhko, E.E. Logvinova, A.I. Slivkin // Bulletin of VSU, series: Chemistry. Biology. Pharmacy. – 2018. - №2. - P. 306-311.
4. Pugacheva O.V. Opredelenie dubil'nykh veshchestv v list'yakh ryabiny chernoplodnoi razlichnymi analiticheskimi metodami / O.V. Pugacheva, T.A. Brezhneva, A.I. Slivkin // Sbornik trudov sed'moi nauchnoi konferentsii «Sovremennye tendentsii razvitiya tekhnologii zdorov'esberezheniya». – Moskva : VILAR, 2019 – P. 292-298.
5. Szopa A. Comparative analysis of different groups of phenolic compounds in fruit and leaf extracts of Aronia sp.: A. melanocarpa, A. arbutifolia, and A. ×prunifolia and their antioxidant activities / A. Szopa, A. Kokotkiewicz, P. Kubica, P. Banaszczak, A. Wojtanowska-Krośniak, M. Krośniak, U. Marzec-Wróblewska, A. Badura, P. Zagrodzki, A. Bucinski, M. Luczkiewicz, H. Ekiert // European Food Research and Technology. – 2017. -Vol.243. – P.1645–1657.
6. Pugacheva O.V. Validatsiya metodiki kolichestvennogo opredeleniya dubil'nykh veshchestv v list'yakh ryabiny chernoplodnoi / O.V. Pugacheva, O.L. Sviridova, T.A. Brezhneva, A.I. Slivkin // Vestnik VGU. Seriya: Khimiya. Biologiya. Farmatsiya. - 2022. - №1. - P. 98-104
7. Olivia N.U. Phytochemical profiling and GC-MS analysis of aqueous methanol fraction of Hibiscus asper leaves / N.U. Olivia, U.C. Goodness, O.M. Obinna // Futur J Pharm Sci. - 2021. - Vol. 59. - №7. Available at: <https://fjps.springeropen.com/articles/10.1186/s43094-021-00208-4> (дата обращения 23.02.2023)
8. Gladilovich V.D. Vozmozhnosti primeneniya metoda gkh-ms (obzor) / V.D. Gladilovich, E.P. Podol'skaya // Nauchnoe priborostroenie. - 2010. - №4. - P. 36-49.
9. Zhestovskaya E.S. Issledovanie komponentnogo sostava lekarstvennogo rastitel'nogo syr'ya metodom gazovoi khromatografii s mass-spektrometricheskimi detektirovaniem / E.S. Zhestovskaya, A.M. Antokhin, V.F. Tarancheko, S.V. Vasilevskii, A.V. Aksenov // Khimiya rastitel'nogo syr'ya. - 2018. - №3. - P. 149-157.
10. Razzhivin R.V. Vozmozhnost' primeneniya spetsificheskikh markerov opredelennykh vidov lekarstvennogo rastitel'nogo syr'ya pri analize mnogokomponentnykh rastitel'nykh sborov i fitochaev / R.V. Razzhivin, V.Yu. Reshetnyak, A.N. Kuz'menko, O.V. Nesterova, V.A. Popkov // Vestnik Moskovskogo universiteta. Seriya 2. Khimiya. - 2009. - T.50. - №2. - P. 129-132.
11. Razzhivin R.V. Primenenie khromatogrammi dlya izucheniya komponentnogo sostava farmakopeinykh vidov lekarstvennogo rastitel'nogo syr'ya / R.V. Razzhivin, V.Yu. Reshetnyak, A.N. Kuz'menko, O.V. Nesterova, V.A. Popkov // Vestnik Moskovskogo universiteta. Seriya 2. Khimiya. - 2009. - T.50. - №1. - P.67-70.
12. Chistyakova A.S. Issledovanie sostava travy gortsya pochechuinogo metodom gazovoi khromatogrammi s mass-spektrometrii / A.S. Chistyakova, A.A. Gudkova, A.A. Sorokina, A.I. Slivkin // Nauchnyi rezul'tat. Meditsina i farmatsiya. - 2017. - T.3. - №4. - P. 61-69.
13. Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiiskoi Federatsii. XIV izdanie. Available at: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php> (accessed 10 July 2022).
14. Pugacheva O.V. Opredelenie ekstraktivnykh veshchestv v list'yakh aronii Michurina / Pugacheva O.V., Panova K.E., Brezhneva T.A., Slivkin A.I. // Biofarmatsevticheskii zhurnal. – 2023. - №4. – P. 3-6.

15. Rushforth K. Trees of Britain and Europe. (Collins Wild Guide) / K. Rushforth. - Harpercollins Pub Ltd, 1999. – 1333 p.
16. Moreira L.R.S. An overview of mannan structure and mannandegrading enzyme systems / L.R.S. Moreira, E.X.F. Filho // Applied Microbiology and Biotechnology. – 2008. – Vol. 79. – P. 165–178.
17. Willför S. Characterisation of water-soluble galactoglucomannan from Norway spruce wood and thermomechanical pulp / S. Willför, R. Sjöholm, C. Laine, M. Roslund, J. Hemming, B. Holmbom // Carbohydrate Polymers. – 2003. – V. 52. – P. 175–187.
18. Platonov V.V. Khromato-mass-spektrometriya spirtovogo ekstrakta maklyury / V.V. Platonov, A.A. Khadartsev, L.I. Belozeroва // Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologii. Elektronnoe izdanie. – 2017. - №2. - P. 26-66.
19. Kurchenko V.P. Sostav biologicheskii aktivnykh veshchestv kashtana konskogo (*Aeculus hippocastanum* L.) / V.P. Kurchenko, N.V. Sushinskaya, K.I. Maiorova, E.I. Tarun, A.M. Bondaruk, V.G. Tsygankov, S.A. Fatykhova, P.S. Shabunya // Ekobiotekh. – 2021. – T. 4. - № 1. - P. 33-39.
20. Platonov V.V., Khadartsev A.A., Belozeroва L.I., Bulletin of new medical technologies, 2017, №2, pp. 26-66.
21. Khadartsev A.A. Khromato-mass-spektrometriya spirtovogo ekstrakta kalankhoe peristogo / A.A. Khadartsev, V.V. Platonov, L.I. Belozeroва // Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologii. - 2017. - №4. – P. 11-24.
22. Israa A. Cyclamen persicum: Methanolic Extract Using Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) Technique / A. Israa, H. Imad., H. Haider // International Journal of Pharmaceutical Quality Assurance. – 2017. – N8. - P. 200-213
23. Abdelhamid M. S. GC-MS analysis of phytocomponents in the ethanolic extract of *Nelumbo nucifera* seeds from Russia / M. S. Abdelhamid, E. I. Kondratenko, N. A. Lomteva // Journal of Applied Pharmaceutical Science. 2015. - Vol. 5. - №4. - P. 115-118.
24. Hu Z. Chemical components and functions of *Taxus chinensis* extract / Z. Hu, J.-T. Chen, S.-C. Jiang, Z. Liu, S.-B. Ge, Z. Zhang // Journal of King Saud University – Science. – 2020. – Vol. 32, №2. – P. 1562-1568.
25. Manyakhin A.Yu. Amigdalinalin v plodakh rastenii semeistva Rosaceae, proizrastayushchikh v Primor'e / A.Yu. Manyakhin, V.M. Koldaev // Tikhookeanskii meditsinskii zhurnal. - 2019. - №2. – P. 62-64.
26. Zakharchenko A.V. Issledovanie komponentnogo sostava SO<sub>2</sub>-ekstraktov klopogona vonyuchego (*Cimicifuga foetida* L.) metodom khromato-mass-spektrometrii / A.V. Zakharchenko, N.G. Bazarnova, D.V. Minakov, Yu.A. Morozova, A.S. Orlova // Materialy Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi onlain konferentsii «Uvalievskie chteniya-2020» na temu «Aktual'nye voprosy razvitiya nauki i obrazovaniya». – Ust'-Kamenogorsk, 2020. – P. 329-333.
27. Krotkova O.A. Sravnitel'noe izuchenie lipofil'nykh veshchestv rastenii roda *Euphrasia* L. / O. A. Krotkova, T. V. Bombela, V. M. Petrichenko // Khimiya rastitel'nogo syr'ya. -2014. - № 1. - P. 147-151.
28. Samylina I.A. Fasol' obyknovennaya / I.A. Samylina, A.A. Sorokina, N.V. Pyatigorskaya // Farmateka. – 2010. - №3. – P. 101-102.
29. Fursa N.S. Khromato-mass-spektrometricheskii analiz komponentnogo sostava etanol'nogo izvlecheniya semyan sorta Voronezhskii amaranta pechal'nogo do i posle ekstraktsii geksanom // N.S. Fursa, A.A. Parfenov, Yu.A. Dzhurko, I.M. Korenskaya // Vestnik VGU. Seriya: Khimiya. Biologiya. Farmatsiya. – 2013. - №1. – P. 240-247.
30. Petukhova S. A. Triterpenovye soedineniya nadzemnykh organov volodushki koezletselistnoi (*Bupleurum scorzonerifolium* Willd.) flory Pribaikal'ya / S.A. Petukhova, D.N. Olennikov, V.M. Mirovich // Khimiya rastitel'nogo syr'ya. - 2019. - № 4. - P. 215-222.
31. Faleev D.I. Skringing i opredelenie pentatsiklicheskih triterpinoidov v rastitel'nom syr'e khromatograficheskimi i mass-spektrometricheskimi metodami : spetsial'nost' 02.00.02 «Analiticheskaya khimiya» : dissertatsiya na soiskanie uchenoj stepeni kandidata khimicheskikh nauk / Faleev Daniil Ivanovich; FGAOU VO «Severnyi (Arkticheskii) federal'nyi universitet imeni M.V. Lomonosova» – Arkhangel'sk, 2020. – 123 p.
32. Slyn'ko N.M. Metod gazovoi khromatografii-mass-spektrometrii dlya taksonomii miskantusa / N.M. Slyn'ko, N.V. Burmakina, O.M. Potselueva, S.Yu. Kapustyanchik, G.Yu. Galitsyn, T.N. Goryachkovskaya, L.V. Kuibida, S.V. Shekhovtsov, S.E. Pel'tek, V.K. Shumnyi // Vavilovskii zhurnal genetiki i selektsii. -2019. - № 23. – S.1076-1081.
33. Ryzhov V.M. Issledovanie perspektivy kompleksnoi pererabotki nadzemnoi chasti tatarnika kolyuchego *Onopordumacantium* L. / V.M. Ryzhov, A.S. Bel'chenko // Izvestiya Samarskogo nauchnogo tsentra Rossiiskoi akademii nauk. – 2014. – T. 16. - №1. – P. 812 – 816.
34. Huda A. Analysis of alkaloid phytochemical compounds in the ethanolic extract of *Datura*

stramonium and evaluation of antimicrobial activity / A. Huda, H. Imad, K. Muhanned // African journal of biotechnology. –2015. - N.14. – P. 1668-1674.

35. Malathi K. Ethyl Iso-allocholate from a Medicinal Rice Karungkavuni Inhibits Dihydropteroate Synthase in Escherichia coli: A Molecular Docking and Dynamics Study. / K. Malathi, A. Anand, S. Ramaiah // Indian Journal of Pharmaceutical Sciences. – 2016. – N.78. – P. 780–788.

36. Boligon A.A. Chemical composition and antioxidant activity of the essential oil of Tabernaemontana catharinensis A. DC. Leaves / A.A. Boligon, T.G. Schwanz, M. Piana, R.V. Bandeira, J.K. Frohlich, T.F. de Brum, M. Zadra, M.L. Athayde // Natural Product Research. – 2013. –Vol.27. - №1. – P. 68-71.

37. Coen M. Chavicol  $\beta$ -d-glucoside, a phenylpropanoid heteroside, benzyl- $\beta$ -d-glucoside and glycosidically bound volatiles from subspecies of Cedronella canariensis / M. Coen, R. Engel, A. Nahrstedt // Phytochemistry. – Vol. 40. - №1. – 1995. – P. 149-155.

38. Abidullina R.G. Biokhimicheskii sostav plodov nekotorykh predstavitelei roda Sorbus L. kolleksii yuzhno-ural'skogo botanicheskogo sada / R.G. Abidullina, K.A. Pupykina, S.G. Denisova, V.V. Pupykina // Khimiya rastitel'nogo syr'ya. - 2021. - №3. - P. 235-243.

39. Eliseeva L.G. Plody aronii chernoplodnoi – istochnik vitaminno-mineral'nykh kompleksov / Eliseeva L.G., Blinnikova O.M.// Pishchevaya promyshlennost'. -2013. -№4. - P. 28-29.

40. Shchetilina I.P. Rastitel'noe syr'e kak istochnik fiziologicheskii funktsional'nykh pishchevykh ingredientov: po materialam Voronezhskoi oblasti / I.P. Shchetilina, N.N. Popova // Russian Journal of Agricultural and Socio-Economic Sciences. - 2017. - №7. - P. 243-251.

41. Kerimli E.G. D-mannitol iz Fraxinus excelsior / E.G. Kerimli, S.V. Serkerov // Khimiya rastitel'nogo syr'ya. - 2016. - №1. - P. 191–194.

42. Fedoseeva G.P. O rasprostranении, fiziologicheskoi funktsii i biosinteze sakharospirtov u vysshikh rastenii / G.P. Fedoseeva, N.I. Zavadovskaya // Materialy po ekologii i fiziologii rastenii Ural'skoi flory - Sverdlovsk: UrGU, 1976. - P.124-131.