



Оригинальная статья/Research article

Сравнительная характеристика определения антиоксидантной активности плодов облепихи крушиновидной различными методами

О. В. Тринева^{1*}

1 – ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет», 394006, Россия, г. Воронеж, Университетская пл., 1

*Контактное лицо: Тринева Ольга Валерьевна. E-mail: trineevaov@mail.ru

Статья получена: 28.08.2019. Статья принята к печати: 13.11.2019

Резюме

Введение. В последнее время первичной оценке фармакологического эффекта различных препаратов с использованием тестов *in vivo* и *in vitro* в литературе уделяется большое внимание. Известно, что такое лекарственное растение, как облепиха крушиновидная, по своему фитохимическому составу богата природными антиоксидантами: каротиноиды, токоферолы, флавоноиды, аскорбиновая кислота и др. В отдельных публикациях имеются сведения об антиоксидантной активности плодов облепихи крушиновидной и жирного масла на их основе. Однако, информации о сравнительной характеристике применения различных методов для определения антиоксидантной активности данного вида лекарственного растительного сырья и полученных результатов, в научной литературе не обнаружено.

Цель. Целью настоящей работы являлось сравнительное определение антиоксидантной активности лекарственного растительного сырья плодов облепихи крушиновидной различными методами.

Материалы и методы. Определена суммарная антиоксидантная активность водных и водно-спиртовых извлечений из плодов облепихи крушиновидной с использованием различных методик, рекомендуемых в литературе. Антиоксидантную активность извлечений определяли методом перманганатометрического титрования, методом ингибирования аутоокисления адреналина *in vitro*, а также на биологической модели – культуре клеток *Parametium caudatum*.

Результаты и обсуждение. Исследовано влияние полярности экстрагента на величину антиоксидантной активности. Установлено, что наибольшее содержание антиоксидантов в извлечении наблюдается при использовании 96 % этанола в качестве экстрагента.

Заключение. При помощи трех методов показана перспективность использования плодов облепихи крушиновидной и препаратов на их основе в качестве источника антиоксидантов.

Ключевые слова: облепиха крушиновидная, антиоксидантная активность.

Конфликт интересов: конфликта интересов нет.

Вклад авторов. Автор осуществлял заготовку образцов. Автором проведены исследования антиоксидантной активности извлечений из плодов облепихи крушиновидной методами перманганатометрического титрования, прямой спектрофотометрии и на модели живой клетки – *Parametium caudatum*. Автором произведены теоретические расчеты и статистическая обработка результатов эксперимента. Автор написал текст статьи, в том числе и обсуждение результатов, а также построил все рисунки и графики, отражающие основные результаты работы.

Для цитирования: Тринева О. В. Сравнительная характеристика определения антиоксидантной активности плодов облепихи крушиновидной различными методами. *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2019; 8(4): 48–52.

Comparative Characteristics of Determination of Antioxidant Activity of Sea Buckthorn Fruits by Various Methods

Olga V. Trineeva^{1*}

1 – Voronezh State University, 1, University Square, Voronezh, 394006, Russia

*Corresponding author: Olga V. Trineeva. E-mail: trineevaov@mail.ru

Received: 28.08.2019. Accepted: 13.11.2019

Abstract

Introduction. Recently, much attention has been paid to the primary assessment of the pharmacological effect of various drugs using *in vivo* and *in vitro* tests. It is known that such a medicinal plant as sea buckthorn, in its phytochemical composition is rich in natural antioxidants: carotenoids, tocopherols, flavonoids, ascorbic acid, etc. In some publications there is information about the antioxidant activity of sea buckthorn and fatty oil based on them. However, information on the comparative characteristics of the use of various methods for determining the antioxidant activity of this type of medicinal plant material and the results obtained are not found in the scientific literature.

Aim. The aim of this work was a comparative determination of the antioxidant activity of medicinal plant material of buckthorn fruits of various species of buckthorn.

Materials and methods. The total antioxidant activity of water and water-alcohol extracts from the fruits of sea buckthorn fruits was determined using various techniques recommended in the literature. The antioxidant activity of the extracts was determined by permanganometric titration, *in vitro* inhibition of adrenaline autooxidation, and also in a biological model, *Parametium caudatum* cell culture.

Results and discussion. The effect of the extractant polarity on the value of antioxidant activity was studied. It was found that the highest content of antioxidants in the extraction is observed when using 96 % ethanol as an extractant.

Conclusion. Using three methods, the prospects of using sea buckthorn fruits and preparations based on them as a source of antioxidants are shown.

Keywords: Sea buckthorn, antioxidant activity.

© Тринева О. В., 2019

© Trineeva O. V., 2019

Conflict of interest: no conflict of interest.

Contribution of the authors. The author procured samples. The author studies the antioxidant activity of extracts from sea buckthorn fruits by methods of permanganatometric titration, direct spectrophotometry and on a living cell model – *Paramecium caudatum*. The author made theoretical calculations and statistical processing of the experimental results. The author wrote the text of the article, including a discussion of the results, and also built all the drawings and graphs that reflect the main results of the work.

For citation: Trineeva O. V. Comparative characteristics of determination of antioxidant activity of sea buckthorn fruits by various methods. *Drug development & registration*. 2019; 8(4): 48–52.

ВВЕДЕНИЕ

В последнее время первичной оценке фармакологического эффекта различных препаратов с использованием тестов *in vivo* и *in vitro* в литературе уделяется большое внимание. Большой интерес к определению антиоксидантной активности (АОА) лекарственных препаратов, в том числе фитопрепаратов, лекарственного растительного сырья (ЛРС) и входящих в их состав биологически активных веществ (БАВ). Основные природные антиоксиданты (АО) – это витамины Е и С, каротиноиды, флавоноиды, ароматические оксикислоты, антоцианы и др. Особую значимость представляют биофлавоноиды, обладающие антиканцерогенными, антисклеротическими, противовоспалительными и антиаллергическими свойствами. Биофлавоноиды по антиоксидантной активности в десятки раз превосходят витамины С и Е. Известно, что такое широко известное лекарственное растение, как облепиха крушиновидная, по своему фитохимическому составу богата природными АО: токоферолы, флавоноиды, каротиноиды, аскорбиновая кислота и др. [1, 2]. В отдельных публикациях имеются сведения об АОА плодов облепихи крушиновидной и жирного масла на их основе [3, 4]. Однако, информации о сравнительной характеристике применения различных методов для определения АОА данного вида ЛРС и полученных результатов, в научной литературе не обнаружено.

Целью настоящей работы являлось сравнительное определение антиоксидантной активности лекарственного растительного сырья облепихи крушиновидной различными методами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Сырьем служили собранные на территории Воронежской области в период полного созревания плоды дикорастущего кустарника облепихи крушиновидной (*Hippophaë rhamnoides* L.) из сем. лоховых (*Elaeagnaceae*). Извлечения готовили путем нагревания ЛРС с экстрагентом в соотношении 1,5:100 на водяной бане с обратным холодильником в течение 20 минут. Полученные извлечения декантировали с остатка сырья и фильтровали через бумажный фильтр, отбрасывая первые порции фильтрата. Для оценки влияния полярности экстрагента на АОА получаемого извлечения, использовали воду, 40 %, 70 % и 96 % этиловый спирт. Полученные извлечения представляет собой сложную смесь биологически активных веществ, а так-

же сопутствующих компонентов, извлекаемых из сырья в ходе экстракции.

По данным литературы, самыми широко используемыми методами для определения АОА являются спектральные, самыми простыми и доступными – титриметрические, а наиболее близкими к оценке действия на макроорганизм – биологические [5–15], что обусловило выбор методов ведения эксперимента. АОА, во-первых, определяли титриметрически по методике, разработанной Т. В. Максимовой с соавторами [16]. В качестве растворов сравнения использовали такие известные АО, как кверцетин и рутин. Суммарную АОА (мг/г), соответствующую содержанию БАВ восстанавливающего характера в пересчете на указанные АО, рассчитывали по известной формуле [16].

АОА извлечений, во-вторых, изучали по их способности ингибировать аутоокисление адреналина *in vitro* и тем самым предотвращать образование активных форм кислорода [17]. Анализ проводили по известной методике, выражая результат в процентах ингибирования аутоокисления адреналина. Величина АОА > 10 % свидетельствует о наличии АОА.

Культура клеток *Paramecium caudatum* была также использована в качестве биологической модели для определения антиоксидантного (регулирующего перекисное окисление липидов) действия водных извлечений из изучаемого ЛРС [18]. Извлечения готовили по типу отваров в соответствии с требованиями ОФС ГФ РФ «Настои и отвары» [19, 20]. Из нескольких существующих методик нами был выбран «Метод разрешающего воздействия» с использованием культуры инфузорий *Paramecium caudatum*. Определение проводили по известной методике [18]. В качестве разрешающего фактора использовали 3 % раствор водорода пероксида, вызывающего 100%-ую гибель клеток в течение 5 минут. В работе использовали культуру инфузорий, содержащую в экспоненциальной фазе не менее 2500–3000 особей в мл среды, а в стационарной не менее 6500–7500 особей [18].

Статистическую обработку результатов проводили по ОФС ГФ РФ XIV изд. «Статистическая обработка результатов химического эксперимента» [20].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты определения АОА водных и водно-спиртовых извлечений из плодов облепихи крушиновидной по методике перманганатометрического тит-

рования представлены на рисунке 1. Установлено, что наибольшей АОА обладают извлечения, полученные с применением 96 % этанола. Результаты статистической обработки экспериментально полученных данных приведены в таблице 1.

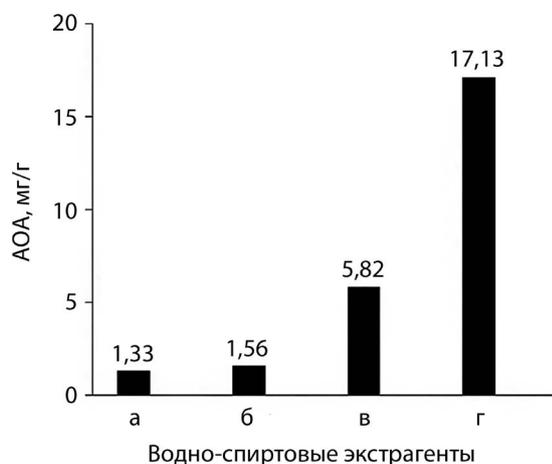


Рисунок 1. Значение показателя АОА извлечения из свежих плодов облепихи, полученных с использованием различных экстрагентов: а – вода; б – 40 % этанол; в – 70 % этанол; г – 96 % этанол (в пересчете на кверцетин, мг/г)

Figure 1. The value of the AOA indicator of extraction from fresh fruits of sea buckthorn obtained using various extractants: a – water; b – 40 % ethanol; c – 70 % ethanol; g – 96 % ethanol (in terms of quercetin, mg/g)

Таблица 1. Метрологическая характеристика метода анализа (P = 95 %; n = 5)

Table 1. Metrological characteristics of the analysis method (P = 95 %; n = 5)

f	x_{cp}	S^2	S	Sx_{cp}	$t(P, t)$	Δx	Δx_{cp}	$\varepsilon, \%$	$\varepsilon_{cp}, \%$
4	17,13	0,00212	0,104	0,046	2,78	0,289	0,1302	1,69	0,76

На рисунке 2 представлено сравнение результатов собственных исследований по определению АОА плодов облепихи крушиновидной с литературными данными по АОА плодов черники, определённой по аналогичной методике [9]. Полученные данные указывают на достаточно высокое содержание АО флавоноидной структуры и свидетельствуют о перспективности использования плодов облепихи и лекарственных препаратов на её основе в качестве антиоксидантных средств.

Несомненными достоинствами метода являются простота выполнения, экспрессность, доступность, малая ошибка определения и минимальная стоимость одного анализа, так как отсутствует необходимость использования специального дорогостоящего оборудования. Недостатком данной методики, основанной на окислении веществ-антиоксидантов перманганатом калия в кислой среде, является то, что способ позволяет определить только суммарное количественное содержание всех веществ, обладающих АОА в пересчете чаще всего на рутин, кверцетин, галловую и аскорби-

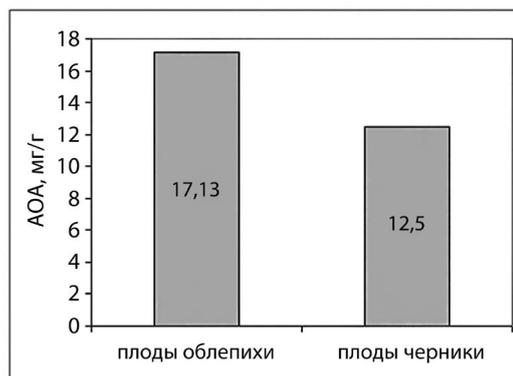


Рисунок 2. Значения показателя АОА в пересчёте на кверцетин, мг/г

Figure 2. AOA values in terms of quercetin, mg/g

новую кислоты, а также пирокатехин, но не дифференцировать их по группам [5]. Данный метод, однако, широко используется многими исследователями и может быть применен для первичной оценки АОА растительных объектов.

В работе также использован метод оценки АОА на начальных этапах свободнорадикального окисления по ингибированию супероксидадикала в реакции аутоокисления адреналина в щелочной среде при длине волны 347 нм [5, 17]. Величина АОА извлечения из свежих плодов облепихи крушиновидной, полученного с применением 96 % этанола, определенная указанным способом, составила 53,86 %, что свидетельствует о наличии АОА (рисунок 3).

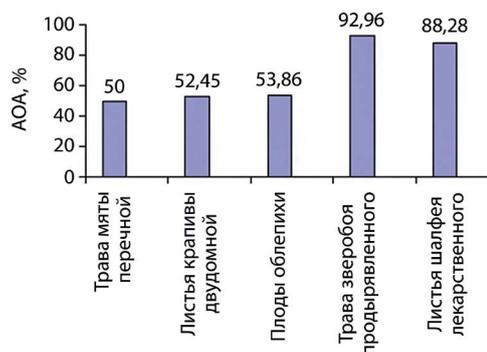


Рисунок 3. Значения АОА различных растительных объектов

Figure 3. AOA values of various plant objects

Зависимость D_{347} от времени реакции аутоокисления адреналина в отсутствие (1) и в присутствии извлечения из плодов облепихи (2) представлена на рисунке 4.

В методике с использованием адреналина не указывается точное время, через которое следует измерять оптическую плотность испытуемого раствора, что затрудняет ее применение для стандартизации и

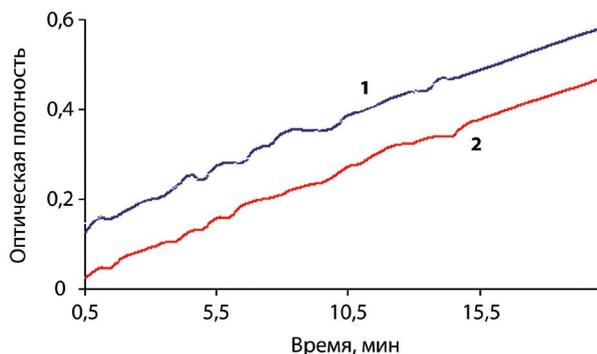


Рисунок 4. Зависимость D_{347} от времени реакции аутоокисления адреналина в отсутствии (1) и в присутствии извлечения из плодов облепихи (2)

Figure 4. The dependence of D_{347} on the reaction time of the autooxidation of adrenaline in the absence (1) and in the presence of extract from sea buckthorn fruits (2)

оценки качества плодов облепихи. Результаты расчета АОА извлечения из свежих плодов облепихи в зависимости от времени определения D_{347} представлены в таблице 2.

Таблица 2. Значение АОА извлечения из свежих плодов облепихи в зависимости от времени определения

Table 2. The value of АОА extraction from fresh fruits of sea buckthorn, depending on the time of determination

№ п/п	Время, мин	АОА, %
1	0,5	80,33
2	3	53,83
3	5	44,93
4	7	36,52
5	10	30,63
6	15	21,83
7	20	19,24

Данные таблицы 2 свидетельствуют о постепенном снижении значения АОА извлечения с течением времени, что связано с участием антиоксидантов в активном торможении свободнорадикального окисления, в результате происходит снижение их активности.

Полученные данные, в сравнении с другими известными источниками АО (рисунок 3), свидетельствует о перспективности использования данного вида ЛРС и препаратов на его основе в практической медицине в качестве источника АО.

Однако следует отметить, что, наряду с положительными моментами (доступность и экспрессность), данный метод имеет и недостатки. Результаты, полученные в разное время экспозиции, сильно разнятся между собой, что обуславливает большую ошибку определения.

Оценку антиоксидантного действия исследуемого объекта биологическим методом, проводили в соответствии со значениями индекса биологической активности (рисунок 5). Анализируя полученные данные, можно отметить, что отвар плодов облепихи крушиновидной проявляет активность в концентрациях от

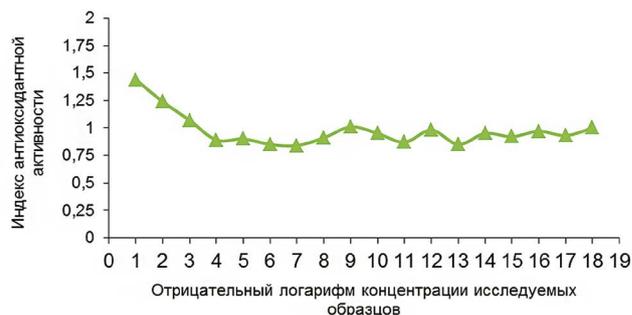


Рисунок 5. Зависимость индекса антиоксидантной активности* отвара плодов облепихи крушиновидной от концентрации в растворе

*IBA от 1.000 + 0.100 объект активностью не обладает; IBA > 1.000 + 0.100 объект повышает жизнеспособность клеток; IBA < 1.000 объект снижает жизнеспособность клеток

Figure 5. The dependence of the antioxidant activity index* decoction of fruits of sea buckthorn buckthorn from concentration in solution

*IBA from 1.000 + 0.100 the object does not have activity; IBA > 1.000 + 0.100 object increases cell viability; IBA < 1,000 object reduces cell viability

$1 \cdot 10^{-1} - 1 \cdot 10^{-3}$, повышая устойчивость клеток к воздействию процессов свободнорадикального окисления примерно на 20–30 %.

Основным достоинством данного метода, наряду с доступностью и минимальной стоимостью одного анализа, является использование живой культуры инфузорий (тест *in vivo*), что дает возможность ожидать максимальной корреляции полученных результатов с действием исследуемых объектов на более сложно устроенные многоклеточные биологические организмы. Сущность метода заключается в выявлении характера действия исследуемого вещества на механизмы адаптации и резистентности клетки на воздействие на нее разрешающего внешнего неблагоприятного фактора. Однако, к недостаткам следует отнести трудоемкость и длительность данной методики, а также первичность получаемых результатов, требующих дополнительных исследований.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, определена суммарная АОА водных и водно-спиртовых извлечений из плодов облепихи крушиновидной с использованием различных методик. Установлено, что наибольшее содержание АО в извлечении наблюдается при использовании 96% этанола в качестве экстрагента. Исследовано влияние полярности экстрагента на значение суммарной АОА полученных извлечений. Выявлена обратно пропорциональная зависимость величины АОА от полярности экстрагента. При помощи трех методов показана перспективность использования плодов облепихи крушиновидной и препаратов на их основе в качестве источника АО. Полученные данные, несомненно, открывают новые возможности применения давно из-

вестного растения и подтверждают целесообразность и перспективность его использования для получения новых лекарственных форм.

ЛИТЕРАТУРА

1. Букштынов А. Д., Трофимов Т. Т., Ермаков Б. С. и др. Облепиха. *Лесная промышленность*. 1978: 192.
2. Тринеева О. В. Комплексное исследование содержания и специфического профиля биологически активных веществ плодов облепихи крушиновидной. *Издательский дом ВГУ*. 2016: 224.
3. Тринеева О. В., Сливкин А. И. Исследование мембраностабилизирующей, антиоксидантной и антитоксической активности водных извлечений из лекарственного растительного сырья (на примере плодов облепихи крушиновидной и листьев крапивы двудомной) на тест-системе *Paramecium caudatum*. *Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация*. 2016; 1: 165–169.
4. Тринеева О. В., Сафонова И. И., Сафонова Е. Ф., Сливкин А. И. Определение антиоксидантной активности извлечений из плодов облепихи крушиновидной. *Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация*. 2012; 2: 266–268.
5. Тринеева О. В. Методы определения антиоксидантной активности объектов растительного и синтетического происхождения в фармации. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2017; 4(21): 180–197.
6. Кайшев А. Ш., Реккандт С. А., Кайшева Н. Ш., Челомбитко В. А. Антиоксидантная активность биокомпозиций на основе спиртовых отходов. *Фармация*. 2009; 5: 7–10.
7. Хайруллина В. Р., Гарифуллина Г. Г., Герчиков А. Я. Антиоксидантная активность экстрактов растений сем. *Geranlaceae, Rosaceae* на примере модельной реакции окисления изопропилового спирта. *Химико-фармацевтический журнал*. 2005; 3: 28–30.
8. Хасанов В. В., Рыжова Г. Л., Мальцева Е. В. Методы исследования антиоксидантов. *Химия растительного сырья*. 2004; 3: 63–75.
9. Лапин А. А., Борисенков М. Ф., Карманов А. П., Бердник И. В., Кочева Л. С., Мусин Р. З., Магдеев И. М. Антиоксидантные свойства продуктов растительного происхождения. *Химия растительного сырья*. 2007; 2: 79–83.
10. Самусенко А. Л. Исследование антиоксидантной активности эфирных масел лимона, розового грейпфрута, кориандра, гвоздики и их смесей методом капиллярной газовой хроматографии. *Химия растительного сырья*. 2011; 3: 107–112.
11. Конкина И. Г., Грабовский С. А., Муринов Ю. И., Кабальнова Н. Н. Сравнительная оценка реакционной способности кверцетина и дигидрокверцетина по отношению к пероксильным радикалам. *Химия растительного сырья*. 2011; 3: 207–208.
12. Огай М. А., Степанова Э. Ф., Холодов Д. Б., Николаевский В. А. Антиоксидантный и мембраностабилизирующий эффект таурина. *Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация*. 2011; 1: 186–191.
13. Шадрин И. А. Токсикологический анализ некоторых кормов по реакции выживаемости инфузории *Paramecium caudatum*. *Вестник Красноярского государственного аграрного университета*. 2008; 2: 128–134.
14. Хасанова С. Р., Плеханова Т. И., Гашимова Д. Т., Галиахметова Э. Х., Клыш Е. А. Сравнительное изучение антиоксидантной активности растительных сборов. *Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация*. 2007; 1: 163–166.
15. Максимова Т. В., Никулина И. Н., Пахомов В. П. и др. Способ определения антиоксидантной активности. Номер патента: 2170930. Дата публикации: 20.07.2001 г. Заявитель(и) и патентообладатель: Московская медицинская академия им. И. М. Сеченова.
16. Рябинина Е. И., Зотова Е. Е., Ветрова Е. Н. и др. Новый подход в оценке антиоксидантной активности растительного сырья при исследовании процесса аутоокисления адреналина. *Химия растительного сырья*. 2011; 3: 117–121.
17. Бузлама В. С. Способ отбора веществ – адаптогенов: Авт. свид. СССР № 9901189, 1982.

18. Государственная фармакопея Российской Федерации XIII издание. 2015; 2: 1004. Available at: http://193.232.7.120/feml/clinical_ref/pharmacopoeia_1/HTML/
19. Государственная Фармакопея Российской Федерации XIV издание. 2018; 4: 7019. Available at: <http://femb.ru/femb/pharmacopoea.php>

REFERENCES

1. Buktshytynov A. D., Trofimov T. T., Ermakov B. S. et al. Sea buckthorn. *Forest industry*. 1978: 192 (In Russ.).
2. Trineeva O. V. Comprehensive study of the content and specific profile of biologically active substances of buckthorn fruits. *Voronezh State University Publishing House*. 2016: 224 (In Russ.).
3. Trineeva O. V., Slivkin A. I. Investigation of the membrane stabilizing, antioxidant and antitoxic activity of aqueous extracts from medicinal plant materials (for example, fruits of sea buckthorn buckthorn and dioica nettle leaves) on the test system *Paramecium caudatum*. *Bulletin of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy*. 2016; 1: 165–169 (In Russ.).
4. Trineeva O. V., Safonova I. I., Safonova E. F., Slivkin A. I. Determination of antioxidant activity of extracts from buckthorn buckthorn fruits. *Bulletin of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy*. 2012; 2: 266–268 (In Russ.).
5. Trineeva O. V. Methods for determining the antioxidant activity of objects of plant and synthetic origin in pharmacy. *Drug development & registration*. 2017; 4(21): 180–197 (In Russ.).
6. Kaishhev A. Sh., Rekkandt S. A., Kaysheva N. Sh., Chelombitko V. A. Antioxidant activity of bio-compositions based on alcohol wastes. *Pharmacy*. 2009; 5: 7–10 (In Russ.).
7. Khayrullina V. R., Garifullina G. G., Gerchikov A. Ya. Antioxidant activity of plant extracts of the family *Geranlaceae, Rosaceae* on the example of a model reaction of oxidation of isopropyl alcohol. *Chemical Pharmaceutical Journal*. 2005; 3: 28–30 (In Russ.).
8. Khasanov V. V., Ryzhova G. L., Maltseva E. V. Methods for the study of antioxidants. *Chemistry of plant materials*. 2004; 3: 63–75 (In Russ.).
9. Lapin A. A., Borisenkov M. F., Karmanov A. P., Berdnik I. V., Kocheva L. S., Musin R. Z., Magdееv I. M. Antioxidant properties of plant products. *Chemistry of plant materials*. 2007; 2: 79–83 (In Russ.).
10. Samusenko A. L. The study of the antioxidant activity of essential oils of lemon, pink grapefruit, coriander, cloves and their mixtures by capillary gas chromatography. *Chemistry of plant materials*. 2011; 3: 107–112 (In Russ.).
11. Konkina I. G., Grabovsky S. A., Murinov Yu. I., Kabalnova N. N. Comparative evaluation of the reactivity of quercetin and dihydroquercetin with respect to peroxy radicals. *Chemistry of plant materials*. 2011; 3: 207–208 (In Russ.).
12. Ogai M. A., Stepanova E. F., Kholodov D. B., Nikolaevsky V. A. Antioxidant and membrane stabilizing effect of taurine. *Bulletin of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy*. 2011; 1: 186–191 (In Russ.).
13. Shadrin I. A. Toxicological analysis of some feeds according to the survival reaction of the ciliates *Paramecium caudatum*. *Bulletin of the Krasnoyarsk State Agrarian University*. 2008; 2: 128–134 (In Russ.).
14. Khasanova S. R., Plekhanova T. I., Gashimova D. T., Galiakhmetova E. Kh., Klysh E. A. Comparative study of antioxidant activity of plant collections. *Bulletin of the Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy*. 2007; 1: 163–166 (In Russ.).
15. Maksimova T. V., Nikulina I. N., Pakhomov V. P. et al. Method for determining antioxidant activity. Patent number: 2170930. Date of publication: July 20, 2001. Applicant(s) and patent holder: Moscow Medical Academy named after I. M. Sechenova (In Russ.).
16. Ryabinina E. I., Zotova E. E., Vetrova E. N. et al. A new approach to assessing the antioxidant activity of plant materials in the study of the process of autooxidation of adrenaline. *Chemistry of plant materials*. 2011; 3: 117–121 (In Russ.).
17. Buzlama B. C. Method of selection of substances – adaptogens: Auth. testimonial. USSR No. 9901189, 1982 (In Russ.).
18. State Pharmacopoeia of the Russian Federation XIII edition. 2015; 2: 1004. Available at: http://193.232.7.120/feml/clinical_ref/pharmacopoeia_1/HTML/ (In Russ.).
19. State Pharmacopoeia of the Russian Federation XIV edition. 2018; 4: 7019. Available at: <http://femb.ru/femb/pharmacopoea.php> (In Russ.).