



Оригинальная статья/Research article

Применение люминесцентной микроскопии в анализе анатомо-диагностических признаков плодов облепихи крушиновидной

О. В. Тринева^{1*}, А. А. Гудкова¹, М. А. Рудая¹

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

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

Статья получена: 11.12.2019. Статья принята к печати: 16.01.2020

Резюме

Введение. Облепиха крушиновидная (*Hippophae rhamnoides*), семейства Лоховые (*Eleagnaceae*) – перспективный источник биологически активных веществ, традиционным сырьем которого являются плоды. В существующей нормативной документации (НД) отсутствует такой показатель подлинности и доброкачественности плодов как «микроскопия». Несмотря на имеющиеся данные по анатомии и гистологии плодов данного вида лекарственного растительного сырья (ЛРС), в научной литературе не описаны особенности люминесценции тканей плодов облепихи крушиновидной. Известно, что люминесцентные особенности тканей позволяют выявлять локализацию биологически активных структур, а также, в некоторых случаях, проводить селективную диагностику ЛРС.

Цель. Целью настоящей работы являлось изучение особенностей люминесценции тканей высушенных измельченных плодов облепихи крушиновидной, а также оптимизация условий проведения анализа.

Материалы и методы. Объектом исследования служили высушенные измельченные плоды облепихи крушиновидной различных сортов. Изучение микродиагностических признаков проводили согласно ГФ XIV РФ ОФС.1.5.3.0003.15 «Техника микроскопического и микрохимического исследования лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов». Стереомикроскопическое исследование осуществляли на микроскопе Биомед-6. Люминесценцию тканей плодов облепихи крушиновидной исследовали с использованием люминесцентного микроскопа марки Микромед-3 Люм.

Результаты и обсуждение. Наиболее выраженное желтое свечение наблюдается для тканей мякоти и эпидермиса плода, что связано с наибольшим содержанием в данных структурах жирного масла. Зеленоватый оттенок объектам придают, содержащиеся наряду с маслом, группы фенольных соединений, а коричневатый оттенок – конденсированные танины. Пластинки, из которых состоят щитковидные волоски, не обладают яркой люминесценцией, слабое свечение характерно для мест сочленения пластинок волоска. Стенки звездчатых волосков обладают слабым зеленоватым свечением. Фрагменты собственно плода («мешочек») коричневатого цвета без собственной люминесценции, также как и кожура семени. Зародыш обладает собственной люминесценцией зеленоватого цвета ввиду наличия как жирного масла, так и комплекса запасящих веществ.

Заключение. Впервые проведен люминесцентный анализ плодов облепихи крушиновидной. Экспериментально обоснован выбор способа подготовки исследуемого ЛРС к проведению микроскопического исследования. Проведенный люминесцентный анализ позволил выявить особенности свечения тканей плодов облепихи крушиновидной. Уточнены основные микродиагностические признаки измельченных плодов облепихи крушиновидной высушенных и их биометрические характеристики. Анализ полученных данных позволит в дальнейшем разработать раздел «Микроскопические признаки» для включения в проект ФС на ЛРС, широко культивируемое и используемое отечественной фармацевтической промышленностью для производства лекарственных растительных препаратов.

Ключевые слова: облепиха крушиновидная, люминесцентный анализ, анатомо-диагностические признаки, биометрические характеристики.

Конфликт интересов: конфликта интересов нет.

Вклад авторов. М. А. Рудая осуществляла заготовку и сушку образцов сырья, а также пробоподготовку к проведению анализа. А. А. Гудковой проведены исследования анатомо-диагностических признаков плодов облепихи крушиновидной с применением люминесцентного анализа, а также обозначены все рисунки, отражающие основные результаты работы. О. В. Тринева написала текст статьи, в том числе заключение и обсуждение результатов.

Для цитирования: Тринева О. В., Гудкова А. А., Рудая М. А. Применение люминесцентной микроскопии в анализе анатомо-диагностических признаков плодов облепихи крушиновидной. *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2020; 9(1): 40–45.

Application of Luminescent Microscopy in Analysis of Anatomic-diagnostic Signs of Fruits of Sea Buckthorn

Olga V. Trineeva^{1*}, Alevtina A. Gudkova¹, Margarita A. Rudaya¹

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

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

Received: 11.12.2019. Accepted: 16.01.2020

Abstract

Introduction. Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*), the family *Eleagnaceae* – a promising source of biologically active substances, the traditional raw materials of which are fruits. The existing regulatory documentation (ND) lacks such an indicator of the authenticity and good quality of the fruit as «microscopy». Despite the available data on the anatomy and histology of the fruits of this type of medicinal plant material (MPM), the scientific literature does not describe the luminescence features of the tissues of sea buckthorn fruit. It is known that the luminescent features of tissues make it possible to identify the localization of biologically active structures, and also, in some cases, to conduct selective diagnosis of MPM.

Aim. The aim of this work was to study the characteristics of the luminescence of the tissues of dried crushed fruits of sea buckthorn, and also to optimize the conditions for analysis.

© Тринева О. В., Гудкова А. А., Рудая М. А., 2020

© Trineeva O. V., Gudkova A. A., Rudaya M. A., 2020

Materials and methods. The object of the study was the dried, crushed fruits of sea buckthorn of various species. The study of microdiagnostic signs was carried out according to the State Pharmacopoeia of the XIV RF GPA.1.5.3.0003.15 «Technique of microscopic and microchemical studies of medicinal plant materials and herbal medicines». A stereomicroscopic study was carried out on a Biomed-6 microscope. The luminescence of sea buckthorn fruit tissues was examined using a luminescent microscope of the Micromed-3 Lum brand.

Results and discussion. The most pronounced yellow glow is observed for the tissue of the pulp and epidermis of the fetus, which is associated with the highest content of fatty oil in these structures. Groups of phenolic compounds contained along with oil give a greenish tint to objects, while condensed tannins give a brownish tint. The plates that make up the corymbose hairs do not exhibit bright luminescence; a weak glow is characteristic of the joints of the hair platelets. The walls of stellate hairs have a faint greenish glow. Fragments of the actual fruit («sac») are brownish in color, without their own luminescence, as well as the seed peel. The embryo has its own greenish luminescence due to the presence of both a fatty oil and a complex of storage substances.

Conclusion. The luminescent analysis of sea buckthorn fruits was carried out for the first time. The choice of a method for preparing the studied MPM for microscopic examination is experimentally substantiated. The luminescent analysis revealed the peculiarities of the glow of the tissues of the fruits of sea buckthorn. The main microdiagnostic signs of crushed dried sea buckthorn fruits and their biometric characteristics are specified. The analysis of the obtained data will allow us to further develop the section «Microscopic signs» for inclusion in the PA project on MPM, widely cultivated and used by the domestic pharmaceutical industry for the production of herbal medicines.

Keywords: sea buckthorn, luminescent analysis, anatomical and diagnostic features, biometric characteristics.

Conflict of interest: no conflict of interest.

Contribution of the authors. Margarita A. Rudaya carried out the procurement and drying of raw material samples, as well as sample preparation for analysis. Alevtina A. Gudkova conducted research on the anatomical and diagnostic features of sea buckthorn fruits using luminescence analysis, and also indicated all the figures reflecting the main results of the work. Olga V. Trineeva wrote the text of the article, including the conclusion and discussion of the results.

For citation: Trineeva O. V., Gudkova A. A., Rudaya M. A. Application of luminescent microscopy in analysis of anatomic-diagnostic signs of fruits of sea buckthorn. *Drug development & registration*. 2020; 9(1): 40–45.

ВВЕДЕНИЕ

Люминесценция – свойство вещества излучать свет под воздействием возбуждающих факторов, как правило, без повышения температуры. Люминесцентный метод исследования, отличающийся высокой чувствительностью и быстротой, находят все более широкое применение в практике фармацевтического анализа. Чувствительность люминесцентных методов исключительно велика. Они позволяют обнаружить сто миллиардные доли грамма люминесцирующего вещества, что во много раз превосходит чувствительность химического и абсорбционного методов. Кроме того, люминесцентный анализ полностью отвечает требованиям экспресс-метода. Для возбуждения люминесценции используют ультрафиолетовые лучи. При этом происходит поглощение коротковолнового ультрафиолетового излучения исследуемым веществом с последующим испусканием лучей с большей длиной волны (свечение исследуемого объекта). Метод давно используется для контроля качества продуктов питания. Разница между микроскопией в проходящем свете и флуоресценцией заключается в том, что в последнем случае препарат рассматривается в излучаемом им свете. При этом химический состав клеток и тканей влияет на качество люминесценции и люминесцентная микроскопия в определенной мере является гистохимическим исследованием. Лишь немногие биологически значимые вещества имеют выраженную собственную люминесценцию в видимой области спектра. К ним относятся некоторые пигменты (хлорофилл, порфирины, липохромы), витамины А и В₂, алкалоиды (берберин, хинин и др.), антибиотики (тетрациклины и др.), химиотерапевтические и токсические вещества. Преимуществами люминесцентной микроскопии являются: цветное изображе-

ние; высокая степень контрастности самосветящихся объектов на черном фоне; возможность исследования как прозрачных, так и непрозрачных живых объектов; возможность исследования различных жизненных процессов в динамике их развития; обнаружение и установление локализации отдельных микробов и вирусов; развитие тончайших методов цито- и гистохимии и экспресс-диагностика.

Подтверждение подлинности лекарственного растительного сырья (ЛРС) в процессе его стандартизации – одна из важнейших задач современной фармакогнозии. Облепиха крушиновидная (*Hippophae rhamnoides*), семейства Лоховые (*Eleagnaceae*) – перспективный источник биологически активных веществ, традиционным сырьем которого являются плоды. Химический состав плодов облепихи представлен, в первую очередь, жирным маслом, богатым каротиноидами, токоферолами, фосфолипидами, эссенциальными жирными кислотами, витаминами различных групп (С, В₁, В₂, РР), органическими кислотами, сахарами, флавоноидами, аминокислотами, дубильными и другими биологически активными веществами [1, 2]. В настоящее время плоды в промышленных масштабах используются для производства облепихового масла и препаратов на его основе, что, согласно принципам сквозной стандартизации, требует обязательного наличия современной нормативной документации (НД) на исходное сырье – ФС. Стандартизация плодов облепихи проводится в соответствии с требованиями временной фармакопейной статьи (ВФС) 42-1741-87 (свежие плоды) и ТУ 64-472-88 (сухие плоды) [2]. Государственные фармакопеи с X по XIV изданий не содержат статей на данный вид сырья [3, 4]. В существующей НД отсутствует такой показатель подлинности и доброкачественности плодов как «микроскопия». Поэтому исследования по разработке показателей ка-

чества данного вида ЛРС, в частности, микродиагностических признаков, для включения в проекты ФС является весьма актуальными.

Несмотря на имеющиеся данные по анатомии и гистологии плодов данного вида ЛРС [5–8], в научной литературе не описаны особенности люминесценции тканей плодов облепихи крушиновидной. Известно, что люминесцентные особенности тканей позволяют выявлять локализацию биологически активных структур, а также, в некоторых случаях, проводить селективную диагностику ЛРС [9–12].

Целью настоящего исследования являлось изучение особенностей люминесценции тканей высушенных измельченных плодов облепихи крушиновидной, а также оптимизация условий проведения анализа.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования служили плоды облепихи крушиновидной различных сортов («Трофимовская», «Студенческая», «Ботаническая ароматная», «Красно-карминовая», «Нивелена», «Столичная», «Галерит», «Рябиновая», «Ботаническая любительская», «Ботаническая»), заготовленные на территории Ботанического сада биологического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет» им. М. В. Ломоносова в сентябре 2018 года, согласно правилам заготовки ЛРС различных морфологических групп. Сушку плодов производили при температуре 60 °С до остаточной влажности не более 14 %. Макроскопическое исследование плодов осуществляли в соответствии с требованиями ОФС.1.5.1.0007.15 ГФ XIV «Плоды» [4]. Изучение микродиагностических признаков проводили согласно ГФ XIV РФ ОФС.1.5.3.0003.15 «Техника микроскопического и микрохимического исследования лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов». Стереомикроскопическое исследование осуществляли на микроскопе Биомед-6 (Россия). Люминесценцию тканей плодов облепихи крушиновидной исследовали с использованием люминесцентного микроскопа марки Микромед-3 Люм (Россия), оснащенного корпусом люминесцентной насадки с четырьмя люминесцентными блоками «В»; «G»; «V» и «UV» LED (Россия). Источником света служила высоковольтная ртутная лампа (100 Вт); спектральный диапазон возбуждения люминесценции: голубой светофильтр – 410–490 нм, наблюдение в диапазоне 515–700 нм (Лаборатория Фитониринга ФГБОУ ВО ВГУ). Визуализацию диагностических признаков осуществляли с помощью видеокамеры Livenhuk C310 NG (КНР) и программным обеспечением Top View (x86).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Основным методом определения подлинности ЛРС является микродиагностический анализ. Данный вид анализа отличается высокой информативностью и простотой выполнения. Исследованию подвергали высушенное измельченное сырье без дополнительной обработки.

При рассмотрении с помощью лупы или стереомикроскопа измельченные плоды облепихи представляют собой кусочки разного размера, проходящие сквозь сито с размером отверстий 7 мм, состоящие из фрагментов гипантия, сильно морщинистые коричневатого-бурого или красновато-коричневого цвета. Поверхность гипантия покрыта щитковидными волосками желтоватого цвета, которые также могут быть отломаны и встречаться отдельно от гипантия. Визуализируемые фрагменты стенок плода представлены в виде «мешочка» с тонкими стенками. Косточки вытянутой формы, мелкие, твердые, встречаются в основном в цельном виде, черного или темно-коричневого цвета.

Порошек облепихи крушиновидной плодов представляет собой смесь частей гипантия, тканей собственно плода и косточек, разной формы и размеров, но проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 2 мм. Цвет порошка преимущественно коричневатый-бурый или красновато-коричневый с белыми, черными и буровато-желтыми вкраплениями. Порошек, как и измельченные плоды облепихи маслянистые на ощупь и сильно комкуются при сжатии. Запах своеобразный, вкус водного извлечения кисловато-сладкий.

Следует отметить, что микроскопирование высушенных плодов облепихи значительно затрудняется из-за наличия в плодах жирного масла. При высушивании значительно увеличивается доля жирного масла в плодах. В связи с этим, измельченное сырье и порошок плодов подвергаются комкованию, что затрудняет проведение как стереомикроскопического, так и люминесцентного анализа, ввиду образования объемного агломерата частичек сырья (рисунок 1, А). Для удаления жирного масла было использовано выдерживание измельченного и порошоканного сырья в гексане в течение суток с последующим отгоном растворителя и высушивания объектов (рисунок 1, Б).

Следует отметить, что достоверных отличий в выявленных микроскопических признаках и их биометрических характеристиках между различными исследуемыми сортами плодов выявлено не было, по-

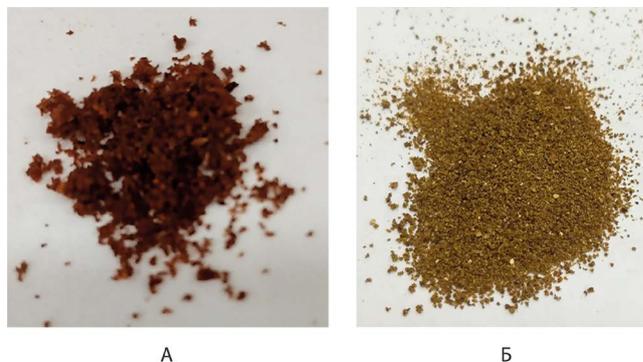


Рисунок 1. Плоды облепихи крушиновидной высушенные измельченные:

А – до обработки гексаном; **Б** – после обработки гексаном

Figure 1. Dried shredded buckthorn fruits of sea buckthorn:

А – before treatment with hexane; **Б** – after treatment with hexane

этому дальнейшее описание проведено без соотнесения признаков – сорт. Проводя люминесцентный анализ порошка облепихи крушиновидной плодов высушенных следует отметить наличие автофлуоресценции всех фрагментов, имеющих в поле зрения, за исключением кожуры семени (рисунок 2, А). Наиболее выраженное желтое свечение наблюдается для тканей мякоти и эпидермиса плода, что связано с наибольшим содержанием в данных структурах жирного масла (рисунок 3). При этом, люминесценция настолько яркая, что проведение анализа без использования нейтрального светофильтра, гасящего свечение затруднительно. Зеленоватый оттенок объектам придают, содержащиеся наряду с маслом, группы фенольных соединений (флавоноиды, антоцианы), а коричневатый оттенок – конденсированные танины [9–16]. Пластинки, из которых состоят щитковидные волоски не обладают яркой люминесценцией, слабое свечение характерно для мест сочленения пластинок волоска (рисунок 3, А и Б). Стенки звездчатых волосков обладают слабым зеленоватым свечением. Фрагменты собственно плода («мешочек») коричневатого цвета, без собственной люминесценции, также как и кожура семени (представлена темным образованием, рисунок 3, А). Зародыш обладает собственной люминесценцией зеленоватого цвета (ввиду наличия как жирного масла, так и белковых соединений) (рисунок 2, Б).

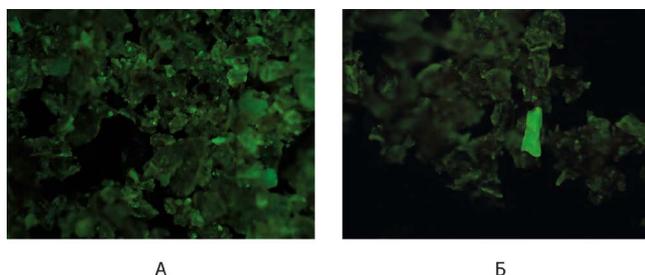


Рисунок 2. Автолюминесценция облепихи крушиновидной плодов высушенных, (при облучении с $\lambda = 410 - 490$ нм) ув. x40: А – общий вид; Б – фрагмент зародыша

Figure 2. Autoluminescence of sea buckthorn, buckthorn-dried fruits, (upon irradiation with $\lambda = 410 - 490$ nm) uv. x40: А – is a general view; Б – a fragment of the embryo

Необходимо отметить положительное влияние подобной пробоподготовки на растительное сырье, заключающееся в повышении информативности анализа ввиду практически полного отсутствия комковатости и увеличения сыпучести порошка. Также нужно подчеркнуть усиление люминесценции тканей. Благодаря удалению масла улучшается визуализация и отнесение фрагментов к той или иной морфологической части. В частности, это относится к звездчатым волоскам (рисунок 4), собственно плоду («мешочку»), а также стали различимы фрагменты эпидермиса гипантия и тканей мякоти (рисунок 5), более отчетливо видны щитковидные волоски (рисунок 6).

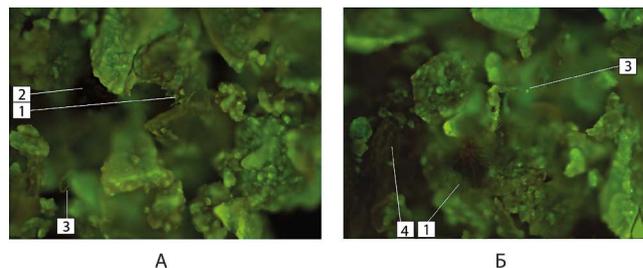


Рисунок 3. Автолюминесценция облепихи крушиновидной плодов высушенных, (при облучении с $\lambda = 410 - 490$ нм) ув. x100 (с приглушением свечения):

1 – щитковидный волосок; 2 – фрагмент кожуры семени; 3 – фрагмент звездчатого волоска; 4 – фрагмент собственно плода

Figure 3. Autoluminescence of sea buckthorn, buckthorn-shaped fruits, dried (upon irradiation with $\lambda = 410 - 490$ nm) uv. x100 (with muting):

1 – corymbose hair; 2 – fragment of the peel of the seed; 3 – fragment of the stellate hair; 4 – fragment of the actual fetus

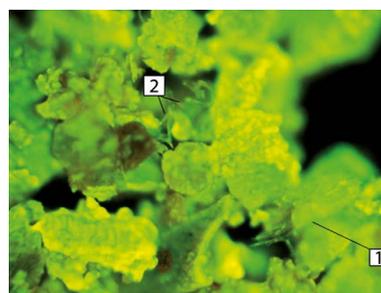


Рисунок 4. Автолюминесценция облепихи крушиновидной плодов высушенных, (при облучении с $\lambda = 410 - 490$ нм) ув. x100:

1 – щитковидный волосок; 2 – звездчатый волосок

Figure 4. Autoluminescence of sea buckthorn, buckthorn-dried fruits, (upon irradiation with $\lambda = 410 - 490$ nm) uv. x100:

1 – corymbose hair; 2 – star hair

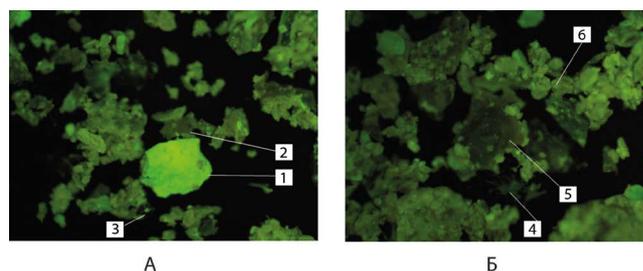


Рисунок 5. Люминесценция облепихи крушиновидной плодов высушенных, после обработки гексаном (при облучении с $\lambda = 410 - 490$ нм), ув. x40:

1 – фрагмент зародыша; 2 – фрагмент собственно плода; 3 – фрагмент кожуры семени; 4 – звездчатые волоски; 5 – фрагмент эпидермиса гипантия; 6 – фрагмент мякоти

Figure 5. Luminescence of sea buckthorn, buckthorn-dried fruit, after treatment with hexane (when irradiated with $\lambda = 410 - 490$ nm), uv. x40:

1 – a fragment of the embryo; 2 – a fragment of the actual fetus; 3 – a fragment of the peel of the seed; 4 – stellate hairs; 5 – a fragment of the epidermis hypanthium; 6 – a piece of pulp

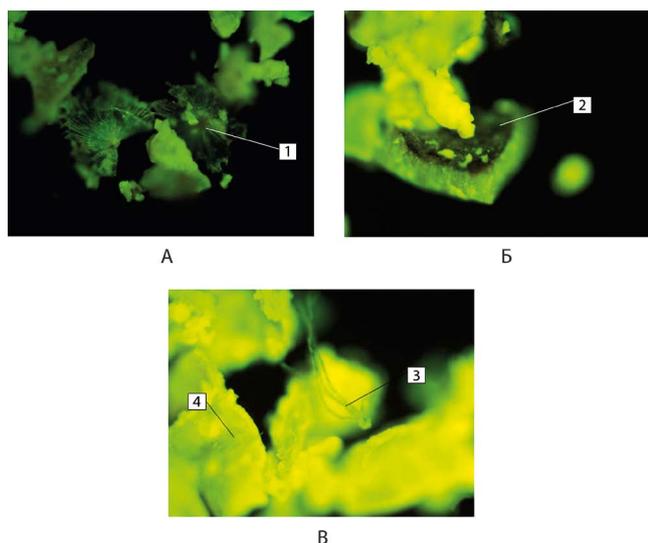


Рисунок 6. Люминесценция облепихи крушиновидной плодов высушенных, после обработки гексаном (при облучении с $\lambda = 410 - 490$ нм), ув. $\times 100$:

А – с применением нейтрального светофильтра; Б, В – без тушения люминесценции. 1 – щитковидные волоски; 2 – палисадная ткань кожуры семени; 3 – фрагмент семени; 4 – звездчатые волоски; 5 – щитковидные волоски

Figure 6. Luminescence of sea buckthorn, buckthorn-dried fruits, after treatment with hexane (when irradiated with $\lambda = 410 - 490$ nm), UV. $\times 100$:

А – using a neutral light filter; Б, В – without quenching of luminescence. 1 – corymbose hairs; 2 – palisade tissue of the seed peel; 3 – a fragment of the seed; 4 – stellate hairs; 5 – corymbose hairs

В таблице 1 и на рисунке 7 приведены результаты экспериментальных исследований биометрических характеристик основных микроскопических признаков плодов облепихи крушиновидной.

Таблица 1. Результаты определения биометрических характеристик основных микроскопических признаков плодов облепихи крушиновидной методом люминесцентной микроскопии

Table 1. The results of determining the biometric characteristics of the main microscopic features of buckthorn buckthorn fruits by luminescent microscopy

№ п/п	Анатомо-диагностический признак, мкм	Экспериментальные данные
1	Диаметр щитковидных волосков	145–566
2	Диаметр ножек (место прикрепления волосков)	28–92
3	Клетки эпидермиса гипантия	Длина (23–58) Ширина (3–46)
4	Звездчатые волоски	Длина (1329) Толщина (30)

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, впервые проведён люминесцентный анализ плодов облепихи крушиновидной как перспективного источника биологически активных

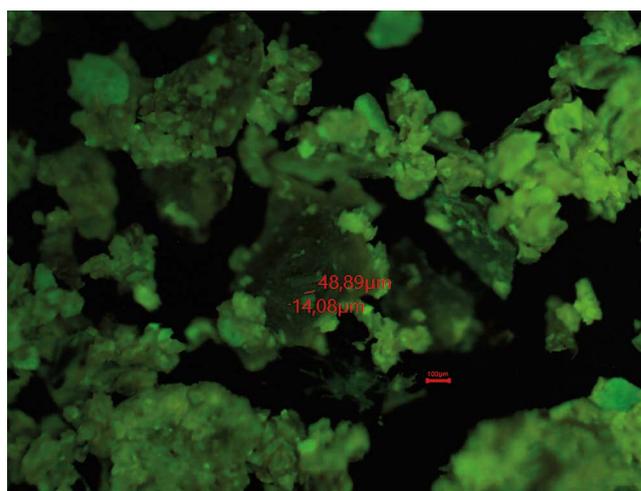


Рисунок 7. Биометрические характеристики основных микроскопических признаков плодов облепихи крушиновидной методом люминесцентной микроскопии (на примере клеток эпидермиса гипантия)

Figure 7. Biometric characteristics of the main microscopic features of buckthorn buckthorn fruits by luminescent microscopy (for example, epidermal hypanthium cells)

соединений. Экспериментально обоснован выбор способа подготовки исследуемого сырья к проведению микроскопического исследования. Проведенный люминесцентный анализ позволил выявить особенности свечения тканей плодов облепихи крушиновидной. Уточнены основные микродиагностические признаки измельченных плодов облепихи крушиновидной высушенных и их биометрические характеристики. К диагностическим люминесцентным особенностям следует отнести:

- Наиболее выраженное желтое свечение наблюдается для тканей мякоти и эпидермиса плода, что связано с наибольшим содержанием в данных структурах жирного масла.

- Пластинки, из которых состоят щитковидные волоски не обладают яркой люминесценцией, слабое свечение характерно для мест сочленения пластинок волоска.

- Стенки звездчатых волосков обладают слабым зеленоватым свечением.

- Фрагменты собственно плода («мешочек») коричневатого цвета, без собственной люминесценции, также как и кожура семени (представлена темным образованием).

- Зародыш обладает собственной люминесценцией зеленоватого цвета (ввиду наличия как жирного масла, так и белковых соединений).

Анализ полученных данных позволит в дальнейшем разработать раздел «Микроскопические признаки» для включения в проект ФС на лекарственное растительное сырье, широко культивируемое и используемое отечественной фармацевтической промышленностью для производства лекарственных растительных препаратов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Букштынов А. Д., Трофимов Т. Т., Ермаков Б. С. и др. Облепиха. М.: Изд-во «Лесная промышленность». 1978: 192.
2. Тринева О. В. Комплексное исследование содержания и специфического профиля биологически активных веществ плодов облепихи крушиновидной. Воронеж: Издательский дом ВГУ. 2016: 224.
3. Государственная фармакопея Российской Федерации XIII издание. 2015; 2: 1004. Available at: http://193.232.7.120/feml/clinical_ref/pharmacopoeia_1/HTML/
4. Государственная Фармакопея Российской Федерации XIV издание. 2018; 4: 7019. Available at: <http://femb.ru/femb/pharmacopoea.php>
5. Рудая М. А., Тринева О. В., Гудкова А. А., Сливкин А. И., Даньшина И. А. Изучение диагностических признаков плодов облепихи различных сортов. *Фармация*. 2017; 66(7): 11–15.
6. Рудая М. А., Тринева О. В., Гудкова А. А., Сливкин А. И., Бойко Г. А., Даньшина И. А. Плоды облепихи крушиновидной: морфолого-анатомические признаки различных сортов. *Фармация*. 2018; 67(2): 21–26.
7. Тринева О. В., Шкунова Н. С., Мальцева А. А., Сливкин А. И. Исследование микроскопических признаков высушенных плодов облепихи крушиновидной. *Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация*. 2014; 4: 135–139.
8. Тринева О. В., Сливкин А. И., Самылина И. А. Исследования по разработке проектов фармакопейных статей на плоды и масло облепихи крушиновидной. *Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация*. 2016; 3: 126–133.
9. Астафьева А. А., Куприянова Е. А., Куркин В. А., Рыжов В. М., Тарасенко Л. В., Помогайбин А. В. Исследование люминесценции тканей побегов тополя красноплодного (*Populus rubrinervis* Hort.) как перспективного источника флавоноидов. В сборнике: Фармацевтическая ботаника: современность и перспективы III-я Межвузовская научно-практическая конференция, посвященная 100-летию Самарского государственного медицинского университета. Сборник материалов. ФГБОУ ВО Самарский государственный медицинский университет Минздрава России. 2018: 73–78.
10. Васькова А. И., Рыжов В. М., Тарасенко Л. В. Люминесцентный анализ листьев тысячелистника хрящеватого (*Achillea cartilaginea* Ledeb.). В сборнике: Фармацевтическая ботаника: современность и перспективы Сборник материалов. ФГБОУ ВО Самарский государственный медицинский университет Минздрава России. 2017: 119–127.
11. Никитина А. С., Логвиненко Л. А., Никитина Н. В., Нигарян С. А. Морфометрическое и гистохимическое исследование травы мелиссы лекарственной из коллекции никитского ботанического сада. *Фармация и фармакология*. 2018; 6(6): 504–534.
12. Лапина А. С., Куркин В. А., Рыжов В. М., Тарасенко Л. В. Новые аспекты в морфолого-анатомической диагностике травы монарды дудчатой (*Monarda fistulosa* L.). *Аспирантский вестник Поволжья*. 2019; 1-2: 19–26.
13. Азизова Т. М., Рыжов В. М., Тарасенко Л. В. Результаты люминесцентного анализа плодов фенхеля обыкновенного (*Foeniculum vulgare* Mill). В сборнике: Фармацевтическая ботаника: современность и перспективы. Сборник материалов. ФГБОУ ВО Самарский государственный медицинский университет Минздрава России. 2017: 104–113.
14. Левшанова Е. В., Хусайнова А. И., Рыжов В. М., Тарасенко Л. В., Куркина А. В. Результаты люминесцентного анализа соцветий пижмы обыкновенной (*Tanacetum vulgare* L.). В сборнике: Фармацевтическая ботаника: современность и перспективы III-я Межвузовская научно-практическая конференция, посвященная 100-летию Самарского государственного медицинского университета. Сборник материалов. ФГБОУ ВО Самарский государственный медицинский университет Минздрава России. 2018: 79–87.
15. Егорова А. В., Рыжов В. М., Тарасенко Л. В., Зюлин Н. С. Результаты люминесцентного анализа утилизированной надземной части пихты сибирской (*Abies sibirica*). В сборнике: Современные проблемы фармакогнозии Сборник материалов III-й Межвузовской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 100-летию Самарского государственного медицинского университета. ФГБОУ ВО Самарский государственный медицинский университет Минздрава России. 2018: 111–118.

16. Морозова Т. В. Фармакогностическое исследование некоторых видов рода боярышник (*Crataegus* L.). Автореферат диссертации кандидата фарм. наук. Самара. 2019: 23.

REFERENCES

1. Buktshynov A. D., Trofimov T. T., Ermakov B. S. et al. Sea buckthorn. M.: Publishing house «Forest industry». 1978: 192 (In Russ.).
2. Trineeva O. V. Comprehensive study of content and the digital profile of biologically active substances of buckthorn fruits. Voronezh: VSU Publishing House. 2016: 224. (In Russ.).
3. Russian Federation State Pharmacopoeia XIII ed. 2015; 2: 1004. Available at: http://193.232.7.120/feml/clinical_ref/pharmacopoeia_1/HTML/ (in Russ.).
4. Russian Federation State Pharmacopoeia XIV ed. 2018; 4: 7019. Available at: <http://femb.ru/femb/pharmacopoea.php> (in Russ.).
5. Rudaya M. A., Trineeva O. V., Gudkova A. A., Slivkin A. I., Danshina I. A. Study of diagnostic signs of sea buckthorn fruits of various varieties. *Pharmacy*. 2017; 66(7): 11–15. (In Russ.).
6. Rudaya M. A., Trineeva O. V., Gudkova A. A., Slivkin A. I., Boyto G. A., Danshina I. A. Fruits of buckthorn buckthorn: morphological and anatomical characters of various varieties. *Pharmacy*. 2018; 67(2): 21–26 (In Russ.).
7. Trineeva O. V., Shikunova N. S., Maltseva A. A., Slivkin A. I. Study of microscopic signs of dried fruits of sea buckthorn. *Bulletin of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy*. 2014; 4: 135–139 (In Russ.).
8. Trineeva O. V., Slivkin A. I., Samylyna I. A. Research on the development of draft pharmacopoeial articles on the fruits and buckthorn oil of buckthorn. *Bulletin of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy*. 2016; 3: 126–133 (In Russ.).
9. Astafyeva A. A., Kupriyana E. A., Kurkin V. A., Ryzhov V. M., Tarasenko L. V., Pomogaybin A. V. Study of the luminescence of shoots of the Red-nosed poplar (*Populus rubrinervis* Hort.) As a promising source flavonoids. In the collection: Pharmaceutical Botany: Modernity and Prospects III Interuniversity Scientific and Practical Conference dedicated to the 100th anniversary of Samara State Medical University. Collection of materials. *Samara State Medical University*. 2018: 73–78 (In Russ.).
10. Vaskova A. I., Ryzhov V. M., Tarasenko L. V. Luminescent analysis of cartilaginous yarrow leaves (*Achillea cartilaginea* Ledeb.). In the collection: Pharmaceutical botany: modernity and prospects. Collection of materials. *Samara State Medical University*. 2017: 119–127 (in Russ.).
11. Nikitina A. S., Logvinenko L. A., Nikitina N. V., Nigaryan S. A. Morphometric and histochemical study of the lemon balm herb from the collection of the Nikitsky Botanical Garden. *Pharmacy and pharmacology*. 2018; 6(6): 504–534 (In Russ.).
12. Lapina A. S., Kurkin V. A., Ryzhov V. M., Tarasenko L. V. New aspects in the morphological and anatomical diagnosis of duodenal monarda grass (*Monarda fistulosa* L.). *Graduate student of the Volga region*. 2019; 1-2: 19–26 (In Russ.).
13. Azizova T. M., Ryzhov V. M., Tarasenko L. V. Results of luminescence analysis of common fennel fruits (*Foeniculum vulgare* Mill). In the collection: Pharmaceutical botany: modernity and prospects. Collection of materials. *Samara State Medical University*. 2017: 104–113 (In Russ.).
14. Levshanova E. V., Khusainova A. I., Ryzhov V. M., Tarasenko L. V., Kurkina A. V. Results of luminescence analysis of common tansy inflorescences (*Tanacetum vulgare* L.). In the collection: Pharmaceutical Botany: Modernity and Prospects III Inter-University Scientific and Practical Conference dedicated to the 100th anniversary of Samara State Medical University. Collection of materials. *Samara State Medical University*. 2018: 79–87 (In Russ.).
15. Egorova A. V., Ryzhov V. M., Tarasenko L. V., Zyulin N. S. Results of luminescence analysis of the utilized aerial part of Siberian fir (*Abies sibirica*). In the collection: Modern problems of pharmacognosy. The collection of materials of the III Interuniversity scientific-practical conference with international participation, dedicated to the 100th anniversary of Samara State Medical University. *Samara State Medical University*. 2018: 111–118 (In Russ.).
16. Morozova T. V. Pharmacognostic study of certain species of the genus Hawthorn (*Crataegus* L.). Abstract of the dissertation of the candidate farm. sciences. Samara. 2019: 23 (In Russ.).