

УДК 577.13

ВЛИЯНИЕ УЛЬТРАЗВУКОВОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НА ЭКСТРАКЦИЮ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ РАСТЕНИЙ СЕМЕЙСТВА *CARYOPHYLLACEAE*

© Л.Н. Зибарева*, Е.С. Филоненко

Национальный исследовательский Томский государственный университет,
пр. Ленина, 36, Томск, 634050 (Россия), e-mail: zibareva.lara@yandex.ru

Изучено влияние ультразвукового излучения на экстракцию вторичных метаболитов из растений семейства *Caryophyllaceae*. Показано, что при одновременном проведении экстракции и воздействии ультразвука наблюдается ускорение процесса извлечения таких биологически активных веществ, как экидистероиды и флавоноиды. Время извлечения экидистероидов из надземной части *Silene viridiflora*, *Silene sendtneri*, *Silene roemerii*, *Silene colpophylla*, *Silene frivaldszkyana* и *Lychnis chalconica* сократилось в 6–12 раз. Установлено, что ультразвук оказывает различное действие на процесс экстракции соединений из разных растительных объектов. Так, из *Lychnis chalconica*, со средним уровнем экидистероидов, уже после 60 мин воздействия достигается извлечение экидистероидов, равное контролю, а после 90 мин – превышающее его уровень на 49%. Из вида с высоким содержанием экидистероидов *Silene frivaldszkyana* уровень контроля достигается через 120 мин УЗ-обработки. Высокоинтенсивный ультразвук ускоряет процесс, сокращает объемы растворителей и увеличивает выход флавоноидов на 28–41% по сравнению с контролем. Разрушительное действие ультразвука на вторичные метаболиты не наблюдается, что подтверждается УФ-спектрами и высокоэффективной жидкостной хроматографией.

Ключевые слова: фитоэкидистероиды, флавоноиды, *Silene*, *Lychnis*, ультразвук, экстракция.

Работа выполнена в рамках Государственного задания Минобрнауки России, проект № 37.7810.2017/8.9.

Введение

В настоящее время активно исследуется влияние ультразвука на различные биологические объекты, на степень извлечения биологически активных веществ (БАВ). Применение ультразвука позволяет увеличить скорость протекания процесса экстрагирования, увеличить выход экстрагируемых веществ, обеспечить экстракцию веществ, недоступных другими способами, проводить экстракцию при комнатной температуре. Ультразвук усиливает в тканях проницаемость клеточных мембран и диффузные процессы, изменяет концентрацию водородных ионов в тканях, вызывает расщепление высокомолекулярных соединений. В химическом отношении продукты распада ионизированных молекул воды в тканях организма крайне активны. По всей вероятности, именно их большой активностью обусловлен ряд общебиологических эффектов, проявляющихся под влиянием ультразвука [1–4].

Сравнение различных методов экстракции подтверждает высокую эффективность ультразвукового экстрагирования природного сырья. Показано, что применение микроволнового излучения и ультразвука позволило увеличить выход липидов в 2–4 раза [2]. Известен способ обработки ультразвуком при экстракции водой и водно-спиртовыми растворами растительного сырья, содержащего сердечные гликозиды из травы наперстянки [3]. Разработан способ воздействия ультразвука частотой 19–44 кГц на выделение фенольных соединений (флавоноиды, дубильные вещества, фенолгликозиды, связанные кумарины, антоцианы, фенолкарбоновые кислоты) из растений с сокращением процесса экстракции [4]. Согласно

Зибарева Лариса Николаевна – доктор химических наук, заведующая лабораторией фитохимии, e-mail: zibareva.lara@yandex.ru
Филоненко Елена Сергеевна – техник лаборатории фитохимии, e-mail: filonenkoelenaserg@mail.ru

нольных соединений (флавоноиды, дубильные вещества, фенолгликозиды, связанные кумарины, антоцианы, фенолкарбоновые кислоты) из растений с сокращением процесса экстракции [4]. Согласно

* Автор, с которым следует вести переписку.

разработанному способу производства лечебного препарата «Экдистерон-80» на основе фитоэкдистероидов *Serratula coronata* L. [5], экстракция термообработанного сырья проводится водно-этанольными смесями с настаиванием и ультразвуковой обработкой.

Разработанный нами ранее способ увеличения степени извлечения экдистероидов из растительных объектов [6] на примере *Serratula cupuliformis* Nakai & Kitag. (сем. *Asteraceae* Bercht. & J. Presl) показал положительное влияние ультразвука на выход БАВ и позволил сократить время экстракции в 12–24 раза. Поскольку при ультразвуковом воздействии высокие частоты могут негативно влиять на биологические структуры и приводить к их разрушению, то важно определять условия проведения экстракции не только для конкретного вида растений, но и группы биологически активных соединений. В связи с этим возникла необходимость в адаптации разработанной методики к видам семейства *Caryophyllaceae* Juss.

Изучаемые виды семейства *Caryophyllaceae* являются перспективными продуцентами экдистероидов и флавоноидов. Ранее изучен состав экдистероидов этих видов [7–9]. Установлено, что экстракты и индивидуальные соединения (20-гидроксиэкдизон – 20E) *Lychnis chalconica* L. ограничивают спонтанную агрегацию эритроцитов, а также остроту проявления синдрома повышенной вязкости крови при ишемии мозга у крыс более эффективно, в сравнении с эталоном пентоксифиллином [10, 11]. Показано, что БАВ, включая экдистероиды, входящие в состав экстракта *Lychnis chalconica*, проявляют фунгистатическое действие в отношении поверхностных дерматофитов более эффективно, в сравнении с эталонами гризефульвином, нистатином, нитрофунгином [12]. Выявлена радиопротекторная активность его экстрактов при облучении белых мышей [7], противоопухолевое действие экстрактов *Lychnis chalconica* и видов *Silene* L., снижающего токсическое действие циклофосфана и увеличивающего его антимагистатическую активность [13, 14], противоязвенная [15], гастропротекторная активность комплекса флавоноидов *Lychnis chalconica* [16]. Имеются данные о разных видах биологического действия *Silene*: ранозаживляющее, противовоспалительное, обезболивающее и противоотечное [17–19]. Таким образом, *Lychnis chalconica* и растения рода *Silene*, являясь близкородственными видами, согласно хемотаксономии могут иметь состав сходных БАВ, а следовательно, и быть основой для создания фармацевтических субстанций комплексного действия, при этом полное извлечение действующих веществ является важным моментом.

Целью настоящего исследования является оценка влияния ультразвука на степень извлечения экдистероидов и флавоноидов из видов семейства *Caryophyllaceae*.

Экспериментальная часть

Объекты исследования: *Lychnis chalconica* L. и *Silene frivaldszkyana* Hampe, *S. viridiflora* L., *S. sendtneri* Boiss., *S. roemerii* Friv., *S. colpophylla* Wrigley, успешно интродуцированные в Сибирском ботаническом саду Томского государственного университета (Сиб БС ТГУ) [20].

Навеску 1 г сухого измельченного сырья заливали 70% этиловым спиртом в соотношении 1 : 20, помещали в ультразвуковой экстрактор Elmasonic S 60 H ELMA (Германия), частота 37 кГц. Время экстракции – 30–120 мин. При экстрагировании учитывалось повышение температуры экстрактов за счет ультразвуковой кавитации и поглощения энергии. Поскольку экдистероиды – химически лабильные вещества, разрушающиеся при температурах выше 60 °С, во время УЗ-воздействия поддерживалась температура 55 °С. Для сравнительного анализа в качестве контроля проводили пятикратное экстрагирование фитоэкдистероидов 70% этиловым спиртом из объектов исследования на водяной бане при 55 °С в течение 12 ч, смену экстрагента проводили через 5 ч, 3 ч, 2 ч, 1 ч, 1 ч [21].

Полученные экстракты концентрировали под вакуумом с помощью ротационного испарителя ИКА RV 10 (Германия) до 5 мл. Идентификация БАВ проведена с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии на хроматографе Shimadzu LC-20AD (Япония), хроматографическая колонка Perfect Sil Target ODS-3 элюирование смесью ацетонитрила и изопропилового спирта (5 : 2) и 0.1% трифторуксусной кислоты в градиенте от 15 до 35%, от 0 до 40 мин. Скорость элюирования 1 мл/мин, время анализа 60 мин. Объем пробы 5 мкл. Аналитическая длина волны $\lambda_{\max} = 242$ нм.

Количественное определение содержания флавоноидов в растительном сырье проводили спектрофотометрически по методике [22], экдистероидов [21]. Хроматографическое разделение проводили в системе хлороформ – этанол – ацетон 5 : 3 : 1. Экдистероиды с сорбента элюировали 10 мл 96% этиловым спиртом в течение 4 ч при непрерывном перемешивании на перемешивающем устройстве ПЭ-6410М (Экрос, Россия). Оптическую плотность элюатов экдистероидов измеряли на спектрофотометре «UV-1800»

(Shimadzu, Япония) в диапазоне длин волн от 200 до 300 нм в кюветах с толщиной слоя 1 см. Максимумы поглощения, обусловленные кетогруппой экдистероидов, сопряженной с двойной связью, фиксировали в области 240–245 нм.

Расчет осуществляли по формуле

$$X (\%) = (C_0 \cdot D_x \cdot V_1 \cdot 100 \cdot 100) / (D_0 \cdot m \cdot V_2 \cdot (100 - w)),$$

где C_0 – концентрация стандарта, г/мл; D_0 – оптическая плотность стандарта; D_x – оптическая плотность образца; V_1 – объем экстракта, мл; V_2 – объем экстракта, нанесенного на стеклянную пластинку, мл; m – масса сырья, г; w – влажность сырья, %.

Статистическая обработка данных выполнена в Microsoft Excel 2007.

Обсуждение результатов

Деструктивного воздействия ультразвука на экдистероиды и флавоноиды в процессе экстракции не наблюдалось, что подтверждено сохранением максимумов поглощения стандартов – 20-гидроксиэкдизона, комплекса рутин с $AlCl_3$ в модельных растворах до и после УЗ воздействия (рис. 1).

После хроматографического разделения в тонком слое экстракта *Silene frivaldszkyana*, полученного в результате ультразвуковой экстракции в течение 2 ч, наблюдается сохранение максимумов поглощения как флавоноидов, так и экдистероидов (рис. 1, д, е). УФ-спектры этанольных элюатов экдистероидов после УЗ экстракции сырья и наличие поглощения в интервале λ_{max} 241–246 нм, свойственных экдистероидам, видов *S. viridiflora*, *S. sendtneri*, *S. roemeri*, *S. colpophylla* также свидетельствуют об отсутствии негативного влияния УЗ на структуры экдистероидов, подтверждением чего является ВЭЖХ экстрактов исследуемых видов (рис. 2, табл. 1).

Пики 4, 6, 9, 10, 11 соответствуют экдистероидам с поглощением в области λ_{max} 242–247 нм, обусловленным кетогруппой экдистероидов, сопряженной с двойной связью в кольце В.

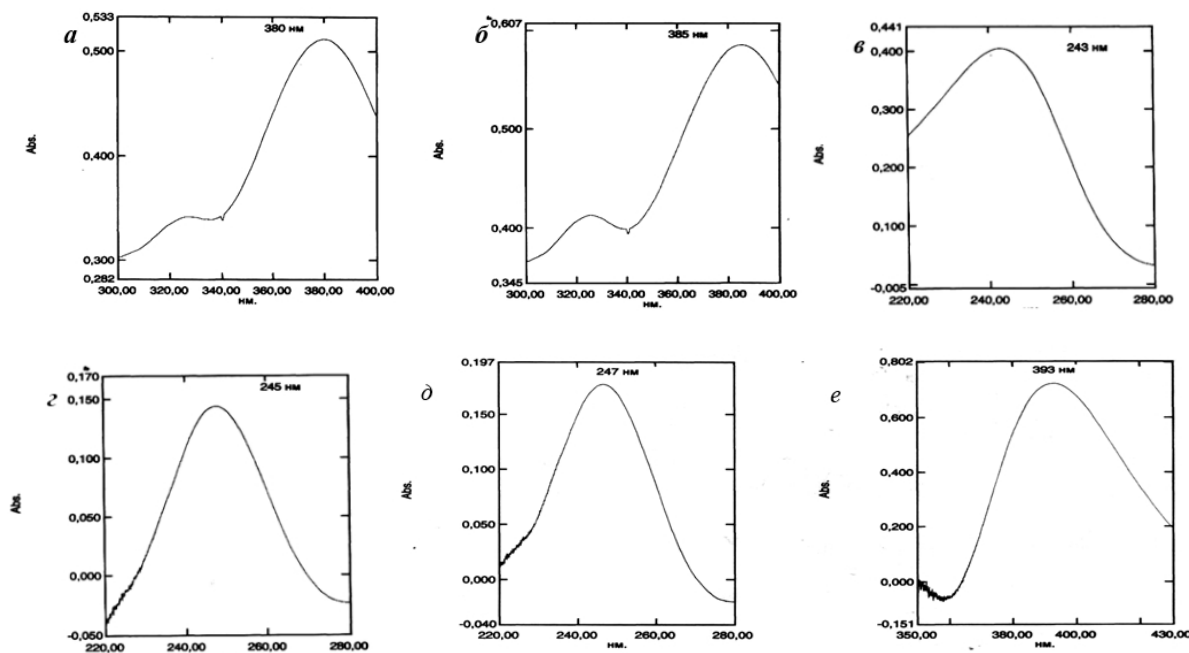


Рис. 1. УФ-спектры стандартов рутин без УЗ воздействия (а), после УЗ воздействия (б), 20-гидроксиэкдизона без УЗ воздействия (в), после УЗ воздействия (г); экдистероидов (д) и комплекса флавоноидов с $AlCl_3$ (е) (препаративная ТСХ) после УЗ воздействия *Silene frivaldszkyana* в течение 2 ч

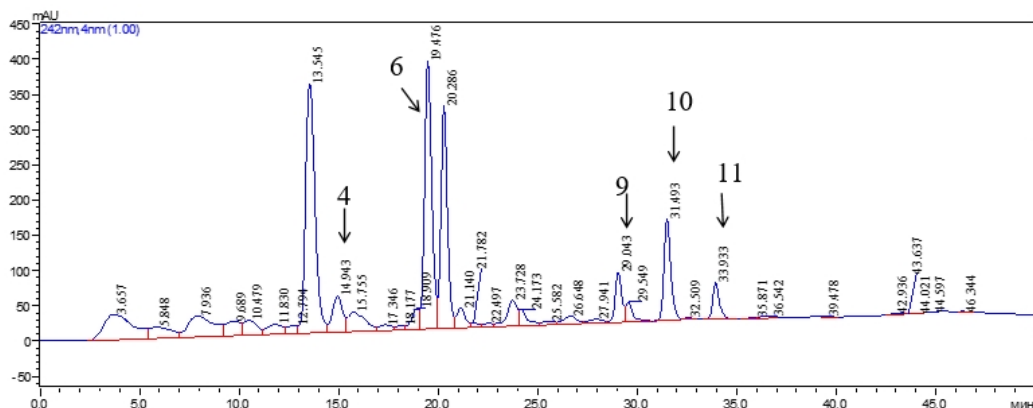


Рис. 2. ВЭЖХ экстракта *S. roemerii* после УЗ воздействия (4, 6, 9, 10, 11 – экидстероиды, табл. 1)

Таблица 1. Идентификация соединений экстракта *S. roemerii*

№№	Времена удерживания t_r , мин	Максимумы поглощения λ_{max} , нм	Соединение
1	10.479	273, 333	Флавоноид 1
2	12.794	271, 330	Флавоноид 2
3	13.545	272, 337	Виценин
4	14.943	242	Экидстероид 1
5	15.755	273, 336	Неовитексин
6	19.476	247	20-гидроксиэкидзон
7	20.286	273, 330	Флавоноид 3
8	21.140	273, 330	Флавоноид 4
9	29.043	245	Экидзон
10	31.493	247	2-дезоксид-20-гидроксиэкидзон
11	33.933	244	Экидстероид 2

Как следует из данных таблицы 2, наблюдается различное влияние ультразвука на процесс экстракции соединений из разных растительных объектов. Так из *Lychnis chalconica*, со средним уровнем экидстероидов, уже после 60 мин воздействия достигается извлечение 20Е равное контролю, а после 90 мин – превышающее его уровень на 49%. Последующее воздействие ультразвука повлекло уменьшение уровня 20Е до контроля.

Из *Silene frivaldszkyana*, вида с высоким содержанием экидстероидов [7–9], извлекается 94% 20Е (по отношению к контролю) только через 120 мин УЗ воздействия. Уровень 20Е при извлечении из *Silene frivaldszkyana* по сравнению с *Lychnis chalconica* в течение одинакового времени воздействия ультразвуком 90 мин выше в 2 раза, а в течение 120 мин в 4 раза.

Сравнительный анализ содержания 20Е в экстракте, полученном на водяной бане в течение 12 ч и с помощью ультразвука, показал, что наибольший выход 20Е из *S. viridiflora* – 88% от контроля отмечен при действии ультразвука в течение 60 мин. Для *S. roemerii* наибольший выход наблюдался при воздействии ультразвука в течение 90 мин, содержание 20Е на 9% больше по сравнению с контролем. Наибольший выход при воздействии ультразвука в течение 120 мин наблюдался у *S. sendtneri*, *S. colpophylla* – 94 и 96% соответственно. При неполном извлечении фитоэкидстероидов под действием ультразвука потери в содержании незначительны и составляют 0.02–0.11%.

Таблица 2. Содержание 20Е в объектах исследования до и после УЗ воздействия, % на абс. сухое сырье

Вид растений	Время УЗ воздействия, мин			
	контроль	60	90	120
<i>Silene viridiflora</i>	0.68 ± 0.01	0.60 ± 0.06	0.41 ± 0.05	0.47 ± 0.03
<i>Silene sendtneri</i>	1.50 ± 0.04	1.24 ± 0.04	1.27 ± 0.04	1.41 ± 0.11
<i>Silene roemerii</i>	0.91 ± 0.002	0.80 ± 0.11	1.00 ± 0.04	0.80 ± 0.14
<i>Silene colpophylla</i>	0.48 ± 0.12	0.41 ± 0.03	0.38 ± 0.03	0.46 ± 0.03
<i>Silene frivaldszkyana</i>	1.78 ± 0.04	0.78 ± 0.01	1.20 ± 0.03	1.67 ± 0.04
<i>Lychnis chalconica</i>	0.41 ± 0.01	0.41 ± 0.01	0.61 ± 0.02	0.43 ± 0.02

Важным результатом является то, что действие ультразвука снижает время экстрагирования экидистероидов из объектов исследования в 6–12 раз. Кроме того, положительным моментом является уменьшение объемов используемого экстрагента в 2 раза.

Ультразвук можно использовать в экспресс-анализе содержания БАВ при проведении скрининга.

Как следует из данных таблицы 3, максимумы поглощения комплексов флавоноидов с хлористым алюминием после воздействия ультразвука идентичны таковым в контроле. Кроме того, с увеличением времени воздействия ультразвука выход флавоноидов увеличивается. Анализ экстрактов, полученных в результате экстракции флавоноидов из наземной части *Silene frivaldszkyana*, показал, что уровень флавоноидов контроля достигнут в образце после 60 мин обработки, максимальное увеличение содержания этих фенольных соединений достигло 29% после 120 мин воздействия ультразвука на сырье при одновременном протекании процесса экстракции.

Таблица 3. Влияние ультразвукового воздействия на степень извлечения флавоноидов из растительного сырья

№	Время УЗ воздействия, мин	λ_{max} , нм	Содержание флавоноидов, % по рутину	Степень извлечения по отношению к контролю, %
<i>Lychnis chalconica</i>				
1	Контроль	392	1.97	100
2	30	395	1.91	96.96
3	60	392	2.37	120.30
4	90	392	2.78	141.12
<i>Silene frivaldszkyana</i>				
5	Контроль	393	1.40	100
6	30	393	1.05	75.0
7	60	392	1.41	100.71
8	90	393	1.64	117.14
9	120	394	1.80	128.57

Воздействие ультразвука на *Lychnis chalconica* проводили в интервале от 30 до 90 мин. Наибольший выход флавоноидов наблюдался в образце после обработки в течение 90 мин, повышение по отношению к контролю составило 41%.

Выводы

1. Применение ультразвукового воздействия на процесс экстракции позволяет достичь высокой степени извлечения экидистероидов и флавоноидов из видов семейства *Caryophyllaceae*.
2. Время экстракции экидистероидов уменьшается в 6–12 раз.
3. Время УЗ воздействия на вид, видимо, обусловлено специфичностью состава и содержанием вторичных метаболитов, максимальное извлечение как экидистероидов, так флавоноидов из *Lychnis chalconica* достигается за 90, *Silene frivaldszkyana* – за 120 мин.

Список литературы

1. Хмелева А.Н. Влияние ультразвукового облучения на ризогенную активность растительных объектов в присутствии регуляторов роста: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Барнаул, 2009. 16 с.
2. Cravotto G., Boffa L., Mantegna S., Perego P., Avogadro M., Cintas P. Improved extraction of vegetable oil under high – intensity ultrasound and/or microwaves // *Ultrasonics Sonochemistry*. 2008. Vol. 15. Pp. 898–902.
3. Молчанов Г.И. Ультразвук в фармации. М.: Медицина, 1980. 176 с.
4. Брук М.М. Получение лекарственных препаратов из растительного и животного сырья под действием ультразвука // *Ультразвук в физиологии и медицине*. Ростов-на-Дону, 1972. Т. 1. С. 115–116.
5. Патент № 2321420 (РФ). Средство «Экидистерон-80», обладающее кардиопротекторной, адаптогенной, антигипоксической, гастропротекторной, термопротекторной, анаболической и актопротекторной активностью, и способ его производства / В.В. Пунегов, В.Н. Федоров, Н.А. Смирнов, Л.А. Башлыкова, Н.В. Пунегова, В.Г. Зайнуллин, Р.Л. Сычев, А.А. Раков, А.В. Сидоров / 2008.
6. Патент № 2472519 (РФ). Способ увеличения степени извлечения экидистероидов из растительных объектов / Л.Н. Зибарева, В.И. Еремина / 2013.
7. Зибарева Л.Н. Фитоэкидистероиды растений семейства *Caryophyllaceae*. LAP Lambert Academic Publishing GmbH&Co, 2012. 195 с.

8. Zibareva L., Yeriomina V.I., Munkhjargal N., Girault J.-P., Dinan L., Lafont R. The Phytoecdysteroid Profiles of 7 Species of *Silene* (Caryophyllaceae) // Archives of insect biochemistry and physiology. 2009. Vol. 72. N4. Pp. 234–248.
9. Зибарева Л.Н., Волкова О.В., Морозов С.В., Черняк Е.И. Фитоэктистероиды корней *Silene frivaldszkiana* Hampe // Химия растительного сырья. 2017. №1. С. 71–75.
10. Плотников М.Б., Зибарева Л.Н., Васильев А.С., Алиев О.И., Маслов М.Ю., Дмитрук С.Е. Гемореологическая активность эктистерона и различных фракций экстракта из надземной части *Lychnis chalconica* L. *in vitro* // Растительные ресурсы. 2000. Т. 36, вып. 3. С. 91–94.
11. Патент № 2160592 (РФ). Гемореологическое средство / Л.Н. Зибарева, О.И. Алиев, А.А. Колтунов, М.Б. Плотников / 2000.
12. Патент № 2435602 (РФ). Способ получения противогрибкового средства из растительного сырья / Л.Н. Зибарева / 2011.
13. Шилова Н.В., Зибарева Л.Н., Зуева Е.П., Амосова Е.Н., Разина Т.Г., Еремина В.И. Скрининговая оценка противоопухолевых свойств некоторых видов семейства Гвоздичных // Поиск, разработка и внедрение новых лекарственных средств и организационных форм фармацевтической деятельности: материалы международной научной конференции. Томск, 2000. С. 201–202.
14. Zibareva L.N., Zueva E.P., Razina T.G., Amosova E.N., Krylova S.G., Lopatina K.A., Rybalkina O.Y., Badulina A.A., Safonova E.A., Babushkina M.S., Filonenko E.S., Galiulina A.V. The effect of *Lychnis chalconica* L. flavonoids on the development of tumors in mice and the effectiveness of treatment with cyclophosphamide // New operational technologies (NEWOT'2015): Proceedings of the 5th International Scientific Conference «New Operational Technologies». Tomsk, 2015. Vol. 1688. 030031; <http://dx.doi.org/10.1063/1.4936026>
15. Krylova S.G., Zueva E.P., Zibareva L.N., Amosova E.N., Razina T.G. Antiulcer activity of extracts of ecdysteroid containing plant of genera *Lychnis* and *Silene* Caryophyllaceae family // Bulletin of experimental biology and medicine. 2014. Vol. 158. N2. Pp. 225–228.
16. Патент № 2629090 (РФ). Средство, обладающее гастропротекторной активностью / С.Г. Крылова, Л.Н. Зибарева, Е.П. Зуева, Е.Н. Амосова, О.Ю. Рыбалкина, К.А. Лопатина / 2017.
17. Патент № 2119331 (РФ). Средство для лечения ожоговых ран «Витадерм» / В.Н. Дармограй, С.М. Потехинский, Ю.И. Ухов, В.К. Петров, С.С. Потехинский, С.В. Дармограй / 1998.
18. Патент № 2299064 (РФ). Способ лечения гнойных ран / В.Н. Дармограй / 2007.
19. Патент № 2138277 (РФ). Средство для комплексного лечения ожоговых и посттравматических ран / В.Н. Дармограй и др. / 1999.
20. Зибарева Л.Н., Лафон Р., Дайнен Л. Влияние экологических условий Западной Сибири на аккумуляцию эктистероидов в растениях, интродуцированных из ботанических садов Западной Европы // Актуальные проблемы экологии и природопользования Сибири в глобальном контексте: сборник статей. Томск, 2007. С. 132–135.
21. Якубова М.Р., Генкина Г.Л., Шакиров Т.Т., Абубакиров Н.К. Хроматоспектрофотометрический метод определения эктистерона в растительном сырье // Химия природных соединений. 1978. №6. С. 737–740.
22. Государственная фармакопея. XIII изд. М.: Медицина, 2015. 1469 с.

Поступило в редакцию 15 января 2018 г.

После переработки 16 марта 2018 г.

Для цитирования: Зибарева Л.Н., Филоненко Е.С. Влияние ультразвукового воздействия на экстракцию биологически активных соединений растений семейства *Caryophyllaceae* // Химия растительного сырья. 2018. №2. С. 145–151. DOI: 10.14258/jcrpm.2018023703

Zibareva L.N.* , Filonenro E.S. THE INFLUENCE OF ULTRASONIC TREATMENT ON THE EXTRACTION OF BIOLOGICALLY ACTIVE COMPOUNDS OF PLANTS OF THE FAMILY CARYOPHYLLACEAE

National research Tomsk state University, pr. Lenina, 36, Tomsk, 634050 (Russia), e-mail: zibareva.lara@yandex.ru

The influence of ultrasonic irradiation on extraction of secondary metabolites from plants of the family Caryophyllaceae was studied. It is shown that while carrying out extraction and the effects of ultrasound observed acceleration of the extraction process such biologically active compounds as ecdysteroids and flavonoids. The time of extraction of ecdysteroids from the aerial part of *Silene viridiflora*, *Silene sendtneri*, *Silene roemerii*, *colpophylla Silene*, *Silene frivaldszkyana* and *Lychnis chalconica* decreased by 6–12 times. Found that ultrasound has a different effect on the process of extraction of compounds from different plant species. *Lychnis chalconica*, with an average level of ecdysteroids, after 60 minutes of exposure is achieved by the extraction of the ecdysteroids is equal to the control, and after 90 min, exceeding its level by 49%. From *Silene frivaldszkyana* - species with high content of ecdysteroids control level were achieved after 120 min of ultrasonic treatment. High-intensity ultrasound accelerates the process, reduces the volume of solvents and increases the yield of flavonoids in 28–41% in comparison with the control. The destructive effect of ultrasound on the secondary metabolites not observed, as confirmed by UV-spectra and high performance liquid chromatography.

Keywords: phytoecdysteroids, flavonoids, *Silene*, *Lychnis*, ultrasound, extraction.

References

1. Khmeleva A.N. *Vliyanie ul'trazvukovogo oblucheniia na rizogennuiu aktivnost' rastitel'nykh ob'ektov v pri-sutstvii reguliatorov rosta. Avtoref. dis. ... kand. biol. nauk.* [Effect of ultrasonic irradiation on the rhizogenic activity of plant objects in the presence of growth regulators. Author's abstract. dis. ... Cand. Biol. Sciences.]. Barnaul, 2009, 16 p. (in Russ.).
2. Cravotto G., Boffa L., Mantegna S., Perego P., Avogadro M., Cintas P. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2008, vol. 15, pp. 898–902.
3. Molchanov G.I. *Ul'trazvuk v farmatsii.* [Ultrasound in Pharmacy]. Moscow, 1980, 176 p. (in Russ.).
4. Bruk M.M. *Ul'trazvuk v fiziologii i meditsine.* [Ultrasound in Physiology and Medicine]. Rostov-na-Donu, 1972, vol. 1, pp. 115–116. (in Russ.).
5. Patent 2321420 (RU). 2008. (in Russ.).
6. Patent 2472519 (RU). 2013. (in Russ.).
7. Zibareva L.N. *Fitoekdisteroidy rastenii semeistva Caryophyllaceae.* [Phytoecdysteroids of plants of the family Caryophyllaceae]. LAP Lambert Academic Publishing GmbH&Co, 2012, 195 p. (in Russ.).
8. Zibareva L., Yeriomina V.I., Munkhjargal N., Girault J.-P., Dinan L., Lafont R. *Archives of insect biochemistry and physiology*, 2009, vol. 72, no. 4, pp. 234–248.
9. Zibareva L.N., Volkova O.V., Morozov S.V., Cherniak E.I. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2017, no. 1, pp. 71–75. (in Russ.).
10. Plotnikov M.B., Zibareva L.N., Vasil'ev A.S., Aliev O.I., Maslov M.Iu., Dmitruk S.E. *Rastitel'nye resursy*, 2000, vol. 36, no. 3, pp. 91–94. (in Russ.).
11. Patent 2160592 (RU). 2000. (in Russ.).
12. Patent 2435602 (RU). 2011. (in Russ.).
13. Shilova N.V., Zibareva L.N., Zueva E.P., Amosova E.N., Razina T.G., Eremina V.I. *Poisk, razrabotka i vnedrenie novykh le-karstvennykh sredstv i organizatsionnykh form farmatsevticheskoi deiatel'nosti: materialy mezhdunarodnoi nauchnoi konferentsii.* [Search, development and introduction of new medicines and organizational forms of pharmaceutical activity: materials of the international scientific conference]. Tomsk, 2000, pp. 201–202. (in Russ.).
14. Zibareva L.N., Zueva E.P., Razina T.G., Amosova E.N., Krylova S.G., Lopatina K.A., Rybalkina O.Y., Badulina A.A., Safonova E.A., Babushkina M.S., Filonenko E.S., Galiulina A.V. *New operational technologies (NEWOT'2015): Proceedings of the 5th International Scientific Conference «New Operational Technologies»*, Tomsk, 2015, vol. 1688, 030031; <http://dx.doi.org/10.1063/1.4936026>
15. Krylova S.G., Zueva E.P., Zibareva L.N., Amosova E.N., Razina T.G. *Bulletin of experimental biology and medicine*, 2014, vol. 158, no. 2, pp. 225–228.
16. Патент № 2629090 (РФ). Средство, обладающее гастропротекторной активностью / С.Г. Крылова, Л.Н. Зибарева, Е.П. Зуева, Е.Н. Амосова, О.Ю. Рыбалкина, К.А. Лопатина / 2017. (in Russ.).
17. Patent 2119331 (RU). 1998. (in Russ.).
18. Patent 2299064 (RU). 2007. (in Russ.).
19. Patent 2138277 (RU). 1999. (in Russ.).
20. Zibareva L.N., Lafon R., Dainen L. *Aktual'nye problemy ekologii i prirodopol'zovaniia Sibiri v global'nom kontekste: sbornik statei.* [Actual problems of ecology and nature management of Siberia in a global context: a collection of articles]. Tomsk, 2007, pp. 132–135. (in Russ.).
21. Iakubova M.R., Genkina G.L., Shakirov T.T., Abubakirov N.K. *Khimiia prirodnnykh soedinenii*, 1978, no. 6, pp. 737–740. (in Russ.).
22. *Gosudarstvennaia farmakopeia. XIII izd.* [State Pharmacopoeia. XIII ed.]. Moscow, 2015, 1469 p. (in Russ.).

Received January 15, 2018

Revised March 16, 2018

For citing: Zibareva L.N., Filonenro E.S. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2018, no. 2, pp. 145–151. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprn.2018023703

* Corresponding author.

