

УДК 615.322+54.062

3.4.2 Фармацевтическая химия, фармакогнозия

DOI: 10.37903/vsgma.2023.3.26 EDN: MBZGJZ

**ИДЕНТИФИКАЦИЯ И КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФЛАВОНОИДОВ В БИОМАССЕ ХЛОРЕЛЛЫ (*CHLORELLA VULGARIS* IPPAS C-2019)**© Митишев А.В.<sup>1</sup>, Курдюков Е.Е.<sup>1</sup>, Семенова Е.Ф.<sup>2</sup>, Феднина А.С.<sup>1</sup>, Евтушенко А.И.<sup>1</sup><sup>1</sup>Пензенский государственный университет, Россия, 440026, Пенза, ул. Красная, 40<sup>2</sup>Медицинская академия имени С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского», Россия, 295007, Республика Крым, Симферополь, проспект Академика Вернадского, 4*Резюме*

**Цель.** Разработать методики количественного определения суммы флавоноидов в биомассе *Chlorella vulgaris* IPPAS C-2019. Провести исследования по выбору оптимальных параметров экстрагирования биомассы хлореллы C-2019 с целью получения экстрактов с высоким содержанием БАС.

**Методика.** Объектом исследования являлась биомасса штамма *Chlorella vulgaris* Beyerinck ИФР C-2019. Для получения извлечений использовались: 95% этиловый спирт, гексан, ацетон, гептан, петролейный эфир. Для доказательства присутствия флавоноидов проводили качественные реакции: цианидиновая проба (проба Шинода), реакция с гидроксидом натрия, реакция с хлоридом алюминия. Количественное содержание суммы флавоноидов проводили спектрофотометрическим методом на Спектрофотометре СФ-201.

**Результаты.** Проведенные качественные реакции показали, что все экстракты хлореллы штамма C-2019 содержат флавоноиды. Было установлено, что в присутствии алюминия хлорида наблюдался bathochromный сдвиг электронного спектра поглощения экстрактов хлореллы с максимумом поглощения, аналогичным раствору СО рутина (413 нм). Поэтому, при проведении количественного определения суммы флавоноидов в экстрактах из биомассы хлореллы, в качестве стандартного образца нами был выбран рутин. Наиболее полное извлечение флавоноидов наблюдалось при использовании в качестве экстрагента, петролейного эфира и спирта этилового 95%. Затем были определены временные параметры экстракции, обнаружено, что в течение 60 минут происходит максимальное извлечение флавоноидов из сырья. В ходе статистической обработки данных пяти параллельных измерений выявлено, что содержание суммы флавоноидов, в пересчете на рутин, составляет 1,55-1,6%.

**Заключение.** Доказано наличие флавоноидов в биомассе хлореллы (*Chlorella vulgaris* IPPAS C-2019) с использованием качественных реакций. Выявлено, что содержание флавоноидов в сырье хлореллы, при использовании различных экстрагентов, варьируется в интервале от 0,1 до 1,62%. Установлены оптимальные условия (экстрагент – спирт этиловый 95%, соотношение «сырье – экстрагент» – 1:50; время экстракции – 60 минут) максимальной экстракции флавоноидов из биомассы хлореллы. Разработана методика количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин.

**Ключевые слова:** микроводоросли, *Chlorella vulgaris*, биомасса хлореллы, спектрофотометрия, флавоноиды

**IDENTIFICATION AND QUANTITATION OF FLAVONOIDS IN CHLORELLA BIOMASS (*CHLORELLA VULGARIS* IPPAS C-2019)**Mitishev A.V.<sup>1</sup>, Kurdyukov E.E.<sup>1</sup>, Semenova E.F.<sup>2</sup>, Fednina A.S.<sup>1</sup>, Evtushenko A.I.<sup>1</sup><sup>1</sup>Penza State University, 40, Krasnaya St., 440026, Penza, Russia<sup>2</sup>Medical Academy named after S.I. Georgievsky of Vernadsky CFU, 4, Prospekt Vernadskogo, 295007, Simferopol, Republic of Crimea, Russia*Abstract*

**Objective.** To develop methods for quantifying the amount of flavonoids in the biomass of *Chlorella vulgaris* IPPAS C-2019. To conduct research on the selection of optimal parameters for the extraction of chlorella biomass From 2019 in order to obtain extracts with a high content of BAC.

**Methods.** The object of the study was the biomass of the strain *Chlorella vulgaris* Beyerinck IGF C-2019. To obtain extracts, 95% ethyl alcohol, hexane, acetone, heptane, petroleum ether were used. To prove the

presence of flavonoids, qualitative reactions were carried out: cyanidin test (Shinoda test), reaction with sodium hydroxide, reaction with aluminum chloride. The quantitative content of the sum of flavonoids was carried out by the spectrophotometric method on the SF-201 Spectrophotometer.

**Results.** Qualitative reactions have shown that all chlorella extracts of the C-2019 strain contain flavonoids. It was found that in the presence of aluminum chloride, a bathochromic shift of the electronic absorption spectrum of chlorella extracts was observed with an absorption maximum similar to the solution of CO rutin (413 nm). Therefore, when quantifying the amount of flavonoids in extracts from chlorella biomass, we selected rutin as a standard sample. The most complete extraction of flavonoids was observed when using 95% ethyl alcohol and petroleum ether as an extractant. Then the time parameters of extraction were determined, it was found that the maximum extraction of flavonoids from raw materials takes place within 60 minutes. In the course of statistical processing of data from five parallel measurements, it was revealed that the content of the sum of flavonoids, in terms of rutin, is 1.55-1.6%.

**Conclusions.** The presence of flavonoids in the biomass of chlorella (*Chlorella vulgaris* IPPAS C-2019) has been proven using qualitative reactions. It was revealed that the content of flavonoids in chlorella raw materials, when using various extractants, varies in the range from 0.1 to 1.62%. Optimal conditions (extractant - ethyl alcohol 95%, ratio "raw material - extractant" – 1:50; extraction time - 60 minutes) were established for maximum extraction of flavonoids from chlorella biomass. A technique has been developed for the quantitative determination of the amount of flavonoids in terms of rutin.

*Keywords:* microalgae, *Chlorella vulgaris*, chlorella biomass, spectrophotometry, flavonoids

## Введение

В последние десятилетия внимание исследователей обращено на растения, характеризующиеся высокой способностью к образованию вторичных веществ, относящихся к полифенольным соединениям в т.ч. флавоноидам [2].

Флавоноиды (рутин, кверцетин, гесперидин, катехины) являются соединениями, которые при регулярном приеме нормализуют состояние стенок сосудов и капилляров, увеличивают их прочность и эластичность, т.е. проявляют Р-витаминную активность, также они обладают антимикробными [9], антиоксидантными, противовоспалительными эффектами [4, 10, 11].

Одними из перспективных продуцентов, способных накапливать данные вещества, является микроводоросль *Chlorella*, представляющая собой обширную группу эукариотических, в основном фотоавтотрофных, микроорганизмов [6]. Хлорелла способна расти в крупномасштабных условиях. Согласно данным библиографических источников, микроводоросль хлорелла содержат различные классы флавоноидов, такие как изофлавоны, флавонолы, флаваноны и дигидрохалконы [6, 8]. Штаммы микроводоросли *Chlorella* отличаются высокой скоростью роста и проявляют хорошо выраженные антагонистические свойства при плотности клеток в культуре более 10 млн./мл, гибель бактерий наступает через 6-10 часов культивирования [7]. Несмотря на значительное количество исследований в области изучения флавоноидов микроводорослей, разработка метода количественного определения данных веществ является актуальным. Одним из наиболее простых, точных, быстрых и дешевых методов определения флавоноидов является дифференциальная спектрофотометрия [1, 3, 8]. В связи со сложившейся ситуацией в стране и мире, поиск новых отечественных, экономически выгодных источников флавоноидов является перспективным направлением исследований.

Целью исследования явилась разработка методики количественного определения суммы флавоноидов в биомассе *Chlorella vulgaris* IPPAS C-2019.

## Методика

Объектом исследования являлась биомасса штамма *Chlorella vulgaris* Beyerinck ИФР C-2019. Биомассу сушили при температуре не выше 40 °С в сушильном шкафу. Измельчение биомассы производили на гомогенизаторе Mikro-Dismembrator. В порошке альгомаcсы присутствуют частицы размером от 0,125 до 0,5 мм, причем большинство частиц порошка биомассы имеет размеры 0,125-0,160 мм.

Для получения извлечений использовались: 95% этиловый спирт, гексан, ацетон, гептан, петролейный эфир. Для доказательства присутствия флавоноидов проводили качественные реакции [5] с экстрактами биомассы хлореллы, полученными методом мацерации при температуре 25 °С, соотношении 1:30 и продолжительности 180 мин. Основной специфической реакцией на

флавоноиды, является цианидиновая проба (проба Шинода): к 500 мкл экстрактов хлореллы добавляли порошок магния и конц. HCl, появление красного окрашивания свидетельствует о наличии флавоноидов. Реакция с гидроксидом натрия: 500 мкл экстракта растворяли в 1 мл 10% NaOH и добавляли несколько капель концентрированного HCl. На присутствие флавоноидов указывало появление желтого окрашивания. Реакция с хлоридом алюминия: к 500 мкл экстрактов добавляли 2-3 капли 3% спиртового раствора хлорида алюминия, наблюдается реакция комплексообразования и появление желтого окрашивания с яркой зеленой флуоресценцией в УФ-лучах.

Количественное содержание суммы флавоноидов проводили спектрофотометрическим методом на Спектрофотометре СФ-201 (ЗАО «НПКФ Аквилон», Россия). Для количественного определения суммы флавоноидов аналитическую навеску сырья, примерно 1 г биомассы, помещали в колбу со шлифом, вместимостью 100 мл и заливали 50 мл экстрагента. Колбу закрывали пробкой и взвешивали на лабораторных весах, с точностью до 10 мг. Колбу присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на кипящей водяной бане 60 мин. Затем колбу охлаждали в течение 30 мин, закрывали той же пробкой, снова взвешивали и восполняли недостающий экстрагент до первоначальной массы колбы. Извлечения фильтровали через бумажный беззольный фильтр (красный). 2 мл извлечения (раствор А) количественно переносили в мерную колбу на 25 мл, прибавляли 2 мл раствора алюминия хлорида 3% в спирте 95% и через 10 мин. – 2 капли разведенной уксусной кислоты. Объем раствора доводили до метки экстрагентом и оставляли на 30 мин. (раствор Б). В качестве раствора сравнения использовали раствор, приготовленный при тех же условиях, но без алюминия хлорида.

Приготовление раствора СО рутина: 20 мг (точная навеска) рутина, помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, взвешивали и растворяли при нагревании на водяной бане в 50 мл спирта 95%, охлаждали, взвешивали, недостающий объем раствора восполняли спиртом этиловым 95% и перемешивали (раствор А СО рутина). 2 мл раствора СО рутина (раствора) количественно переносили в мерную колбу на 25 мл, прибавляли 2 мл спиртового раствора алюминия хлорида 2% и через 10 мин – 1 каплю разведенной уксусной кислоты 30%. Объем раствора доводили до метки спиртом этиловым 95% и оставляли на 30 мин. (раствор Б СО рутина). В качестве раствора сравнения использовали раствор, приготовленный при тех же условиях, но без алюминия хлорида.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин и абсолютно сухое сырье в процентах (X), вычисляли по формуле:

$$X = \frac{A \cdot m_0 \cdot 100 \cdot 50 \cdot 2 \cdot 25 \cdot 100}{A_0 \cdot m \cdot 2 \cdot 50 \cdot 25 \cdot (100 - W)}$$

где: А – оптическая плотность испытуемого раствора; А<sub>0</sub> – оптическая плотность раствора СО рутина; m<sub>0</sub> – масса СО рутина, г; m – масса сырья, г; W – потеря в массе при высушивании, %.

## Результаты исследования и их обсуждение

Биомассу штамма *Chlorella vulgaris* ИФР С-2019 экстрагировали пятью различными растворителями. Все экстракты микроводорослей в своем составе содержали флавоноиды (табл. 1). Известно, что реакции на флавоноиды основаны на образовании окрашенных комплексных соединений. В качестве основной специфической реакции на флавоноиды использовалась цианидиновая проба (проба Шинода). При добавлении порошка магния и конц. HCl к экстрактам хлореллы, появлялось красное окрашивание, свидетельствующее о наличии флавоноидов. При добавлении гидроксида натрия к экстрактам хлореллы наблюдали появление желтого окрашивания. В реакции с хлоридом алюминия: наблюдалась реакция комплексообразования и появление желтого окрашивания с яркой зеленой флуоресценцией в УФ-лучах. Таким образом, все тесты дали положительные результаты, следовательно, все экстракты хлореллы штамма С-2019 содержат флавоноиды.

Таблица 1. Результаты качественных реакций на флавоноиды с экстрактами из биомассы хлореллы

Экстракт	Проба Шинода: Mg + HCl	NaOH	AlCl <sub>3</sub>
Ацетоновый	++	++	++
Спиртовой	+++	++	+++
Гептановый	+	++	+
Гексановый	+	+	+
Петролейный	+++	++	+++

Примечание: высокая интенсивность окраски (+++), Умеренная интенсивность окраски (++) , Низкая интенсивность окраски (+) и отсутствие (-)

Так как на сегодняшний день состав фенольных соединений биомассы хлореллы штамма С-2019 еще не изучен, при разработке методов определяли сумму веществ (флавоноидов) в полученных экстрактах.

Разработку методики количественного определения флавоноидов в сырье хлореллы штамма С-2019 проводили в несколько этапов. На первом этапе было показано, что спектры поглощения извлечений биомассы хлореллы имеют максимумы поглощения спектральных кривых при 337 нм., характерных для веществ флавоноидной природы. Следует отметить, что при использовании различных экстрагентов, данные параметры были неизменны. Было установлено, что в присутствии алюминия хлорида наблюдался bathochromic сдвиг электронного спектра поглощения экстрактов хлореллы с максимумом поглощения, аналогичным раствору СО рутин (413 нм), (рис. 1).

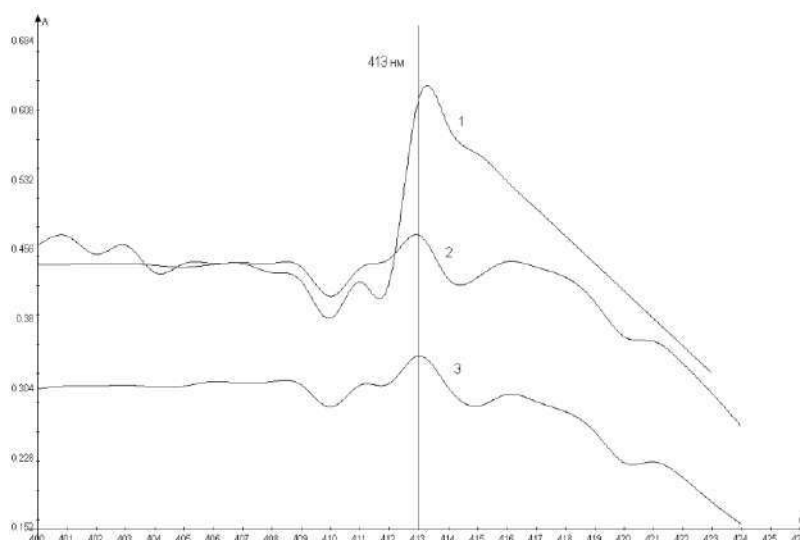


Рис. 1. Спектры поглощения извлечений с добавлением алюминия хлорида (1 – спиртовой раствор рутин; 2 – спиртовое извлечение; 3 – петролейное извлечение)

Поэтому, при проведении количественного определения суммы флавоноидов в экстрактах из биомассы хлореллы, в качестве стандартного образца нами был выбран рутин.

Следующим этапом было проведение эксперимента по определению экстрагента. Наиболее полное извлечение флавоноидов наблюдалось при использовании в качестве экстрагента, петролейного эфира и спирта этилового 95% (рис. 1).

На третьем этапе было определено оптимальное соотношение «сырье-экстрагент» (1:50). Затем были определены временные параметры экстракции, обнаружено, что в течение 60 минут происходит максимальное извлечение флавоноидов из сырья (табл. 2).

Таблица 2. Оптимальные показатели экстрагирования суммы флавоноидов из биомассы хлореллы С-2019 при длине волны 413 нм

Экстрагент	Соотношение «сырье: экстрагент»	Время экстракции, мин	Степень измельчения, мм	Значение оптической плотности, D	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин, %
Тип экстрагента					
Ацетон	1:50	45	0,125-0,160	0,16	0,72±0,011
Спирт этиловый	1:50	45	0,125-0,160	0,45	1,49±0,031
Гептан	1:50	45	0,125-0,160	0,20	1,12±0,023
Гексан	1:50	45	0,125-0,160	0,01	0,04±0,002

Петролейный эфир	1:50	45	0,125-0,160	0,32	1,41±0,036
Время экстракции					
Спирт этиловый	1:50	45	0,125-0,160	0,44	1,11±0,010
Спирт этиловый	1:50	60	0,125-0,160	0,66	1,62±0,025
Спирт этиловый	1:50	90	0,125-0,160	0,38	0,83±0,012
Спирт этиловый	1:50	120	0,125-0,160	0,29	0,61±0,011
Сырье:экстрагент					
Спирт этиловый	1:30	60	0,125-0,160	0,25	1,32±0,032
Спирт этиловый	1:50	60	0,125-0,160	0,48	1,58±0,028
Спирт этиловый	1:100	60	0,125-0,160	0,45	1,45±0,033

В ходе статистической обработки данных пяти параллельных измерений выявлено, что содержание суммы флавоноидов, в пересчете на рутин, составляет 1,55-1,6%. Прецизионность методики (уровень повторяемости) оценивали путем анализа исследуемого образца лекарственного растительного сырья в 5-кратной повторности (табл. 3).

Таблица 3. Результаты оценки прецизионности методики количественного определения суммы флавоноидов в биомассе хлореллы С-2019

Метрологические характеристики							
f	X, %	S <sup>2</sup>	S	P, %	t (табл.)	ΔX, %	ε, %
5	0,56	0,00017	0,0131	95	2,776	0,079	2,9

Для оценки внутрилабораторной прецизионности количественный анализ спиртового экстракта проводился другим аналитиком в другие дни с использованием того же оборудования (табл. 4). Каждый аналитик проводил исследования в пяти повторности. Для каждого образца проводились исследования в количестве пяти повторности. Из таблицы 4 видно, что ошибка единичного определения с доверительной вероятностью 95% составляет не более 2,77% при определении суммы флавоноидов методом прямой спектрофотометрии в пересчете на рутин. Следовательно, дисперсии результатов анализа обоих химиков статистически эквивалентны и различия между полученными значениями являются случайными.

Таблица 4. Валидационная оценка внутрилабораторной прецизионности методики определения суммы флавоноидов в биомассе хлореллы С-2019

Аналитик 1		Аналитик 2		Метрологические характеристики	
X, %	X, %	Аналитик 1	Аналитик 2		
0,55	0,55	X, % = 0,554	X, % = 0,550		
0,54	0,57	S <sup>2</sup> = 0,00013	S <sup>2</sup> = 0,00015		
0,56	0,54	S = 0,011	S = 0,012		
0,57	0,55	ΔX = 0,081	ΔX = 0,078		
0,55	0,54	ε, % = 2,56	ε, % = 2,77		

Таким образом, полученные данные свидетельствуют об отсутствии систематической ошибки разработанной методики и позволяют предложить ее для количественного определения суммарного содержания флавоноидов в биомассе хлореллы штамма С-2019 в пересчете на рутин.

## Заключение

В результате проведенных качественных реакций, было доказано наличие флавоноидов в экстрактах хлореллы С-2019. Разработана методика количественного определения суммы флавоноидов в экстрактах хлореллы методом спектрофотометрии, с использованием стандартного образца рутина при аналитической длине волны 413 нм. Определено содержание флавоноидов в экстрактах хлореллы, которое варьирует от 0,1% до 1,62%. Установлены оптимальные параметры экстракции флавоноидов из биомассы хлореллы штамма С-2019 (экстрагент – спирт этиловый

95%, соотношение «сырье-экстракт» 1:50, при температуре 95 °С и продолжительности 60 мин. на кипящей водяной бане). Проведена валидационная оценка разработанной методики по показателям прецизионность (уровень повторяемости), внутрилабораторная прецизионность, правильность в соответствии с ГФ РФ XIV издания. Исходя из результатов валидационной оценки результатов эксперимента, можно говорить о пригодности использования данной методики для количественной оценки суммы флавоноидов в пересчете на рутин, в биомассе хлореллы.

## Литература (references)

1. Курдюков Е.Е., Кузнецова А.В., Семенова Е.Ф. и др. К вопросу стандартизации по содержанию флавоноидов листьев стевии как перспективного лекарственного растительного сырья // Химия растительного сырья. – 2019. – Т.1. – С. 217-224. doi 10.14258/jcprm.2019014067. [Kurdjukov E.E., Kuznecova A.V., Semenova E.F. i dr. *Khimija Rastitel'nogo Syr'ja*. Chemistry of plant raw material. – 2019. – V.1. – P. 217-224. (in Russian)]
2. Куркин В.А. Актуальные аспекты стандартизации сырья и препаратов, содержащих фенольные соединения // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств. – 2022. – Т.12, №2. – С. 127-141. – DOI 10.30895/1991-2919-2022-12-2-127-141. [Kurkin V.A. *Vedomosti Naučnogo centra ekspertizy sredstv medicinskogo primeneniya*. Reguljatornye issledovanija i jekspertiza lekarstvennyh sredstv. Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation. – 2022. – V.12, N2. – P. 127-141. (in Russian)]
3. Куркина А.В., Савельева А.Е., Куркин В.А. Количественное определение суммы флавоноидов в цветках бархатцев отклоненных // Химико-фармацевтический журнал. – 2021. – Т.55, №2. – С. 46-50. doi: 10.30906/0023-1134-2021-55-2-46-50. [Kurkina A.V., Savel'eva A.E., Kurkin V.A. *Himiko-farmaceutičeskij zhurnal*. Pharmaceutical Chemistry Journal. – 2021. – V.55, N2. – P. 46-50. (in Russian)]
4. Лабковская М.В., Куркин В.А., Шмыгарева А.А. и др. Разработка методики количественного определения травы астрагала перепончатого *Astragalus membranaceus* L. Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2022. – Т.21, №4. – С. 225-229. doi 10.37903/vsgma.2022.4.31. [Labkovskaja M.V., Kurkin V.A., Shmygareva A.A. i dr. *Vestnik Smolenskoj gosudarstvennoj medicinskoj akademii*. Bulletin of the Smolensk State Medical Academy. – 2022. – V.21, N4. – P. 225-229. (in Russian)]
5. Марахова А.И., Сорокина А.А., Станишевский Я.М. Применение принципа сквозной стандартизации в анализе флавоноидов травы пустырника и препаратов на его основе. Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2016. – №1. – С. 150-154. [Marahova A.I., Sorokina A.A., Stanishevskij Ja.M. *Razrabotka i registracija lekarstvennyh sredstv*. Drug development and registration. – 2016. – N1. – P. 150-154. (in Russian)]
6. Митишев А.В., Курдюков Е.Е., Родина О.П. и др. Микроводоросли как новый источник биологически активных соединений, обладающих антибактериальной активностью // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2021. – Т.24, №7. – С. 24-29. doi 10.29296/25877313-2021-07-04. [Mitishev A.V., Kurdjukov E.E., Rodina O.P. i dr. *Voprosy biologičeskoj, medicinskoj i farmacevtičeskoj himii*. Problems of Biological, Medical and Pharmaceutical Chemistry. – 2021. – V.24, N7. – P. 24-29. (in Russian)]
7. Митишев А.В., Курдюков Е.Е., Семенова Е.Ф. и др. Фармакотехнологические исследования биомассы *Chlorella vulgaris* C-2019 как перспективного источника получения антибактериальных веществ. Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2022. – Т.11, №2. – С. 53-58. doi:10.33380/2305-2066-2022-11-2-53-58. [Mitishev A.V., Kurdjukov E.E., Semenova E.F. i dr. *Razrabotka i registracija lekarstvennyh sredstv*. Drug development and registration. – 2022. – V.11, N2. – P. 53-58. (in Russian)]
8. Bunaciu A.A., Vu Dang H., Hassan Y. Aboul-Enein. Applications of Differential Spectrophotometry in Analytical Chemistry // Critical Reviews in Analytical Chemistry. – 2013. – V.43, N3. – P. 25-130. doi: 10.1080/10408347.2013.803357.
9. Gorniak I., Bartoszewski R., Kroliczewski J. Comprehensive review of antimicrobial activities of plant flavonoids // Phytochem Rev. – 2019. – N18. – P. 245-256.
10. Zverev Ya. Antitumor activity of flavonoids // Bulletin of Siberian Medicine. – 2019. – N18. – P. 181-194. doi:10.20538/1682-0363-2019-2-181-194.

## Информация об авторах

*Митишев Александр Владимирович* – старший преподаватель кафедры «Общая и клиническая фармакология» ФГБОУ ВО «Пензенский государственный университет». E-mail: span2361@rambler.ru

*Курдюков Евгений Евгеньевич* – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры «Общая и клиническая фармакология» ФГБОУ ВО «Пензенский государственный университет». E-mail: e.e.kurdyukov@mail.ru

*Семенова Елена Федоровна* – кандидат биологических наук, профессор кафедры «Фармация» Медицинской академии имени С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского». E-mail: sef1957@mail.ru

*Евтушенко Алена Игоревна* – студентка стоматологического факультета ФГБОУ ВО «Пензенский государственный университет». E-mail: evtusenkoalena999@gmail.com

**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 17.03.2023

Принята к печати 28.09.2023