СОДЕРЖАНИЕ ФЕНОЛОВ И ФЛАВОНОИДОВ В МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ЧАСТЯХ *MELILOTUS OFFICINALIS*

¹М. А. Мулюкин, младший научный сотрудник
^{1,2}Д. А. Бараненко, кандидат технических наук, доцент
¹Ю. Ю. Петрова, кандидат химических наук, доцент
¹О. С. Сутормин, кандидат биологических наук, доцент
¹Сургутский государственный университет
²Национальный исследовательский университет ИТМО
E-mail: mulyukin_ma@surgu.ru

Ключевые слова: *Melilotus officinalis*, фенольные соединения, флавоноиды, ультразвуковая экстракция.

Реферат. Исследовано содержание фенольных соединений и флавоноидов в экстрактах из различных морфологических частей *Melilotus officinalis*. В процессе работы были оптимизированы условия ультразвуковой экстракции. Повышение температуры способствует увеличению содержания фенольных соединений независимо от размера частиц растительного материала. В большей степени температура повлияла на фракцию с размером частиц от 1,0 до 2,0 мм – выход фенольных соединений при температурном режиме экстракции 70 °С оказался в 2 раза выше по сравнению с экстракцией при 20 °С и составил 8,4 мг/г. При использовании соотношения сырья к экстрагенту как 1 : 30, так и 1 : 50 наблюдается увеличение содержания фенолов при времени экстракции до 20 мин. Проведение экстракции в соотношении 1 : 100 дольше 5 мин является нецелесообразным. С учетом оптимизированных параметров были получены экстракты из различных морфологических частей *M. officinalis* с помощью ультразвуковой ванны с использованием в качестве экстрагента этилового спирта в различных соотношениях с водой, а также определена концентрация фенольных соединений и флавоноидов. Содержание фенольных соединений превалирует в цветках и листьях донника лекарственного и достигает до 22,2 мг/г. Наибольшее содержание флавоноидов установлено в цветках растения при экстракции 50 % этиловым спиртом, оно составило 1,21 мг/г. В семенах донника содержание фенолов колеблется от 7,0 до 10,9 мг/г, причем с увеличением доли спирта в экстрагенте их концентрация падает. Содержание фенолов в стеблях и корнях увеличивается с повышением концентрации спирта до 50 % и составляет 6,3 и 5,3 мг/г соответственно. Однако для максимального извлечения фенолов из стеблей можно использовать этиловый спирт с концентрацией 30 %.

CONTENT OF PHENOLIC COMPOUNDS AND FLAVONOIDS IN MORPHOLOGICAL PARTS OF *MELILOTUS OFFICINALIS*

¹M. A. Mulyukin, Junior Researcher
^{1,2}D. A. Baranenko, PhD in Technical Sciences, Associate Professor
¹Yu. Yu. Petrova, PhD in Chemical Sciences, Associate Professor
¹O. S. Sutormin, PhD in Biological Sciences, Associate Professor
¹Surgut State University
²National Research University ITMO

Keywords: *Melilotus officinalis*, phenolic compounds, flavonoids, ultrasonic extraction.

Abstract. The aim of the work was to study the content of phenolic compounds and flavonoids in the extracts from different morphological parts of *Melilotus officinalis*. In this study, the conditions of ultrasonic extraction were optimized. An increase in temperature contributes to an increase in the phenolic compound content regardless of the particle size of the plant material. The temperature had a greater effect on the fraction with a particle size of 1.0 to 2.0 mm, since the yield of phenolic compounds at an extraction temperature of 70 °C is 2 times higher compared to extraction at 20 °C and is 8.4 mg/g. When using the raw material to

extractant ratio of 1:30 and 1:50, an increase in the phenol content is observed with an extraction time of up to 20 min. Carrying out extraction with a ratio of 1:100 for longer than 5 minutes is not practical. Considering the optimized parameters, extracts were obtained from various morphological parts of *M. officinalis* using an ultrasonic bath with ethyl alcohol as an extractant in various ratios with water, and the concentration of phenolic compounds and flavonoids was determined. The content of phenolic compounds is highest in the flowers and leaves of sweet clover and reaches 22.2 mg/g. The highest content of flavonoids was found in the flowers of the plant during extraction with 50% ethyl alcohol and is 1.21 mg/g. In sweet clover seeds, the content of phenols fluctuates from 7.0 to 10.9 mg/g, and with an increase in the proportion of alcohol in the extractant, their concentration decreases. The content of phenols in the stems and roots increases with an increase in the alcohol concentration to 50 % and is 6.3 and 5.3 mg/g, respectively. However, for maximum extraction of phenols from the stems, ethyl alcohol with a concentration of 30 % can be used.

В ответ на различные стрессовые факторы окружающей среды растительные объекты способны синтезировать вторичные метаболиты. К ним относятся фенольные соединения (ФС) и флавоноиды [1, 2]. Цветки, листья и плоды являются основными органами растений, в которых происходит накопление флавоноидов, стебли и корни содержат их в меньшем количестве. В фазы бутонизации и цветения содержание этих соединений достигают своего максимального уровня, в то время как в фазе плодоношения их количество уменьшается. Флавоноиды являются гидроксильными фенольными соединениями, степень замещения гидроксильными группами которых непосредственно влияет на биологическую активность [3]. По многочисленным исследованиям известно, что они обладают антиоксидантной, антимикробной, противораковой, противовоспалительной активностью, а также используются в профилактике и терапии кожных заболеваний [4–6].

Перспективным растительным материалом для данного исследования является *Melilotus officinalis* (донник лекарственный), двулетнее травянистое растение семейства бобовых (Fabaceae). Из донника, произрастающего в Грузии, удалось выделить 2 флавоноида: робинин и кемпферол-3-О-[галакто- ξ -глюко- ξ -арабо- ξ -рамнозид] [7]. Ученые из Курска установили, что преобладающим компонентом среди флавоноидных соединений был рутин, однако методом ВЭЖХ также были найдены робинин и кверцетин. Впервые удалось определить лютеолин, витексин, гиперозид и гесперидин [8]. Ученым из Китая удалось выделить лютеолин и кверцетин [9]. Из бутанольной фракции донника методом колоночной хроматографии был получен кемпферол-3-О- β -глюкопиранозид [10]. В траве донника лекарственного содержатся такие флавоноиды, как кловин, а в надземной части – кемпферол [11]. Исследование метанольного экстракта надземной части донника позволило установить присутствие следующих флавоноидных соединений: кемпферол-3-О- β -d-глюкопиранозил-7-О- α -L-рамнопиранозид, кверцетин-3-О- β -D-глюкопиранозил-7-О- α -L-рамнопиранозид, кемпферол-3-О- α -L-рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 6)- β -d-галактопиранозил-7-О- α -L-рамнопиранозид, кемпферол-3-О- α -L-рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 2)-[α -рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 6)]- β -галактопиранозил-7-О- α -рамнопиранозид и (3S,4R)-3-(2-гидрокси-4-метоксифенил)хроман-4,7-диол-7-О- β -d-глюкопиранозид(мелилоффициназид) [12].

Целью работы являлось исследование содержания фенольных соединений и флавоноидов в экстрактах из различных морфологических частей *Melilotus officinalis*.

Объектом исследований стал *M. officinalis*, его надземная часть (цветки, листья, стебли, семена) и подземная (корни). Заготовку растительного материала проводили в период цветения с 2023 по 2024 гг. на территории Сургутского района Ханты-Мансийского автономного округа – Югры (координаты местности 61,2779 °N; 72,9305 °E). Сушку проводили в темном помещении с хорошей вентиляцией при 18 °C. Сухой растительный материал измельчали на лабораторной мельнице (ЛЗМ-1М, Россия), взвешивали и хранили в двойных бумажных пакетах.

Для экстракции в коническую колбу помещали навеску *M. officinalis* весом 1 г (с точностью до 0,001 г), добавляли 100 мл этилового спирта с концентрацией этанола от 10 до 70 % и

проводили экстракцию в ультразвуковой (УЗ) ванне (Nordberg NU20, Китай) в течение 5 мин при температуре 60 °С. Частота ультразвука 40 кГц, мощность нагрева 100 Вт, мощность ультразвука 80 Вт.

Для определения содержания фенольных соединений и флавоноидов использовали спектрофотометрический метод (Shimadzu UV-1900i, Япония). Содержание фенольных соединений определяли в пересчете на галловую кислоту (не менее 98 % осн. в-ва) с использованием реактива Фолина-Чокальтеу [13]. Для этого растительные экстракты (0,5 мл) переносили в стеклянные пробирки и добавляли реактив Фолина-Чокальтеу (0,1Н Синтакон серия № 06-1) (2,0 мл), закрывали пробирку и убирали на 5 мин в темное место (инкубировали). Добавляли карбонат натрия 7,5 % (хч, НПО ЭКРОС) (2,5 мл) и убирали на 1,5 ч в темное место. Оптическую плотность растворов снимали при длине волны 765 нм. Содержание флавоноидов определяли в пересчете на кверцетин (не менее 98 % осн. в-ва). Для этого экстракт (1 мл) переносили в стеклянную пробирку, добавляли хлорид алюминия 2 % (1 мл) и приливали спирт 70 % этиловый до 10 мл. Приготовленные растворы убирали на 40 мин в темное место. Оптическую плотность растворов снимали при длине волны 431 нм. Толщина поглощающего слоя составляла 1 см.

Статистические данные были обработаны с помощью программного обеспечения MSExcel (16.0.14332.20763). Повторяемость и воспроизводимость результатов оценивались путем расчета стандартного отклонения и доверительного интервала 3 параллельных измерений с использованием уровня достоверности 0,95.

При проведении экстракции растительного материала *M. officinalis* с использованием УЗ ванны, оптимизированы следующие условия: размер частиц, температура экстракции, время экстракции и соотношение сырье : экстрагент. В качестве первоначальных фиксированных параметров использовали 1 г сырья (с точностью до 0,001 г), этиловый спирт 70 % в количестве 50 мл, время экстракции 10 мин.

Повышение температуры способствует увеличению содержания фенольных соединений независимо от размера частиц растительного материала. Оптимальная температура работы УЗ ванны для извлечения ФС составляет 60 °С, поскольку максимальное значение 11,2 мг/г при 70 °С находится в пределах погрешности. Очевидно, размер частиц сырья также влияет на извлечение фенолов, поскольку максимальное извлечение замечено при использовании размера частиц от 0,2 до 0,5 мм. Однако интересным является тот факт, что в большей степени температура повлияла на фракцию с размером частиц от 1,0 до 2,0 мм, так как выход ФС при температурном режиме экстракции 70 °С в данном случае оказался в 2 раза выше по сравнению с экстракцией при 20 °С и составил 8,4 мг/г. Содержание фенольных соединений для фракций с размером частиц 0,5–1,0 и 1,0–2,0 мм становится соразмерным при достижении температуры экстракции в 50 °С и выше (табл. 1).

Таблица 1

Содержание фенолов (мг/г) в *M. officinalis* при исследовании влияния размера частиц и температуры
Phenolic content (mg/g) in *M. officinalis* in a study of the effect of particle size and temperature

Температура, °С	Размер частиц, мм		
	0,2–0,5	0,5–1,0	1,0–2,0
20	8,7 ± 0,2	5,7 ± 0,4	4,2 ± 0,2
30	9,3 ± 0,3	5,8 ± 0,1	4,6 ± 0,1
40	9,8 ± 0,3	6,6 ± 0,2	5,9 ± 0,2
50	10,6 ± 0,2	7,2 ± 0,2	7,1 ± 0,1
60	11,0 ± 0,3	7,6 ± 0,3	8,0 ± 0,2
70	11,2 ± 0,2	8,9 ± 0,2	8,4 ± 0,3

При исследовании влияния соотношения сырья и экстрагента установлено, что с увеличением доли растворителя происходит увеличение ФС в экстракте *M. officinalis* и лучшим является соотношение 1 : 100. При таком соотношении концентрация фенолов возрастает и становится максимальной при экстракции до 5 мин и далее не наблюдается существенного изменения с увеличением времени экстракции. Напротив, при рассмотрении соотношения сырье : экстрагент как 1 : 30, так и 1 : 50 наблюдается увеличение содержания фенолов при времени экстракции до 20 мин, однако количество фенолов в таком случае извлекается меньше в среднем на 16,4 % относительно максимальной концентрации ФС, которая составляет 11,7 мг/г при экстракции с большим объемом растворителя и временем экстракции 5 мин. Дальнейшее увеличение времени экстракции является нецелесообразным, поскольку, вероятнее всего, фенолы разрушаются при длительном воздействии ультразвука (табл. 2).

Таблица 2

Содержание фенолов (мг/г) в *M. officinalis* при исследовании влияния времени экстракции и соотношения сырье : экстрагент
Phenolic content (mg/g) in *M. officinalis* in a study of the effect of extraction time and raw material : extractant ratio

Время, мин	Соотношение сырье : экстрагент		
	1 : 30	1 : 50	1 : 100
2	7,7 ± 0,3	8,2 ± 0,5	9,3 ± 0,5
5	9,3 ± 0,2	10,0 ± 0,5	11,7 ± 0,5
10	9,7 ± 0,4	9,8 ± 0,3	11,5 ± 0,4
20	9,8 ± 0,2	10,3 ± 0,2	11,0 ± 0,4
30	9,4 ± 0,4	10,8 ± 0,4	11,2 ± 0,4

В результате оптимизации условий экстракции с использованием УЗ ванны установлен наибольший выход фенолов при времени экстракции 5 мин, соотношении сырье : экстрагент как 1 : 100, измельчении растительного материала до размера частиц от 0,2 до 0,5 мм и нагревании до 60 °С.

С учетом оптимизированных параметров были получены экстракты из различных морфологических частей *M. officinalis* с помощью УЗ ванны с использованием в качестве экстрагента этилового спирта в различных соотношениях с водой, а также определена концентрация фенольных соединений и флавоноидов (табл. 3, 4).

Содержание фенольных соединений превалирует в цветках и листьях донника лекарственного, причем использование этилового спирта в концентрации от 10 до 30 % приводит к соразмерным результатам 22,0–22,2 мг/г. Дальнейшее увеличение концентрации спирта приводит к уменьшению содержания ФС, однако их содержание в цветках является наибольшим. В семенах донника содержание фенолов колеблется от 7,0 до 10,9 мг/г, причем с увеличением доли спирта в экстрагенте их концентрация падает. Содержание фенолов в стеблях и корнях увеличивается с повышением концентрации спирта до 50 % и составляет 6,3 и 5,3 мг/г соответственно. Однако для максимального извлечения фенолов из стеблей можно использовать этиловый спирт с концентрацией 30 % (табл. 3).

Таблица 3

Содержание фенольных соединений (мг/г) в экстрактах морфологических частей *M. officinalis*
Content of phenolic compounds (mg/g) in extracts of morphological parts of *M. officinalis*

Этанол, %	Содержание фенольных соединений, мг/г				
	Цветки	Листья	Стебли	Семена	Корни
10	21,1 ± 0,8	21,3 ± 0,5	5,8 ± 0,1	10,9 ± 0,1	4,6 ± 0,1
20	22,0 ± 0,6	22,2 ± 0,5	6,2 ± 0,1	10,5 ± 0,1	4,8 ± 0,1
30	22,0 ± 0,6	21,5 ± 0,4	6,3 ± 0,1	10,4 ± 0,1	5,4 ± 0,1
40	21,2 ± 0,5	19,5 ± 0,6	6,3 ± 0,1	9,6 ± 0,1	5,3 ± 0,1
50	20,8 ± 0,4	18,1 ± 0,5	6,3 ± 0,1	8,7 ± 0,1	5,9 ± 0,2
60	18,1 ± 0,7	15,6 ± 0,6	5,8 ± 0,1	8,0 ± 0,1	5,8 ± 0,1
70	19,7 ± 1,1	14,2 ± 0,5	5,4 ± 0,1	7,0 ± 0,2	5,7 ± 0,2

Заметно варьирование содержания флавоноидов при анализе экстрактов цветков, листьев и семян, полученных с помощью УЗ ванны. В такой последовательности их концентрация снижается от 1,21 до 0,08 мг/г. При изменении концентрации спирта замечено варьирование концентрации флавоноидов, однако достаточно сложно установить какую-либо закономерность. В целом, для цветков и листьев с повышением концентрации спирта увеличивается степень извлечения флавоноидов из растительного материала, в то время как для семян наблюдается обратная зависимость. Наибольшее содержание флавоноидов установлено в цветках растения при экстракции 50 % этиловым спиртом и составляет 1,21 мг/г, что в 1,6 и 4,7 раза больше по сравнению с максимальным содержанием в листьях и семенах соответственно (табл. 4).

Таблица 4

Содержание флавоноидов (мг/г) в экстрактах морфологических частей *M. officinalis*
Flavonoid content (mg/g) in extracts of morphological parts of *M. officinalis*

Этанол, %	Содержание фенольных соединений, мг/г		
	Цветки	Листья	Семена
10	1,03 ± 0,05	0,59 ± 0,06	0,23 ± 0,01
20	1,09 ± 0,03	0,58 ± 0,06	0,23 ± 0,01
30	1,09 ± 0,03	0,53 ± 0,04	0,26 ± 0,01
40	1,19 ± 0,04	0,48 ± 0,04	0,20 ± 0,02
50	1,21 ± 0,04	0,53 ± 0,05	0,13 ± 0,02
60	1,09 ± 0,03	0,60 ± 0,05	0,12 ± 0,01
70	1,18 ± 0,05	0,75 ± 0,06	0,08 ± 0,01

В стеблях обнаружено достаточно небольшое содержание флавоноидов – до 0,1 мг/г, в то время как в корнях и вовсе не удалось обнаружить данную группу биологически активных веществ. Следует также отметить, что оптимальная концентрация этилового спирта для извлечения флавоноидов из различных морфологических частей разная, и для цветков, листьев и семян составляет соответственно 50, 70 и 30 %.

По результатам исследования можно сделать следующие выводы.

1. Условия получения растительных экстрактов существенно влияют на выход биологически активных веществ.

2. В результате оптимизации условий экстракции с использованием УЗ ванны установлен наибольший выход фенолов при времени экстракции 5 мин, соотношении сырье : экстрагент как 1 : 100, измельчении растительного материала до размера частиц от 0,2 до 0,5 мм и нагревании до 60 °С.

3. Содержание фенольных соединений превалирует в цветках и листьях донника лекарственного и доходит до 22,2 мг/г.

4. Наибольшее содержание флавоноидов установлено в цветках растения при экстракции 50 % этиловым спиртом и составляет 1,21 мг/г.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (Программа Западно-Сибирского межрегионального научно-образовательного центра, соглашение № 4-ЦС от 08 ноября 2023 г.) и Правительства Ханты-Мансийского автономного округа – Югры, грант № 2023-227-28.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Kumar S., Pandey A. K. Chemistry and biological activities of flavonoids: An overview // *Sci. World J.* – 2013. – Vol. 2013, No. 1. – P. 162750. – DOI: 10.1155/2013/162750.
2. Dias M. C., Pinto D. C. G. A., Silva A. M. S. Plant Flavonoids: Chemical Characteristics and Biological Activity // *Molecules.* – 2021. – Vol. 26, No. 17. – P. 5377. – DOI: 10.3390/molecules26175377.
3. *Antibacterial Effects of Flavonoids and Their Structure-Activity Relationship Study: A Comparative Interpretation* / N. F. Shamsudin [et al.] // *Molecules.* – 2022. – Vol. 27, No. 4. – P. 1149. – DOI: 10.3390/molecules27041149.
4. *Pharmacologically active flavonoids from the anticancer, antioxidant and antimicrobial extracts of Cassia angustifolia Vahl* / S. I. Ahmed [et al.] // *BMC Complement. Altern. Med.* – 2016. – Vol. 16. – P. 460. – DOI: 10.1186/s12906-016-1443-z.
5. Maleki S. J., Crespo J. F., Cabanillas B. Anti-inflammatory effects of flavonoids // *Food Chem.* – 2019. – Vol. 299. – P. 125124. – DOI: 10.1016/j.foodchem.2019.125124.
6. *The potential of plant phenolics in prevention and therapy of skin disorders* / M. Działo [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2016. – Vol. 17, No. 2. – P. 160. – DOI: 10.3390/ijms17020160.
7. Sutiashvili M. G., Alaniya M. D. Flavonoids of *Melilotus officinalis* // *Chem. Nat. Compd.* – 1999. – Vol. 35, No. 5. – P. 584.
8. Бубенчикова В. Н., Дроздова И. Л. Изучение состава фенольных соединений донника лекарственного методом ВЭЖХ // *Химико-фармацевтический журнал.* – 2004. – Т. 38, № 4. – С. 24–25.
9. *Chemical Constituents and Antioxidant, Anti-Inflammatory and Anti-Tumor Activities of Melilotus officinalis* (Linn.) Pall / Y. T. Liu [et al.] // *Molecules.* – 2018. – Vol. 23, No. 2. – P. 271. – DOI: 10.3390/molecules23020271.
10. *Chemical constituents from Melilotus officinalis* / M. S. Anwer [et al.] // *JBAS.* – 2008. – Vol. 4, No. 2. – P. 89–94.
11. *Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Т. 3. Семейства Fabaceae – Ариáceae* / Отв. ред. А. Л. Буданцев. – СПб.; М.: КМК, 2010. – 601 с.
12. *A new isoflavane-4-ol derivative from Melilotus officinalis* (L.) Pall. / I. Mert [et al.] // *Nat. Prod. Res.* – 2018. – Vol. 33, No. 13. – P. 1856–1861. – DOI: 10.1080/14786419.2018.1477152.
13. Dominguez-López I., Perez M, Lamuela-Raventos R. M. Total (poly) phenol analysis by the Folin-Ciocalteu assay as an anti-inflammatory biomarker in biological samples // *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* – 2024. – Vol. 64, No. 27. – P. 10048–10054. – DOI: 10.1080/10408398.2023.2220031.

REFERENCES

1. Kumar S., Pandey A. K. Chemistry and biological activities of flavonoids: An overview, *Sci. World J.*, 2013, Vol. 2013, No. 1, P. 162750, DOI: 10.1155/2013/162750.
2. Dias M. C., Pinto D. C. G. A., Silva A. M. S. Plant Flavonoids: Chemical Characteristics and Biological Activity, *Molecules*, 2021, Vol. 26, No. 17, P. 5377, DOI: 10.3390/molecules26175377.
3. Shamsudin N. F. [et al.] Antibacterial Effects of Flavonoids and Their Structure-Activity Relationship Study: A Comparative Interpretation, *Molecules*, 2022, Vol. 27, No. 4, P. 1149, DOI: 10.3390/molecules27041149.

4. Ahmed S. I. [et al.] Pharmacologically active flavonoids from the anticancer, antioxidant and antimicrobial extracts of *Cassia angustifolia* Vahl, *BMC Complement. Altern. Med.*, 2016, Vol. 16, P. 460, DOI: 10.1186/s12906-016-1443-z.
5. Maleki S. J., Crespo J. F., Cabanillas B. Anti-inflammatory effects of flavonoids, *Food Chem.*, 2019, Vol. 299, P. 125124, DOI: 10.1016/j.foodchem.2019.125124.
6. Działo M. [et al.] The potential of plant phenolics in prevention and therapy of skin disorders, *Int. J. Mol. Sci.*, 2016, Vol. 17, No. 2, P. 160, DOI: 10.3390/ijms17020160.
7. Sutiashvili M. G., Alaniya M. D. Flavonoids of *Melilotus officinalis*, *Chem. Nat. Compd.*, 1999, Vol. 35, No. 5, P. 584.
8. Bubenchikova V. N., Drozdova I. L., *Himiko-farmaceuticheskij zhurnal*, 2004, Vol. 38, No. 4, pp. 24–25. (In Russ.)
9. Liu Y. T. [et al.] Chemical Constituents and Antioxidant, Anti-Inflammatory and Anti-Tumor Activities of *Melilotus officinalis* (Linn.) Pall, *Molecules*, 2018, Vol. 23, No. 2, P. 271, DOI: 10.3390/molecules23020271.
10. Anwer M. S. [et al.] Chemical constituents from *Melilotus officinalis*, *JBAS*, 2008, Vol. 4, No. 2, P. 89–94.
11. *Rastitel'nye resursy Rossii: Dikorastushchie cvetkovye rasteniya, ih komponentnyj sostav i biologicheskaya aktivnost'* (Plant Resources of Russia: Wild Flowering Plants, Their Component Composition and Biological Activity), Vol. 3. Semejstva Fabaceae, Apiaceae, St. Petersburg; Moscow: KMK, 2010, 601 p.
12. I. Mert [et al.] A new isoflavane-4-ol derivative from *Melilotus officinalis* (L.) Pall, *Nat. Prod. Res.*, 2018, Vol. 33, No. 13, P. 1856–1861, DOI: 10.1080/14786419.2018.1477152.
13. Dominguez-López I., Perez M, Lamuela-Raventos R. M. Total (poly) phenol analysis by the Folin-Ciocalteu assay as an anti-inflammatory biomarker in biological samples, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 2024, Vol. 64, No. 27, P. 10048–10054, DOI: 10.1080/10408398.2023.2220031.