

ՀՏԴ 615.322:58

DOI:10.54503/0514-7484-2024-64.3-128

Անտոցիանների պարունակությունը բալի պտուղների լիոֆիլ փոշում և դրա հակաբորբոքային ազդեցությունը

Ք.Մ.Շամիլյան¹, Հ.Վ.Թոփչյան², Ա.Գ.Ժամհարյան³,
Տ.Վ.Հովհաննիսյան², Թ.Ա.Պատիկյան¹, Ա.Կ.Հովսեփյան¹,
Մ.Գ.Բալասանյան¹

¹ԵՊԲՀ Ֆարմակոլոգիայի ամբիոն,

²Դեղերի տեխնոլոգիայի ամբիոն,

³Ֆարմացիայի ամբիոն

0025, Երևան, Կորյունի փ., 2

Բանալի բառեր. Բալենի սովորական, անտոցիաններ, էթանոլային լուծամզվածք, մեթանոլային լուծամզվածք, լիոֆիլիզացիա, հակաբորբոքային ազդեցություն

Մարդկանց և կենդանիների մասնակցությամբ կատարված *in vitro* և *in vivo* փորձերով ապացուցված է անտոցիանների բարձր կենսաբանական ակտիվությունը, ներառյալ վերջիններիս՝ օրգանիզմում ընթացող օքսիդատիվ սթրեսի գործընթացներին հակազդելու ունակությունը [5], նյարդապաշտպան ազդեցությունը [17], սիրտ-անոթային ակտիվությունը [7], հակաքաղցկեղային [13] և հակամանրէային ակտիվությունները [9]: Դեղաբանական ակտիվության նման լայն ոլորտը պայմանավորված է անտոցիանների՝ ազատ ռադիկալները կապելու [15] և մի շարք ֆերմենտների (ցիկլօօքսիգենազ, միտոգեն ակտիվացված պրոտեին կինազ), [11] և բորբոքային ցիտոկինների գործառույթները ճնշելու հատկություններով [6]:

Ընդ որում անտոցիանները նույնիսկ շատ մեծ քանակությամբ կիրառման պարագայում գրեթե չեն ցուցաբերում կողմնակի ազդեցություններ, ինչն էլ հենց հնարավորություն է ընձեռում դրանք օգտագործելու մի շարք հիվանդությունների կանխարգելման և բուժման գործընթացներում [7]: Սակայն անտոցիաններով հարուստ բույսերից դրանց բարձր պարունակությամբ դեղաձևեր ստանալու տեխնոլոգիական մոտեցումները շատ կարևորվում են, քանի որ վերջիններիս քանակությունը, կախված էքստրակցիայի պայմաններից (միջավայրի pH, ջերմաստիճան), կարող է շատ խիստ տատանվել [16]:

Այս ամենն առաջ է քաշում բույսերից դեղաձևեր ստանալու նոր տեխնոլոգիական մոտեցումների մշակումը, որոնք հնարավորություն կտան ստանալու բարձր պարունակությամբ կենսաբանական ակտիվ միացություններ:

Ժամանակակից դեղագործության կարևոր նվաճումներից կարելի է համարել սառեցմամբ-չորացման (լիոֆիլիզացիայի) եղանակով բուսական փոշիների ստացումը [3]: Լիոֆիլիզացիայի գործընթացի արդյունքում բույսերը պահպանում են կենսաբանական ակտիվ միացությունների քանակական կազմը գրեթե ամբողջությամբ, բացի դրանից, լիոֆիլիզացիան հնարավորություն է տալիս երկար պահպանելու ստացված լուծամզվածքները: Հաշվի առնելով, որ կայուն դեղաբանական ազդեցություն ստանալու նպատակով անհրաժեշտ է համապատասխան բուսատեսակի բավականին մեծ քանակության կիրառումը [12,14], շահեկան է բույսերն օգտագործել լիոֆիլիզացված փոշիների տեսքով: Լիոֆիլիզացիայի ենթարկված պտուղների պարագայում կարողանում ենք տվյալ բուսատեսակից թարմ պտուղների համեմատ շուրջ 85 տոկոսով ավելի փոքր քանակությամբ ընդունելու պարագայում ստանալ անտոցիանների նույն քանակությունը: Բացի դրանից, լիոֆիլիզացիայի շնորհիվ ամբողջ տարվա ընթացքում, անկախ եղանակից, բուժառուները հնարավորություն են ունենում ամեն օր ընդունելու իրենց անհրաժեշտ անտոցիանների քանակությունը [2]:

Վերը նշվածը հիմք է հանդիսացել օգտագործելու լիոֆիլ չորացման եղանակը՝ անտոցիաններով հարուստ դեղաձև ստանալու նպատակով: Որպես անտոցիանների աղբյուր ընտրվել են Բալենի սովորականի պտուղները, որոնք, բացի նրանից, որ պարունակում են ցիանիդինի և վերջինիս ածանցյալների մեծ քանակություն, նաև ցուցաբերում են հակաբորբոքային, հակաօքսիդանտային հիպոլիպիդեմիկ, հակազերճնշումային հատկություններ և շատ խոստումնալից են բժշկության մեջ նոր դեղաձևի՝ լիոֆիլ փոշի ստանալու համար, համեմատելով լիոֆիլ չորացման և էքստրակցիայի այլ եղանակներով ստանալու պայմաններում անտոցիանների քանակական պարունակությունները:

Նյութը և մեթոդները

Փորձերն իրականացվել են ՀՀ Կոտայքի մարզից հավաքված, Բալի սառեցված պտուղների կիրառմամբ, որոնցից ստացվել են տարբեր լուծամզվածքներ և լիոֆիլ փոշի: Հումքից պատրաստվել են 70% և 40% էթանոլային, մինչև pH=3 թթվեցրած 70%-մեթանոլային լուծամզվածքներ՝ արագացված կոտորակային մացեռացիայի հակա-

հոսքային ընդունված եղանակով, 96% էթանոլային լուծամզվածք՝ կոնսերվացման մեթոդով, և լիոֆիլ փոշի:

Լիոֆիլիզացիայի համար պատրաստվել են տարբեր նմուշներ, որոնք միմյանցից տարբերվում են ըստ ցենտրիֆուգման արագության, ուլտրաձայնի և ջրային բաղնիքի կիրառման գործընթացի: Այսպես, բոլոր 5 նմուշները ստանալու համար Բալի պտուղները նախապես մանրացրել են, այնուհետև A1, B1 և C նմուշների համար նախատեսված մանրացրած հումքը ենթարկվել է ցենտրիֆուգման, համապատասխանաբար՝ 1000պտ/ր, 7000պտ/ր և 14000պտ/ր արագություններով, հինգ րոպեի ընթացքում, որից հետո վերնստվածքային հեղուկներն անջատվել են, լցվել սրվակների մեջ մոտավորապես 1սմ հաստությամբ շերտով (մոտ 2մլ) և ենթարկվել լիոֆիլիզացիայի: Նույն կերպ նաև պատրաստվել են A2 և B2 նմուշները, սակայն մինչ ցենտրիֆուգումը A2 նմուշի հումքը նախապես մշակվել է ուլտրաձայնի կիրառմամբ՝ ջրային բաղնիքով, իսկ B2 նմուշի պարագայում ուլտրաձայնը կիրառվել է առանց ջրային բաղնիքի: Ուլտրաձայնային մշակումից հետո A2 և B2 նմուշների հումքը ենթարկվել է ցենտրիֆուգման, համապատասխանաբար 1000 պտ/ր և 7000 պտ/ր արագություններով, որից հետո նորից անջատվել են վերնստվածքային հեղուկները և, ըստ վերոնշյալ գործընթացի, ենթարկվել լիոֆիլիզացիայի:

Լիոֆիլ չորացումը կատարվել է երեք փուլով՝ սառեցման, սուբլիմացիայի և դեսորբցիայի: Սառեցման փուլում նախապես մինչև $-20^{\circ}\text{C} (\pm 2^{\circ}\text{C})$ նմուշը տեղադրվել է խցիկի մեջ 1 Մթն ճնշման պայմաններում, որի ջերմաստիճանը մինչև -42°C է: Սառեցումը համարվել է ավարտված (տեղադրումից մոտավորապես 4 ժամ անց), երբ խցիկի բոլոր հատվածներում ջերմաստիճանները հավասարվել են: Սուբլիմացիայի փուլն ապահովելու համար ստեղծվել է վակուում մոտ 95-105 Պա ճնշմամբ: Սուբլիմացիայի փուլը համարվել է ավարտված, երբ խցիկում սկսել են գրանցվել ջերմաստիճանային փոփոխություններ (փուլի տևողությունը միջինում կազմել է 8 ժամ): Այնուհետև մեկնարկել է դեսորբցիայի փուլը, որի համար աստիճանաբար խցիկի ջերմաստիճանը բարձրացվել է մինչև 35°C , իսկ ճնշումը՝ իջեցվել մինչև 20-35 Պա: Ջերմաստիճանը 35°C հասնելուց հետո (որին հասնելու համար պահանջվում է մոտավորապես 12 ժամ) գործընթացը շարունակվել է ջերմաստիճանի կայուն արժեքի պահպանմամբ՝ մոտավորապես 4 ժամ [8]:

Ստացված լուծամզվածքներում անտոցիանների իսկությունը որոշվել է նրբաշերտ քրոմատոգրաֆիայի եղանակով՝ 100:17:13 հարաբերությամբ էթիլացետատ-մեթիլ սպիրտ-ջուր լուծիչների համա-

կարգում: Քրոմատոգրաֆիկ թիթեղի վրա ստացված չորացված քրոմատագիրը դիտվել է ցերեկային և ուլտրամանուշակագույն (ՈՒՄ) լույսի տակ 5% NaOH-ի էթանոլային լուծույթով մշակելուց առաջ և հետո: Նրբաշերտ քրոմատոգրաֆիայի եղանակով լուծամզվածքներում անտոցիանների իսկությունը որոշելիս թիթեղի վրա ստացվել են 4 հետքեր, որոնց տարբերակումը կատարվել է ըստ դրանց գունային երանգների [10]:

Լուծամզվածքներում անտոցիանների քանակական որոշումն իրականացվել է սպեկտրալուսաչափական եղանակով՝ ՄՖ-46 մակնիշի սպեկտրաչափի օգնությամբ, 510Նմ ալիքի երկարության պայմաններում: Քանակական պարունակությունը մգ%-ներով որոշվել է վերահաշվարկված՝ ըստ ցիանիդին-3,5-դիգլիկոզիդի:

Լիոֆիլիզատում պարունակվող անտոցիանների քանակական որոշումն իրականացվել է դիֆերենցիալ սպեկտրաչափական եղանակով [18]:

Բալի պտուղների հակաբորբոքային ակտիվությունը գնահատվել է 25 սեռահասուն, սպիտակ, ոչ ցեղական, 180-240գ կշռով արու առնետների վրա: Կենդանիների մասնակցությամբ իրականացված բոլոր փորձերը կատարվել են Բիոէթիկայի ինստիտուցիոնալ կոմիտեի հետազոտվող կենդանիների օգտագործման և խնամքի ղեկավար սկզբունքների համաձայն: Կենդանիները բաժանվել են 3 խմբի՝ առաջին՝ ստուգիչ խմբի կենդանիներին ($n=8$) ներորովայնային (ն/ո) ներարկվել է 0,5մլ NaCl-ի իզոտոնիկ լուծույթ, երկրորդ ($n=9$) և երրորդ ($n=8$) փորձարարական խմբերի առնետներին համապատասխանաբար ն/ո ներարկվել են 0,5 մլ Բալի պտուղների լիոֆիլ փոշուց ստացված լուծույթ և կետոպրոֆեն՝ 10 մգ/կգ դեղաչափերով: Բալի պտուղների լիոֆիլ փոշուց լուծույթ ստանալու համար 0,18 գրամ լիոֆիլ զանգվածը լուծվել է 1,1մլ ֆիզիոլոգիական լուծույթում, այնուհետև լուծույթը ստանալուց 4 ժամ անց կատարվել է ցենտրիֆուգում 20 բոպե տևողությամբ, 4500 պտույտ/ր հաճախականությամբ, որից հետո վերնստվածքային հեղուկն առանձնացվել և ներարկվել է առնետներին: Ուսումնասիրվող միացությունների հակաբորբոքային ակտիվությունը գնահատվել է առնետների ականջի՝ քսիլոլով մակածված սուր բորբոքման փորձարարական մոդելում՝ ըստ աջ բորբոքված և ձախ՝ ինտակտ ականջների զանգվածների տարբերության հաշվարկի: Հետազոտվող լուծույթների ն/ո ներարկումից 60ր անց քլորալ հիդրատով (350մգ/կգ) անզգայացման պայմաններում առնետի աջ ականջի արտաքին և ներքին մակերեսները մշակվել են 80 մկլ քսիլոլով, որից մեկ ժամ հետո կտրվել են կենդանիների ականջները և հավասարեցվել համապատասխան դակիչ սարքի օգնությամբ՝ 1սմ

տրամագիծ ունեցող շրջանաձև հատվածների: Այնուհետև ականջները կշռվել են, և ականջների զանգվածների տարբերությամբ գնահատվել է բորբոքման աստիճանը [4]:

Ստացված տվյալների վիճակագրական վերլուծությունը կատարվել է IBM SPSS Statistics 20 և Microsoft Excel ծրագրերով: Ստացված տվյալները ներկայացված են խմբային միջին արժեքի և ստանդարտ շեղման ($M \pm SD$) տեսքով: Տվյալների համեմատության համար կիրառվել է Ստյուդենտի t -չափանիշի երկկողմանի տարբերակը, տվյալները համարվել են վիճակագրորեն նշանակալի առաջին տիպի (α) սխալի 0,05-ից փոքր հավանականության դեպքում:

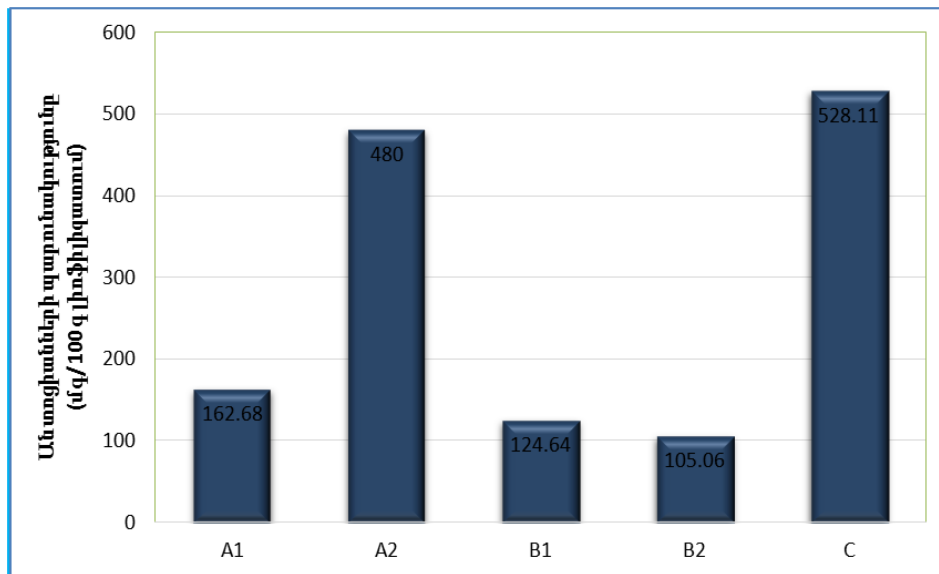
Արդյունքները և քննարկումը

Լուծամզվածքների նրբաշերտ քրոմատոգրաֆիկ ուսումնասիրությունը ցույց տվեց, որ բոլոր լուծամզվածքները պարունակում են ցիանիդինի (R_f -ի արժեք՝ $0,4 \pm 0,02$) և դելֆինիդինի (R_f -ի արժեք՝ $0,18 \pm 0,02$) շարքին պատկանող անտոցիաններ, ինչի ապացույցն են պուրպուր-մանուշակագույն գունավորմամբ հետքերը, իսկ մեթանոլային լուծամզվածքում նաև պելարգոնիդին-3-գլյուկոզիդ (R_f -ի արժեք՝ $0,64 \pm 0,02$):

Սպեկտրաչափական ուսումնասիրությունները վկայում են, որ անտոցիանների քանակական պարունակություններն ուսումնասիրվող լուծամզվածքներում, ինչպես նաև լիոֆիլ փոշու տարբեր նմուշներում միմյանցից տարբերվում են: Այսպես, թթվեցրած մեթանոլային և 70% էթանոլային լուծամզվածքներում դրանց պարունակությունը կազմում է 39,35մգ% և 38,34մգ%: 40%-անոց էթանոլային և 96% էթանոլով կոնսերվացված լուծամզվածքներում անտոցիանների էլքը ավելի սակավ է և կազմում է համապատասխանաբար 18,6 և 28,7մգ%:

Նշված եղանակով անտոցիանների քանակական պարունակության ուսումնասիրությամբ պարզաբանվեց, որ Բալի պտուղների լիոֆիլ փոշում այդ կենսաբանական ակտիվ միացությունների էլքը կախված է ուլտրաձայնի ջրային բաղնիքով կամ առանց բաղնիքի կիրառումից, ինչպես նաև ցենտրիֆուգման արագությունից: Ինչպես վկայում են նկար 1-ում բերված տվյալները, անտոցիանների առավելագույն էլքը (528,11 մգ/100 գրամ փոշում) արձանագրվում է Բալի լիոֆիլ փոշու նմուշում, որը ստացվել է 14000 պտույտ/րոպե արագությամբ ցենտրիֆուգումից հետո՝ առանց ուլտրաձայնի և ջրային բաղնիքի կիրառման: Այս պայմաններում անտոցիանների քանակությունը վերահաշվարկված թարմ հումքի քանակի համար կկազմի 89,78մգ, քանի որ լիոֆիլ չորացման գործընթացի արդյունքում ստացված փոշին կազ-

մում է թարմ հումքի 17%-ը: Փաստորեն ստացված լիոֆիլիզատում անտոցիանների քանակի համեմատությունը Բալի պտուղներից ստացված էքստրակտներում դրանց պարունակության հետ ցույց է տալիս, որ անտոցիանների պարունակությունը լիոֆիլիզատում 2,3 անգամ գերազանցում է 70% էթանոլային էքստրակտում վերջինիս պարունակությունը, ինչը հիմք հանդիսացավ Բալի պտուղների հակաբորբոքային ազդեցությունն ուսումնասիրելիս կիրառելու լիոֆիլ էղանակով ստացված Բալի պտուղների փոշին [1]:

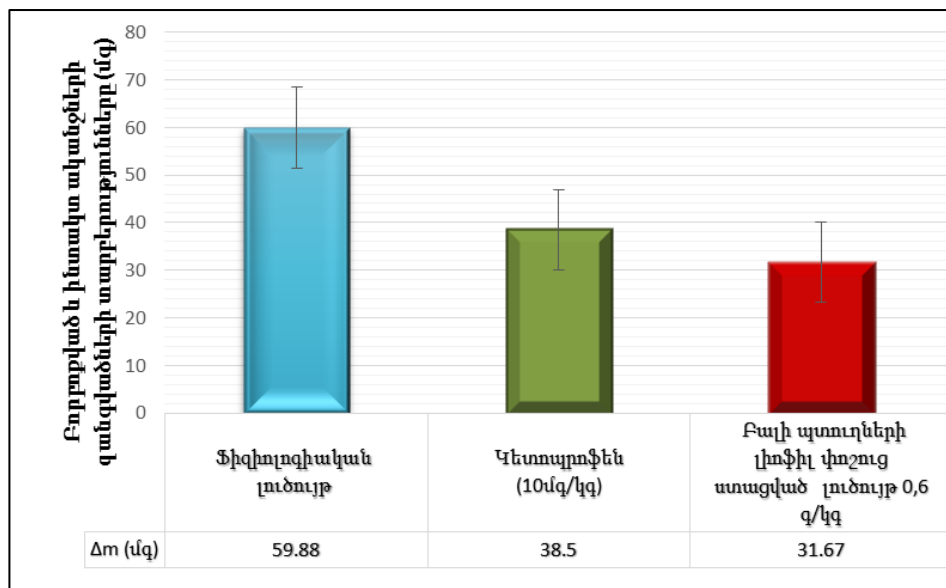


Նկար 1. Տարբեր էղանակներով ստացված Բալի պտուղների լիոֆիլ փոշիներում անտոցիանների քանակական պարունակությունը (տվյալները ներկայացված են միջին արժեքներով՝ հաշվի առնելով կրկնակի չափումներից ստացված տվյալները),
(A1,A2,B1,B2,C-նմուշների ստացման ուղիները տե՛ս «Նյութը և մեթոդները» բաժնում)

Բալի պտուղների հակաբորբոքային ազդեցության բացահայտման նպատակով կատարված փորձերը ցույց են տալիս, որ Հայաստանում աճող Բալի պտուղներն օժտված են արտահայտված հակաբորբոքային ակտիվությամբ: Այսպես, քսիլոլով առնետների ականջի բորբոքման մոդելում առնետներին 0,5 մլ ֆիզիոլոգիական լուծույթ ներարկելուց մեկ ժամ հետո բորբոքված և ինտակտ ականջների զանգվածների տարբերությունը կազմել է $59,88 \pm 11,99$ մգ: Բալի պտուղների լիոֆիլ փոշու լուծույթի նույն ծավալով ներարկումից հետո բորբոքված և ինտակտ ականջների զանգվածների տարբերությունը շատ ավելի փոքր է և կազմել է $31,67 \pm 13,67$ մգ: Նշված տվյալները, որոնք

վկայում են բորբոքված և ինտակտ ականջների զանգվածների տարբերության փոքրացման մասին Բալի պտուղների լիոֆիլ փոշու ազդեցությամբ, մատնանշում են, որ բուժված կենդանիների մոտ բորբոքումն արտահայտված է ավելի թույլ, և փաստորեն ուսումնասիրվող պատրաստուկը մոտ 47,11%-ով կանխում է բորբոքման զարգացումը:

Ստացված տվյալները փաստորեն վկայում են Բալի պտուղների հակաբորբոքային ազդեցության մասին, որի արտահայտվածությունը բնութագրելու նպատակով վերջինս համեմատվել է Կետոպրոֆենի հակաբորբոքային ազդեցության հետ նույն մոդելի պայմաններում: Այսպես, Կետոպրոֆենի կիրառմամբ կատարված փորձերում բորբոքված և ինտակտ ականջների զանգվածների տարբերությունը կազմել է $38,50 \pm 9,44$ մգ, որն էլ մատնանշում է այն փաստը, որ ֆիզիոլոգիական լուծույթի կիրառմամբ կատարված փորձերի համեմատ Կետոպրոֆենը նվազեցնում է բորբոքումը 35,7%-ով (նկար 2):



Նկար 2. Բալի պտուղների լիոֆիլ փոշու (0,6 գ/կգ) և Կետոպրոֆենի (10 մգ/կգ) հակաբորբոքային ազդեցությունները առնետների ականջների քսիլոլով մակածված բորբոքման մոդելում

Ստացված տվյալները հիմք են՝ պնդելու, որ Բալի պտուղների լիոֆիլ փոշու և Կետոպրոֆենի հակաբորբոքային ազդեցությունը համադրելի են:

Այսպիսով, իրականացված փորձարարական ուսումնասիրությունը հիմք է՝ եզրակացնելու, որ սառեցմամբ-չորացման տեխնոլո-

գիական մոտեցումը հնարավորություն է տալիս ստանալու անտոցիանների բարձր պարունակությամբ պատրաստուկ, որի արտահայտված հակաբորբոքային ազդեցությունը հեռանկար է բացում՝ վերջինս կիրառելու որպես տարատեսակ բորբոքումները կանխող արդյունավետ միջոց:

Ընդունված է 06.05.24

Содержание антоцианов в лиофильном порошке плодов вишни и его противовоспалительное действие

**К.М.Шамилян, А.В.Топчян, А.Г. Жамгарян, Т.В.Оганнисян,
Т.А.Пстикян, А.К. Овсепян, М.Г.Баласанян**

Исследовано содержание антоцианов в различных экстрактах и лиофилизированном порошке плодов вишни флоры Армении.

Выявлено, что лиофильный порошок, полученный по разработанной нами методике лиофилизации, содержит богатый состав антоцианов, превосходящий содержание последнего в 40%, 70%, 96% этанольных и 70% метанольном экстрактах плодов вишни.

Изучение противовоспалительного действия лиофильного порошка плодов вишни в дозе 0,6 г/кг показало, что внутрибрюшинное введение раствора исследуемой лекарственной формы крысам сопровождается проявлением противовоспалительного эффекта введенного раствора в модели индуцированного ксилолом воспаления уха крыс. Установлено, что после введения животным раствора лиофильного порошка плодов вишни на 47,11% предотвращается увеличение массы воспаленного уха по сравнению с контрольным.

Полученные данные открывают перспективы по разработке новых противовоспалительных средств с богатым составом антоцианов на основе лиофильного порошка плодов вишни.

The Content of Anthocyanins in Freeze-Dried Cherry Fruit and its Anti-Inflammatory Effect

**K.M. Shamilyan, H.V. Topchyan, A.G. Zhamharyan, T.V. Hovhannisyan,
T.A. Pstikyan, A.K. Hovsepyan, M.G. Balasanyan**

Experiments were carried out to investigate the content of anthocyanins in different extract and freeze-dried powder of Armenian sour cherry fruits.

It was revealed, that the freeze-dried powder of sour cherry fruits has a rich content of anthocyanins, exceeding the content of aforementioned substances containing 40%, 70%, 96% ethanolic, and 70% methanolic extracts.

Our investigations showed, that intraperitoneal injection of sour cherry fruit freeze-dried powder solution (0,6 g/kg) to rats provides anti-inflammatory effect

development in the rat's ear xylene-induced inflammation model by leading to inflamed and control ears' mass difference reduction by 47,11%.

The obtained data open new perspectives for using freeze-dried powder of sour cherry, as an anthocyanin-rich raw material with potent anti-inflammatory effects.

Գրականություն

1. Ademović Z., Mehić J., Suljagić J., Jašić M., Juul N. Influence Of Processing Technology On Bioactive Components Of Sour Cherry.// *Technologica Acta*, June 2017, vol. 10, issue 1.
2. Bhatta S., Janežić T. S., & Ratti C. (2020). Freeze-Drying of Plant-Based foods. *Foods*, 9(1), 87. <https://doi.org/10.3390/foods9010087>.
3. Fissore D., Harguindeguy M., Ramirez D. V., & Thompson T. N. (2020). Development of Freeze-Drying cycles for pharmaceutical products using a micro Freeze-Dryer. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 109(1), 797–806. <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2019.10.053>
4. Hussain A., Aslam B., Muhammad F., & Faisal M. N. (2021). In vitro Antioxidant Activity and In vivo Anti-inflammatory Effect of *Ricinus communis* (L.) and *Withania somnifera* (L.) Hydroalcoholic Extracts in Rats. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 64. <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2021200783>.
5. Kirakosyan A., Seymour E., Llanes D. E. U., Kaufman P. B., & Bolling, S. F. (2009). Chemical profile and antioxidant capacities of tart cherry products. *Food Chemistry*, 115(1), 20–25. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.11.042>.
6. Ma Z., Du B., Li J., Yang Y., & Zhu F. (2021). An Insight into Anti-Inflammatory Activities and Inflammation Related Diseases of Anthocyanins: A Review of Both In Vivo and In Vitro Investigations. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(20), 11076. <https://doi.org/10.3390/ijms222011076>.
7. Mattioli R., Francioso A., Mosca L., & Silva P. (2020). Anthocyanins: A comprehensive review of their chemical properties and health effects on cardiovascular and neurodegenerative diseases. *Molecules*, 25(17), 3809. <https://doi.org/10.3390/molecules25173809>.
8. Nowak D., & Jakubczyk E. (2020). The Freeze-Drying of Foods—The characteristic of the process course and the effect of its parameters on the physical properties of food materials. *Foods*, 9(10), 1488. <https://doi.org/10.3390/foods9101488>.
9. Petruskevicius A., Viškelis P., Urbonavičienė D., & Viškelis P. (2023). Anthocyanin accumulation in berry fruits and their antimicrobial and antiviral properties: An overview. *Horticulturae*, 9(2), 288. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9020288>.
10. Saha S., Singh J., Paul A., Sarkar R., Khan Z., & Banerjee K. (2020). Anthocyanin profiling using UV-VIS spectroscopy and liquid chromatography mass spectrometry. *Journal of AOAC INTERNATIONAL*, 103(1), 23–39. <https://doi.org/10.5740/jaoacint.19-0201>.
11. Salehi B., Sharifi-Rad J., Cappellini F. et al. (2020). The therapeutic potential of anthocyanins: Current approaches based on their molecular mechanism of action. *Frontiers in Pharmacology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.01300>.
12. Salvador A., Del Mar Camacho M., & Martínez-Navarrete N. (2022). Influence of formulation on the quality and stability of a freeze-dried Mandarin product. *Current Research in Food Science*, 5, 1047–1053. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2022.06.004>.
13. Shi N., Chen X., & Chen T. (2021). Anthocyanins in colorectal cancer prevention review. *Antioxidants*, 10(10), 1600. <https://doi.org/10.3390/antiox10101600>.
14. Silva-Espinoza M. A., Del Mar Camacho M., Martínez-Monzó J., & Martínez-Navarrete N. (2021). Impact of the Freeze-Drying conditions applied to obtain an orange snack on energy consumption. *Foods*, 10(11), 2756. <https://doi.org/10.3390/foods10112756>.

15. Tena N., Martín J., & Asuero A. G. (2020). State of the art of anthocyanins: antioxidant activity, sources, bioavailability, and therapeutic effect in human health. *Antioxidants*, 9(5), 451. <https://doi.org/10.3390/antiox9050451>.
16. Yamazaki M., Ishida A., Suzuki Y. et al. (2021). Ethylene Induced by Sound Stimulation Enhances Anthocyanin Accumulation in Grape Berry Skin through Direct Upregulation of UDP-Glucose: Flavonoid 3-O-Glucosyltransferase. *Cells*, 10(10), 2799. <https://doi.org/10.3390/cells10102799>.
17. Zaa C. A., Marcelo A., An Z., Medina-Franco J. L., & Velázquez M. a. V. (2023). Anthocyanins: molecular aspects on their neuroprotective activity. *Biomolecules*, 13(11), 1598. <https://doi.org/10.3390/biom13111598>.
18. Зыкин П. А., Андреева Е. А., Lykholay A. N., Tsvetkova N., & Voylovkov A. V. (2018). Anthocyanin Composition and Content in Rye Plants with Different Grain Color. *Molecules*, 23(4), 948. <https://doi.org/10.3390/molecules23040948>.