



Изучение биостимулирующего действия отвара листьев аронии Мичурина *in vitro* с использованием тест-системы инфузорий *Paramecium caudatum*

О. В. Пугачева, А. В. Бузлама, А. Ю. Кузнецов, О. В. Тринеева✉

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ВГУ»). 394018, Россия, г. Воронеж, Университетская площадь, д. 1

✉ Контактное лицо: Тринеева Ольга Валерьевна. E-mail: trineevaov@mail.ru

ORCID: О. В. Пугачева – <https://orcid.org/0009-0003-9170-3130>;
А. В. Бузлама – <https://orcid.org/0000-0003-4236-2387>;
А. Ю. Кузнецов – <https://orcid.org/0000-0002-1306-0569>;
О. В. Тринеева – <https://orcid.org/0000-0002-1421-5067>.

Статья поступила: 22.10.2024

Статья принята в печать: 12.05.2025

Статья опубликована: 16.05.2025

Резюме

Введение. Арония Мичурина (*Aronia × mitschurinii* A. K. Skvortsov & Maitul.) – культивированный вид, выведенный в конце XIX века в результате селекционных работ И. В. Мичурина по скрещиванию *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott с отдаленно родственными видами из рода рябины (*Sorbus*). Плоды данного растения давно используются в народной и традиционной медицине, являясь прежде всего источником антоциановых соединений. Листья в настоящее время являются только побочным продуктом при заготовке плодов, однако могут быть использованы в качестве перспективного источника таких групп БАВ, как флавоноиды, дубильные вещества, лейкоантоцианы, что обуславливает возможность использования данного сырья для получения лекарственных растительных препаратов (ЛРП). Поэтому первичные скрининговые исследования *in vitro* по оценке токсичности и биостимулирующего действия извлечений из листьев аронии Мичурина для оценки перспективности и определения направлений последующих доклинических испытаний следует считать актуальными.

Цель. Целью исследования являлось изучение биостимулирующего и мембранопротекторного действия извлечений из листьев аронии Мичурина (на примере отвара) *in vitro* с использованием тест-системы инфузорий *Paramecium caudatum* в тесте «Функциональная нагрузка».

Материалы и методы. Листья аронии Мичурина для исследования заготавливали в различные периоды развития листовой пластинки (май, июнь, август и сентябрь 2023 г.) от растений, культивируемых на территории ФГБНУ «ФНЦ им. И. В. Мичурина» (г. Мичуринск, Тамбовская область). Для исследования готовили водные извлечения из исследуемого сырья по типу отвара в соответствии с ОФС.1.4.1.0018.15 «Настои и отвары» Государственной фармакопеи РФ для сырья, содержащего дубильные вещества. Для изучения биостимулирующего действия отвара листьев аронии Мичурина использовали *in vitro* тест-систему инфузорий *Paramecium caudatum* в стационарной фазе роста. Оценка биостимулирующего и мембранопротекторного действия изучаемого отвара проводили в тесте «Функциональная нагрузка» при повреждающем воздействии гипертонического раствора натрия хлорида.

Результаты и обсуждение. С использованием тест-системы инфузорий *Paramecium caudatum* в тесте «Функциональная нагрузка» установлено, что отвар листьев аронии Мичурина *in vitro* в разведении 1:10 во все сроки заготовки ЛРС снижает время выживаемости инфузорий при повреждающем воздействии гипертонического раствора натрия хлорида при инкубации в течение 24 ч максимально не менее чем на 43,5 % по сравнению с контрольной пробой, что, вероятно, свидетельствует о повышении проницаемости биологических мембран под влиянием дубильных веществ листьев и согласуется с их известным вяжущим и антибактериальным действием. Отвар листьев аронии Мичурина (при заготовке ЛРС в июне) *in vitro* в разведениях 1:1000 и 1:10 000, близких к диапазонам терапевтических доз, проявляет наибольшее биостимулирующее и мембранопротекторное действие, что подтверждается значительным достоверным повышением времени выживаемости инфузорий при повреждающем воздействии гипертонического раствора натрия хлорида максимально на 39,3 % по сравнению с контрольной пробой при инкубации в течение 24 ч, что, вероятно, связано с содержанием флавоноидов и лейкоантоцианов и согласуется с их известным капилляропротекторным и антиоксидантным действием.

Заключение. Отвар листьев аронии Мичурина (в разведении 1:1000 при заготовке ЛРС в июне) значительно достоверно повышает время выживаемости тест-системы инфузорий *Paramecium caudatum* при повреждающем воздействии раствора натрия хлорида в тесте «Функциональная нагрузка» максимально на 39,3 % по сравнению с контрольной пробой при инкубации в течение 24 ч, что свидетельствует о наличии биостимулирующего и мембранопротекторного действия.

Ключевые слова: листья, арония Мичурина, *Aronia × mitschurinii* A. K. Skvortsov & Maitul., рябина черноплодная, биостимулирующее и мембранопротекторное действие, инфузории *Paramecium caudatum*

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. О. В. Пугачева осуществляла заготовку и сушку образцов сырья, проводила пробоподготовку к проведению анализа. А. Ю. Кузнецовым проведены исследования изучаемого объекта на тест-системе инфузорий *Paramecium caudatum*. А. В. Бузлама и О. В. Тринеева осуществляли научное консультирование, анализ данных, подготовку текста статьи, включая формулирование разделов «Заключение» и «Обсуждение результатов».

Для цитирования: Пугачева О. В., Бузлама А. В., Кузнецов А. Ю., Тринеева О. В. Изучение биостимулирующего действия отвара листьев аронии Мичурина *in vitro* с использованием тест-системы инфузорий *Paramecium caudatum*. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2025;14(2):225–241. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-2-1953>

Study of the biostimulating effect of a decoction of Michurin's chokeberry leaves *in vitro* using the *Paramecium caudatum* cilia test system

Olga V. Pugacheva, Anna V. Buzlama, Alexandr Yu. Kuznetsov, Olga V. Trineeva✉

Voronezh State University. 1, Universitetskaya ploshchad, Voronezh, 394018, Russia

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

ORCID: Olga V. Pugacheva – <https://orcid.org/0009-0003-9170-3130>;
Anna V. Buzlama – <https://orcid.org/0000-0003-4236-2387>;
Alexandr Yu. Kuznetsov – <https://orcid.org/0000-0002-1306-0569>;
Olga V. Trineeva – <https://orcid.org/0000-0002-1421-5067>.

Received: 22.10.2024

Accepted: 12.05.2025

Published: 16.05.2025

Abstract

Introduction. *Aronia × mitschurinii* A. K. Skvortsov & Maitul. is a cultigenic species bred in the late 19th century as a result of breeding work by I. V. Michurin by crossing *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott with distantly related species of the rowan genus (*Sorbus*). The fruits of this plant have long been used in folk and traditional medicine, being, first of all, a source of anthocyanin compounds. The leaves are currently only a by-product in the preparation of fruits, however, they can be used as a promising source of such groups of biologically active substances as flavonoids, tannins, leucoanthocyanins, which makes it possible to use this raw material to obtain herbal medicinal products (HMP). Therefore, primary *in vitro* screening studies to assess the toxicity and biostimulating effect of extracts from the leaves of *Aronia michurini* should be considered relevant to assess the prospects and determine the directions of subsequent preclinical trials. The aim of the study was to investigate the biostimulating and membrane-protective effect of Michurin's chokeberry leaf extracts (using a decoction as an example) *in vitro* using the *Paramecium caudatum* ciliate test system in the «functional load» test.

Materials and methods. Michurin's chokeberry leaves were harvested for the study at different periods of leaf blade development (May, June, August and September 2023) from plants cultivated on the territory of the I. V. Michurin Federal Scientific Center (Michurinsk, Tambov Region). For the study, aqueous extracts were prepared from the studied raw materials as a decoction in accordance with general pharmacopoeial monograph.1.4.1.0018.15 «Infusions and decoctions» for raw materials containing tannins. To study the biostimulating effect of the decoction of Michurin's chokeberry leaves, an *in vitro* test system of *Paramecium caudatum* ciliates in the stationary growth phase was used. The biostimulating and membrane-protective effect of the studied decoction was assessed in the «functional load» test under the damaging effect of a hypertonic sodium chloride solution.

Results and discussion. Using the test system of the *Paramecium caudatum* ciliates in the «functional load» test, it was established that a decoction of Michurin's chokeberry leaves *in vitro* in a 1:10 dilution at all times of the medicinal plant raw material preparation reduces the survival time of ciliates under the damaging effects of a hypertonic sodium chloride solution during an incubation of 24 hours by no less than 43.5 % compared to the control sample, which probably indicates an increase in the permeability of biological membranes under the influence of tannins and sterols of the leaves and is consistent with their known astringent and antibacterial action. A decoction of Michurin's aronia leaves (when harvesting medicinal plant raw materials in June) *in vitro* in dilutions of 1:1000 and 1:10 000 close to the ranges of therapeutic doses, exhibits the greatest biostimulating and membrane-protective effect, which is confirmed by a significant reliable increase in the survival

time of ciliates under the damaging effects of hypertonic sodium chloride solution, by a maximum of 39.3 % compared to the control sample during 24 h incubation, which is probably associated with the content of flavonoids and leucoanthocyanins and is consistent with their known capillary-protective and antioxidant effects.

Conclusion. A decoction of Michurin's chokeberry leaves (diluted 1:1000 when harvesting medicinal plant raw materials in June) significantly and reliably increases the survival time of the *Paramecium caudatum* ciliate test system under the damaging effects of sodium chloride solution in the «functional load» test, by a maximum of 39.3 % compared to the control sample during 24-hour incubation, which indicates the presence of a biostimulating and membrane-protective effect.

Keywords: leaves, Michurin's chokeberry, *Aronia × mitschurinii* A. K. Skvortsov & Maitul., black chokeberry, biostimulating and membrane-protective action, ciliates *Paramecium caudatum*

Conflict of interest. The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Contribution of the authors. Olga V. Pugacheva prepared and dried the raw material samples, prepared the samples for analysis. Alexandr Yu. Kuznetsov conducted studies of the studied object on the *Paramecium caudatum* ciliate test system. Anna V. Buzlama and Olga V. Trineeva provided scientific consulting, data analysis, and prepared the text of the article, including formulating the conclusion and discussing the results.

For citation: Pugacheva O. V., Buzlama A. V., Kuznetsov A. Yu., Trineeva O. V. Study of the biostimulating effect of a decoction of Michurin's chokeberry leaves *in vitro* using the *Paramecium caudatum* cilia test system. *Drug development & registration*. 2025;14(2):225–241. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-2-1953>

ВВЕДЕНИЕ

Арония Мичурина (*Aronia × mitschurinii* A. K. Skvortsov & Maitul.) – культивируемый вид, выведенный в конце XIX века в результате селекционных работ И. В. Мичурина. Он скрещивал *A. melanocarpa* с отдаленно родственными видами из рода рябины (*Sorbus*). Полученный вид был назван И. В. Мичуриным рябиной черноплодной. Долгое время данный вид относили к виду арония черноплодная (*Aronia melanocarpa*). Однако еще в 80-х годах XX века учеными А. К. Скворцовым и Ю. К. Майтулиной арония Мичурина описана как отдельный вид – гибрид аронии черноплодной и рябины обыкновенной [1–4]. Этот многолетний кустарник семейства розоцветных (*Rosaceae*) широко распространен и также активно культивируется на территории России и стран ближнего зарубежья. Плоды данного растения давно используются в народной и традиционной медицине благодаря наличию большого комплекса биологически активных веществ (БАВ), являясь прежде всего источником антоциановых соединений [5–12].

На листья аронии Мичурина нормативная документация в настоящее время отсутствует, поэтому пока они не используются в качестве лекарственного растительного сырья (ЛРС), являясь побочным продуктом при заготовке плодов. Однако, как описано в литературе и также подтверждено нами ранее в ходе изучения их фитохимического состава [13–21], листья аронии Мичурина могут являться уникальным и перспективным источником таких групп БАВ, как флавоноиды, дубильные вещества, лейкоантоцианы, что подтверждает возможность использования дан-

ного сырья для получения лекарственных растительных препаратов (ЛРП) на его основе, профиль практического применения которых будет основываться на наличии вяжущего, антиоксидантного, капилляропротекторного и противовоспалительного действия. Основная масса исследований фармакологических свойств экстрактов листьев данного растения в настоящее время осуществляется за рубежом [22–45]. Поэтому первичные скрининговые исследования *in vitro* по оценке токсичности и биостимулирующего действия извлечений из листьев аронии Мичурина для оценки перспективности и определения направлений последующих доклинических испытаний следует считать актуальными.

Целью исследования являлось изучение биостимулирующего и мембранопротекторного действия извлечений из листьев аронии Мичурина (на примере отвара) *in vitro* с использованием тест-системы инфузорий *Paramecium caudatum* в тесте «Функциональная нагрузка».

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Листья аронии Мичурина для исследования заготавливали в сухую погоду (май, июнь, август и сентябрь 2023 г.) от растений, культивируемых на территории ФГБНУ «ФНЦ им. И. В. Мичурина» (г. Мичуринск, Тамбовская область), и высушивали на открытом воздухе в тени до остаточной влажности не более 10 %. Принадлежность образца к роду *Aronia*, виду *Aronia × mitschurinii* A. K. Skvortsov & Maitul. подтверждена сотрудниками научного центра имени И. В. Мичурина.

Для исследования готовили водные извлечения из измельченного исследуемого сырья с размером частиц менее 3,0 и более 0,2 мм по типу отвара в соответствии с ОФС.1.4.1.0018.15 «Настои и отвары» Государственной фармакопеи РФ (ГФ РФ) для сырья, содержащего дубильные вещества [4]. Приготовление водного извлечения по типу отвара было обусловлено рекомендацией ОФС.1.4.1.0018.15 «Настои и отвары» ГФ РФ, как для сырья, во-первых, богатого дубильными веществами, во-вторых, имеющего плотную кожистую структуру листьев [4].

Методы определения содержания основных групп БАВ в листьях и отваре листьев (1:10) аронии Мичурина представлены в таблице 1.

Для изучения биостимулирующего действия отвара листьев аронии Мичурина использовали *in vitro* тест-систему инфузорий вида инфузория-туфелька (*Paramecium caudatum*) в стационарной фазе роста, культивируемую согласно известной методике [46] на среде Лозина-Лозинского следующего состава: NaCl – 0,01 %, KCl – 0,001 %, CaCl₂ водный – 0,001 %, MgCl₂ 6-водный – 0,001 %, NaHCO₃ – 0,002 % (х.ч. или ч.д.а.). При проведении исследований учитывали требования действующих руководств по доклиническим исследованиям [47]. Тест «Функциональная нагрузка» с использованием *in vitro* тест-системы инфузорий *Paramecium caudatum* [46] применен для выявления влияния БАВ, содержащихся в отваре листьев, на выживаемость тест-системы при повреждающем воздействии гипертонического раствора натрия хлорида (NaCl), что позволяет оценить наличие биоцидного, биостимулирующего и/или мембранопротекторного действия. Культура инфузорий *Paramecium caudatum* получена на кафедре фармакологии и клинической фармакологии ФГБОУ ВО ВГУ. Рабочий раствор готовили путем разбавления в 10 раз (1:9) концентрированной среды дистиллированной водой [46]. Культивирование инфузорий осуществляли в термостате ТС-1/80 СПУ (ОАО «Смоленское СКБ СПУ», Россия) при температуре 21 ± 1 °С при 10-часовом искусственном освещении. Для проведения эксперимента использовали 7-дневную культуру в стационарной фазе роста. Для нормирования начального состояния тест-системы культуру промывали раствором Лозина-Лозинского и затем проводили синхронизацию культуры инфузорий посредством метода тепловых шоков. Для этого культуру нагревали на водяной бане до +35 °С и быстро остужали в воде со льдом до +5 °С, повторяя данную процедуру 3 раза. После этого инкубировали в течение 2 суток в термостате в чистой среде. Для эксперимента использовали инфузорий, равномерно плавающих в объеме среды (не осевших на дно пробирки) [46]. В контрольные пробы никакие вещества не вносили. В опытные пробы вносили изготовленный согласно требованиям ГФ [4] отвар листьев аронии Мичурина, заготовленных в различные периоды жизни ли-

стовой пластинки растения в течение 4 месяцев (май, июнь, август, сентябрь), для каждого из сроков заготовки ЛРС. Отвар тестировали в 5 различных разведениях: 1:10, 1:100, 1:1000, 1:10 000, 1:100 000. Для получения серии опытных проб, содержащих отвар листьев аронии Мичурина в различных разведениях, согласно известной методике использовали метод последовательных разведений. Для этого брали 6 пробирок, в каждую вносили по 2,7 мл культуры инфузорий. В первую пробирку добавляли 0,3 мл отвара листьев аронии Мичурина. Затем из нее отбирали 0,3 мл среды и вносили в следующую и так далее, достигая, таким образом, серийного разведения исследуемого объекта.

Оценку биостимулирующего и мембранопротекторного действия изучаемого отвара при повреждающем воздействии гипертонического раствора натрия хлорида проводили по известной методике [46]. Сначала опытным путем определяли количество раствора 10 % натрия хлорида (х.ч. или ч.д.а.), которое вызывало гибель 100 % инфузорий в течение 4 мин. Для этого 0,1 мл среды, содержащей инфузорию, наносили на предметное стекло, добавляли натрия хлорид в определенном объеме и засекали время до момента гибели всех инфузорий в пробе (критерий оценки – время выживаемости инфузорий, с). Гибель инфузорий в пробе определяли визуально под микроскопом Levenhuk 5ST (Россия) при увеличении ×20 по критерию полного прекращения движений. Изображение в режиме реального времени выводили на экран компьютера с помощью цифровой камеры для микроскопа Levenhuk M1000 PLUS (Россия) и программного обеспечения LevenhukLite (Россия).

Время выживаемости инфузорий (с) при повреждающем воздействии раствора натрия хлорида определяли сразу (0 мин, исходно) после добавления изучаемого отвара листьев аронии Мичурина в опытные пробы и затем при инкубации опытных проб с изучаемым отваром в течение 60 мин, 120 мин и 24 ч в термостате.

Для получения статистически значимых результатов для каждой пробы в каждой серии опытов эксперимент повторяли трехкратно, математическую обработку данных проводили общепринятыми методами медико-биологической статистики с определением средних значений, ошибки среднего и достоверности различий с использованием методов параметрической статистики.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Обобщенные результаты ранних наших исследований по изучению состава целевых групп БАВ в листьях приведены в таблице 1.

Установлено, что в контрольных пробах время выживаемости инфузорий *Paramecium caudatum* в тесте «Функциональная нагрузка» при повреждающем воздействии гипертонического раствора натрия

Таблица 1. Содержание основных групп БАВ в листьях аронии Мичурина [13–21, 49–51]
Table 1. Content of main groups of biologically active substances in leaves of *Aronia × mitschurinii* A. K. Skvortsov & Maitul. [13–21, 49–51]

Группа БАВ Groups of biologically active substances	Стадия заготовки Periods of development				Метод определения Method of determining
	Май May	Июнь June	Август August	Сентябрь September	
Флавоноиды в пересчете на рутин, % Total flavonoids in terms of rutin, %	3,94 ± 0,33	4,20 ± 0,12	3,48 ± 0,21	3,47 ± 0,25	Дифференциальная СФ Differential spectrophotometry
Дубильные вещества в пересчете на катехин, % The amount of tannins in terms of catechin, %	14,20 ± 0,91	12,53 ± 0,72	8,63 ± 0,32	8,35 ± 0,16	Спектрофотометрия (СФ) Spectrophotometry
Антоцианы (в лейко-форме) в пересчете на цианидин-3-О-глюкозид, % Total anthocyanins expressed as cyanidin-3-O-glucoside, %	10,71 ± 1,33	10,81 ± 1,01	11,62 ± 0,69	12,77 ± 0,95	СФ Spectrophotometry [51]
Стерины, (%) в извлечениях Sterols, (%) in extracts	0,39 ± 0,04	0,33 ± 0,03	0,72 ± 0,06	0,61 ± 0,05	ГХ/МС GC/MS
Экстрактивные вещества, извлекаемые водой, % Extractives substances, water extractable, %	37,24 ± 0,20	39,68 ± 0,25	31,52 ± 0,22	30,28 ± 0,31	Гравиметрия Gravimetry

хлорида составляло исходно (0 мин) в среднем от 292,33 ± 2,33 до 304,67 ± 5,24 с и не имело существенных отличий в дальнейшем при тестировании через 60 мин, 120 мин и 24 ч (таблица 2).

Изучение влияния отвара листьев аронии Мичурина при заготовке ЛРС в мае на время выживаемости инфузорий показало, что в опытной пробе с добавлением изучаемого отвара, разведение 1:10, различий с контрольной пробой при исходном тестировании не выявлено, затем при инкубации в течение 60 мин наблюдалась тенденция к снижению времени выживаемости инфузорий на 10,6 % по сравнению с контрольной пробой и на 11,2 % по сравнению с исходным значением в опытной пробе. Через 120 мин инкубации выраженность влияния на снижение времени выживаемости усиливалась: величина была достоверно ниже на 15,9 % по сравнению с контрольной пробой и на 15,3 % в сравнении с исходным значением в опытной пробе. Наибольшая выраженность влияния на снижение времени выживаемости инфузорий выявлена при инкубации в течение 24 ч, что являлось достоверным и составило на 43,5 % меньше по сравнению с контрольной пробой и на 44,4 % меньше в сравнении с исходным значением в опытной пробе (таблица 2). Ввиду того что, согласно ранее проведенным нами исследованиям, накопление экотоксикантов листьями аронии Мичурина не превышает ПДК [48], снижение времени выживаемости инфузорий под влиянием изучаемого отвара в максимальной концентрации 1:10, вероятно, следует связывать с выявленным в результате ранее проведенных нами исследований (таблица 1) высоким содержанием дубильных веществ [13–21, 49–51], кото-

рые, как известно, связываются с биологическими молекулами, регулируют активность ряда ферментов [52], денатурируют протоплазматические белки¹, обуславливая в высоких концентрациях известное противомикробное (биоцидное) действие. Важно подчеркнуть, что данный эффект проявляется в большей степени в наиболее концентрированном разведении 1:10 при постоянной длительной инкубации в течение 24 ч.

В опытной пробе с добавлением изучаемого отвара листьев аронии Мичурина, разведение 1:100, различия с контрольной пробой при исходном тестировании составили лишь 0,5 %, при инкубации в течение 60 мин и 120 мин наблюдалась слабовыраженная тенденция к снижению времени выживаемости инфузорий. Через 24 ч инкубации выраженность влияния на снижение времени выживаемости усиливалась, являясь достоверно ниже на 14,8 % по сравнению с контрольной пробой и на 15,8 % в сравнении с исходным значением в опытной пробе (таблица 2).

В опытной пробе с добавлением изучаемого отвара листьев аронии Мичурина, разведение 1:1000, при исходном тестировании выявлена слабая тенденция к увеличению времени выживаемости инфузорий. При инкубации в течение 60 мин и 120 мин выраженность положительного влияния на увеличение времени выживаемости инфузорий усиливалась, являясь соответственно на 6,3 и 23,0 % больше по сравнению с контрольной пробой и достоверно на

¹ Справочник Видаль «Лекарственные препараты в России». Доступно по: https://www.vidal.ru/drugs/quercus_cortex__15895. Ссылка активна на 10.09.2024.

Таблица 2. Изучение влияния отвара листьев аронии Мичурина (заготовка ЛРС – май) на время выживаемости *Paramecium caudatum* в тесте «Функциональная нагрузка»

Table 2. Study of the effect of decoction of Michurin's chokeberry leaves (harvested in May) on the survival time of *Paramecium caudatum* in the «functional load» test

Проба Sample	Время выживаемости инфузорий, с Survival time of <i>Paramecium caudatum</i> , s			
	0 мин (исходно) 0 min (original)	60 мин 60 min	120 мин 120 min	24 ч 24 h
Контрольная проба Control sample	295,33 ± 5,24	293,33 ± 10,71	297,33 ± 3,76	290,67 ± 6,12
Опытная проба, 1 : 10 Experimental sample, 1 : 10	295,33 ± 6,06	262,33 ± 14,11	250,00 ± 7,81**,+	164,33 ± 6,49**,+
разница с контролем, % difference with the control, %	0,0	–10,6	–15,9	–43,5
разница с исходным, % difference with the original, %	–	–11,2	–15,3	–44,4
Опытная проба, 1 : 100 Experimental sample, 1 : 100	294,00 ± 10,77	282,00 ± 4,04	269,67 ± 12,73	247,67 ± 9,33*+.
разница с контролем, % difference with the control, %	–0,5	–3,9	–9,3	–14,8
разница с исходным, % difference with the original, %	–	–4,1	–8,3	–15,8
Опытная проба, 1 : 1000 Experimental sample, 1 : 1000	300,33 ± 2,03	311,67 ± 3,76+	365,67 ± 6,01+++	383,67 ± 3,84***,+++
разница с контролем, % difference with the control, %	+1,7	+6,3	+23,0	+32,0
разница с исходным, % difference with the original, %	–	+3,8	+21,8	+27,7
Опытная проба, 1 : 10 000 Experimental sample, 1 : 10 000	287,33 ± 3,28	314,33 ± 2,19++	367,67 ± 11,22**,+	389,00 ± 4,73***,+++
разница с контролем, % difference with the control, %	–2,7	+7,2	+23,7	+33,8
разница с исходным, % difference with the original, %	–	+9,4	+28,0	+35,4
Опытная проба, 1 : 100 000 Experimental sample, 1 : 100 000	302,00 ± 4,62	294,67 ± 4,91	298,00 ± 8,02	293,67 ± 8,09
разница с контролем, % difference with the control, %	+2,3	+0,5	+0,2	+1,0
разница с исходным, % difference with the original, %	–	–2,4	–1,3	–2,8

Примечание. * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$ – достоверность различий при сравнении показателей в опытной пробе с контрольной пробой. + $P < 0,05$; ++ $P < 0,01$, +++ $P < 0,001$ – достоверность различий при сравнении показателей с исходным значением по группе; опытная проба – отвар листьев аронии Мичурина.

Note. * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$ – reliability of differences when comparing the parameters in the test sample with the control sample. + $P < 0,05$; ++ $P < 0,01$, +++ $P < 0,001$ – reliability of differences when comparing the parameters with the initial value for the group; test sample – decoction of Michurin's chokeberry leaves.

3,8 и 21,8 % больше по сравнению с исходным значением в опытной пробе. Через 24 ч инкубации усиливалась выраженность влияния на увеличение времени выживаемости, являясь достоверно на 32,0 % больше по сравнению с контрольной пробой и на 27,7 % достоверно больше в сравнении с исходным значением в опытной пробе (см. таблицу 2).

В опытной пробе с добавлением изучаемого отвара листьев аронии Мичурина, разведение 1 : 10 000, при исходном тестировании выявлена слабая тенден-

ция к снижению времени выживаемости инфузорий. При инкубации в течение 60 и 120 мин выявлено положительное влияние на увеличение времени выживаемости инфузорий – на 7,2 и 23,7 % (достоверно) больше по сравнению с контрольной пробой и на 9,4 и 28,0 % достоверно больше по сравнению с исходным значением в опытной пробе. Через 24 ч инкубации выраженность влияния на увеличение времени выживаемости инфузорий являлась максимальной для данной серии опытных проб (заготовка ЛРС –

май), обеспечив достоверное повышение времени выживаемости инфузорий на 33,8 % по сравнению с контрольной пробой и на 35,4 % достоверно больше по сравнению с исходным значением в опытной пробе (см. таблицу 2), свидетельствуя о наличии биостимулирующего и мембранопротекторного действия.

В опытной пробе с добавлением изучаемого отвара листьев аронии Мичурина в максимальном согласно методике разведении 1:100 000 как при исходном тестировании 0 мин (исходно), так и при повторных тестированиях при инкубации в течение 60 мин, 120 мин и 24 ч значимых различий с контрольной пробой и исходным значением не выявлено, разница в показателях не превышала 2,8 %, что закономерно связано с крайне малым содержанием БАВ в отваре при данном разведении (см. таблицу 2).

Изучение влияния на время выживаемости инфузорий отвара листьев аронии Мичурина при заготовке ЛРС в июне показало, что в опытной пробе с добавлением изучаемого отвара, разведение 1:10, при исходном тестировании значимых различий с контрольной пробой не выявлено, как и в предыдущих сериях опытов. При инкубации в течение 60 мин и 120 мин наблюдалась слабо выраженная тенденция к снижению времени выживаемости инфузорий. Аналогично предыдущей серии опытов наибольшая выраженность влияния на снижение времени выживаемости инфузорий выявлена при инкубации в течение

24 ч, что являлось достоверным и составило на 45,1 % меньше по сравнению с контрольной пробой и на 45,8 % меньше в сравнении с исходным значением в опытной пробе (таблица 3).

В опытной пробе с добавлением изучаемого отвара листьев аронии Мичурина, разведение 1:100, различия с контрольной пробой при исходном тестировании и при инкубации в течение 60 и 120 мин являлись незначительными. Через 24 ч инкубации выявлено снижение времени выживаемости инфузорий на 10,0 % по сравнению с контрольной пробой и на 11,5 % в сравнении с исходным значением в опытной пробе (таблица 3).

В опытной пробе с добавлением изучаемого отвара листьев аронии Мичурина, разведение 1:1000, при инкубации в течение 60 мин выявлено достоверное повышение времени выживаемости инфузорий на 13,3 % по сравнению с контрольной пробой и на 10,5 % по сравнению с исходным значением в опытной пробе; через 120 мин – на 28,7 % по сравнению с контрольной пробой и на 26,5 % по сравнению с исходным значением в опытной пробе. Через 24 ч инкубации выявлено максимальное для данной серии и максимальное по всем сериям опытов достоверное значительное увеличение времени выживаемости инфузорий на 39,3 % (рисунок 1) по сравнению с контрольной пробой и на 34,4 % по сравнению с исходным значением в опытной пробе (таблица 3).

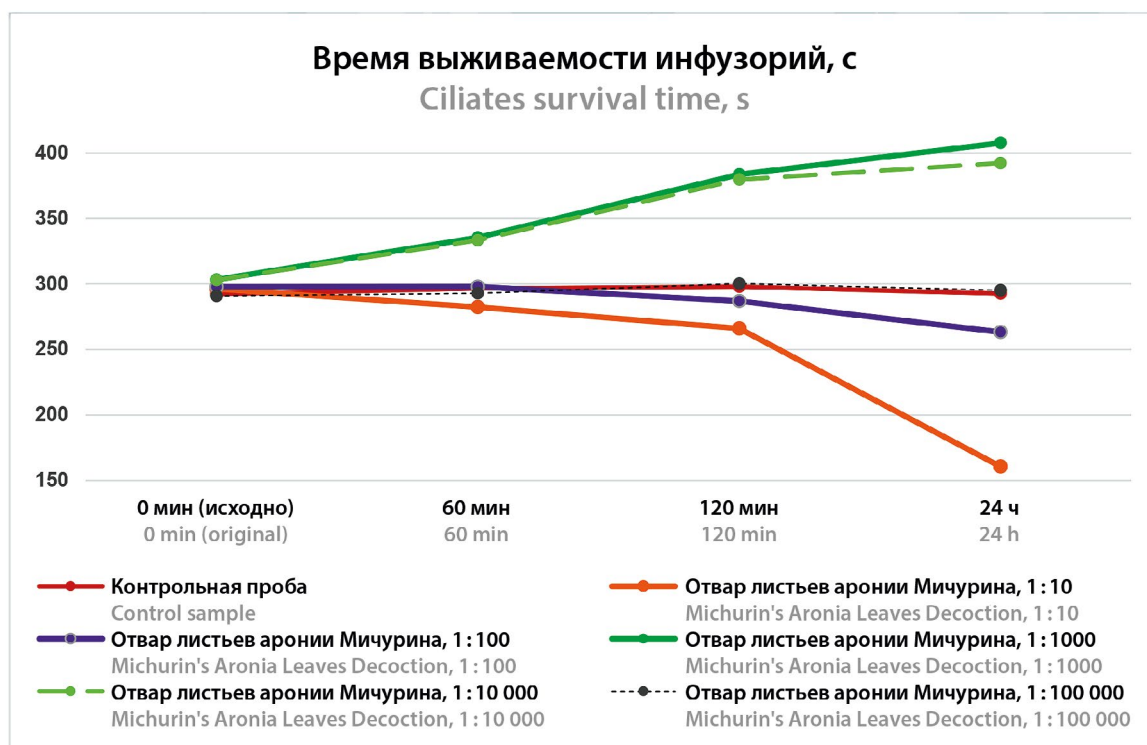


Рисунок 1. Изучение влияния отвара листьев аронии Мичурина (заготовка ЛРС – июнь) на время выживаемости *Paramecium caudatum* в тесте «Функциональная нагрузка»

Figure 1. Study of the effect of decoction of Michurin's chokeberry leaves (harvested in June) on the survival time of *Paramecium caudatum* in the «functional load» test

Таблица 3. Изучение влияния отвара листьев аронии Мичурина (заготовка ЛРС – июнь) на время выживаемости *Paramecium caudatum* в тесте «Функциональная нагрузка»

Table 3. Study of the effect of decoction of Michurin's chokeberry leaves (harvested in June) on the survival time of *Paramecium caudatum* in the «functional load» test

Проба Sample	Время выживаемости инфузорий, с Survival time of <i>Paramecium caudatum</i> , s			
	0 мин 0 min	60 мин 60 min	120 мин 120 min	24 ч 24 h
Контрольная проба Control sample	292,33 ± 2,33	296,67 ± 3,93	298,00 ± 5,568	292,67 ± 7,36
Опытная проба, 1 : 10 Experimental sample, 1 : 10	296,33 ± 4,702	282,33 ± 7,965	266,00 ± 14,048	160,67 ± 15,301 ^{*,**}
разница с контролем, % difference with the control, %	+1,4 %	-4,6	-10,7	-45,1
разница с исходным, % difference with the original, %	-	-4,7	-10,2	-45,8
Опытная проба, 1 : 100 Experimental sample, 1 : 100	297,67 ± 3,76	298,00 ± 9,54	287,00 ± 15,70	263,33 ± 17,68
разница с контролем, % difference with the control, %	+1,8	+0,7	-3,7	-10,0
разница с исходным, % difference with the original, %	-	+0,1	-3,6	-11,5
Опытная проба, 1 : 1000 Experimental sample, 1 : 1000	303,33 ± 3,53 [*]	335,33 ± 7,75 ^{*,**}	383,67 ± 10,68 ^{*,**}	407,67 ± 1,45 ^{***,***}
разница с контролем, % difference with the control, %	+3,8	+13,3	+28,7	+39,3
разница с исходным, % difference with the original, %	-	+10,5	+26,5	+34,4
Опытная проба, 1 : 10 000 Experimental sample, 1 : 10 000	303,00 ± 2,65 [*]	333,33 ± 4,10 ^{*,**}	379,67 ± 13,09 ^{*,**}	392,33 ± 4,37 ^{***,***}
разница с контролем, % difference with the control, %	+3,6	+12,6	+27,4	+34,1
разница с исходным, % difference with the original, %	-	+10,0	+25,3	+29,5
Опытная проба, 1 : 100 000 Experimental sample, 1 : 100 000	291,00 ± 13,45	293,00 ± 3,22	300,33 ± 5,24	295,33 ± 3,71
разница с контролем, % difference with the control, %	-0,5	-1,0	+0,8	+0,9
разница с исходным, % difference with the original, %	-	+0,7	+3,2	+1,5

Примечание. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$ – достоверность различий при сравнении показателей в опытной пробе с контрольной пробой. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$ – достоверность различий при сравнении показателей с исходным значением по группе; опытная проба – отвар листьев аронии Мичурина.

Note. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ – reliability of differences when comparing the parameters in the test sample with the control sample. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ – reliability of differences when comparing the parameters with the initial value for the group; test sample – decoction of Michurin's chokeberry leaves.

Указанный результат согласуется с установленным в данный период вегетации по результатам исследований высоким содержанием экстрактивных веществ, извлекаемых водой (см. таблицу 1), и свидетельствует о достаточно выраженном биостимулирующем действии изучаемого отвара листьев аронии Мичурина при повреждающем воздействии, что может быть связано с влиянием на проницаемость биологических мембран, в том числе за счет высокого, согласно полу-

ченным результатам (см. таблицу 1), в данный период содержания биофлавоноидов, проявляющих известные механизмы противовоспалительного и антиоксидантного действия, обусловленные влиянием на структурно-функциональные свойства биологических мембран [54]. Достаточно высокое во все периоды заготовки, согласно полученным данным (таблица 1), содержание восстановленных форм флавоноидов – лейкоантоцианов, вероятно, усиливает антиоксидант-

ный эффект [55] собственно биофлавоноидов, обеспечивая синергизм в реализации биостимулирующего и мембранопротекторного действия извлечения ЛРС в целом.

В опытной пробе с добавлением изучаемого отвара листьев аронии Мичурина, разведение 1:10 000, при инкубации в течение 60 мин выявлено достоверное повышение времени выживаемости инфузорий на 12,6 % по сравнению с контрольной пробой и на 10,0 % по сравнению с исходным значением в опытной пробе; через 120 мин – на 27,4 % по сравнению с контрольной пробой и на 25,3 % по сравнению с исходным значением в опытной пробе; через 24 ч – значительное повышение на 34,1 % по сравнению с контрольной пробой и на 29,5 % по сравнению с исходным значением в опытной пробе (таблица 3).

В опытной пробе с добавлением изучаемого отвара листьев аронии Мичурина в разведении 1:100 000, как и в предыдущих сериях опытов, при исходном тестировании 0 мин (исходно) и при инкубации в течение 60 мин, 120 мин и 24 ч значимых различий как с контрольной пробой, так и с исходным значением не выявлено (таблица 3).

Изучение влияния на время выживаемости инфузорий отвара листьев аронии Мичурина при заготовке ЛРС в августе показало, что в опытной пробе с добавлением изучаемого отвара, разведение 1:10, при инкубации в течение 60 мин наблюдалась слабая тенденция к снижению времени выживаемости инфузорий. Через 120 мин аналогично предыдущим сериям опытов выявлено умеренное достоверное снижение времени выживаемости инфузорий на 19,0 % по сравнению с контрольной пробой и на 19,8 % по сравнению с исходным значением в опытной пробе. При инкубации в течение 24 ч выявлено наибольшее достоверное влияние на снижение времени выживаемости инфузорий – на 45,7 % по сравнению с контрольной пробой и на 47,4 % в сравнении с исходным значением в опытной пробе (таблица 4).

В опытной пробе с добавлением изучаемого отвара листьев аронии Мичурина, разведение 1:100, различия с контрольной пробой при исходном тестировании и при инкубации в течение 60 мин и 120 мин являлись незначительными с тенденцией к снижению времени выживаемости инфузорий. Через 24 ч инкубации выявлено снижение времени выживаемости инфузорий на 10,5 % по сравнению с контрольной пробой и на 13,0 % в сравнении с исходным значением в опытной пробе (таблица 4).

В опытной пробе с добавлением изучаемого отвара листьев аронии Мичурина, разведение 1:1000, при инкубации в течение 60 мин выявлено повышение времени выживаемости инфузорий на 10,7 % по сравнению с контрольной пробой и на 11,4 % по сравнению с исходным значением в опытной пробе; через 120 мин – на 19,8 % по сравнению с контрольной пробой (достоверно) и на 22,0 % по сравнению с исходным значением в опытной пробе. Через 24 ч

инкубации сохранялась тенденция к повышению времени выживаемости инфузорий на 7,3 % по сравнению с контрольной пробой и на 6,8 % по сравнению с исходным значением в опытной пробе, однако достоверность различий отсутствовала (таблица 4).

В опытной пробе с добавлением изучаемого отвара листьев аронии Мичурина, разведение 1:10 000, при инкубации в течение 60 мин и 120 мин наблюдалось повышение времени выживаемости инфузорий: на 4,8 и 17,8 % (достоверно) по сравнению с контрольной пробой и на 7,2 и 21,9 % по сравнению с исходным значением в опытной пробе; через 24 ч – достоверное повышение на 23,4 % по сравнению с контрольной пробой и на 24,5 % по сравнению с исходным значением в опытной пробе (таблица 4).

В опытной пробе с добавлением изучаемого отвара листьев аронии Мичурина в разведении 1:100 000, как и в предыдущих сериях опытов, при исходном тестировании 0 мин (исходно) и при инкубации в течение 60 мин, 120 мин и 24 ч значимых различий с контрольной пробой и исходным значением в опытной пробе не выявлено (таблица 4).

Изучение влияния на время выживаемости инфузорий отвара листьев аронии Мичурина при заготовке ЛРС в сентябре показало, что в опытной пробе с добавлением изучаемого отвара, разведение 1:10, при инкубации в течение 60 мин и 120 мин выявлено незначительное снижение времени выживаемости инфузорий. При инкубации в течение 24 ч выявлено наибольшее достоверное влияние на снижение времени выживаемости инфузорий – на 49,6 % по сравнению с контрольной пробой и на 49,2 % в сравнении с исходным значением в опытной пробе (таблица 5), что являлось максимально выраженным снижением времени выживаемости по всем сериям опытов. Следует отметить, что данный результат незначительно превышает установленное для заготовленного в мае ЛРС (см. таблицу 2) снижение времени выживаемости инфузорий – на 6,1 %, что позволяет предположить влияние на повышение проницаемости биологических мембран не только за счет высокого содержания дубильных веществ, взаимодействующих преимущественно с белковыми структурами, но и, возможно, за счет максимального в данный период содержания стероидов (см. таблицу 1), известных способностью встраиваться в структуру мембраны и участвовать в регуляции текучести мембран клеток [55].

В опытной пробе с добавлением изучаемого отвара листьев аронии Мичурина, разведение 1:100, при инкубации в течение 60 мин, 120 мин и 24 ч выявлено снижение времени выживаемости инфузорий соответственно на 4,9, 5,8 и 10,9 % (достоверно) по сравнению с контрольной пробой и на 2,2, 3,1 и 10,8 % в сравнении с исходным значением в опытной пробе (таблица 5).

В опытной пробе с добавлением изучаемого отвара листьев аронии Мичурина, разведение 1:1000, при инкубации в течение 60 мин, 120 мин и 24 ч

Таблица 4. Изучение влияния отвара листьев аронии Мичурина (заготовка ЛРС – август) на время выживаемости *Paramecium caudatum* в тесте «Функциональная нагрузка»

Table 4. Study of the effect of decoction of Michurin's chokeberry leaves (harvested in August) on the survival time of *Paramecium caudatum* in the «functional load» test

Проба Sample	Время выживаемости инфузорий, с Survival time of <i>Paramecium caudatum</i> , s			
	0 мин 0 min	60 мин 60 min	120 мин 120 min	24 ч 24 h
Контрольная проба Control sample	295,00 ± 7,21	297,33 ± 6,77	300,67 ± 1,76	294,00 ± 6,56
Опытная проба, 1:10 Experimental sample, 1:10	303,67 ± 4,18	285,33 ± 8,19	243,67 ± 14,72*+,	159,67 ± 7,84***,+++
разница с контролем, % difference with the control, %	2,9	–4,0	–19,0	–45,7
разница с исходным, % difference with the original, %	–	–6,0	–19,8	–47,4
Опытная проба, 1:100 Experimental sample, 1:100	302,33 ± 7,69	287,33 ± 5,21	291,67 ± 15,06	263,00 ± 18,82
разница с контролем, % difference with the control, %	2,5	–3,4	–3,0	–10,5
разница с исходным, % difference with the original, %	–	–5,0	–3,5	–13,0
Опытная проба, 1:1000 Experimental sample, 1:1000	295,33 ± 6,77	329,00 ± 14,50	360,33 ± 11,32**	315,33 ± 9,39
разница с контролем, % difference with the control, %	+0,1	+10,7	+19,8	+7,3
разница с исходным, % difference with the original, %	–	+11,4	+22,0	+6,8
Опытная проба, 1:10 000 Experimental sample, 1:10 000	290,67 ± 12,25	311,67 ± 4,84	354,33 ± 11,80*+,	362,67 ± 10,33**+,
разница с контролем, % difference with the control, %	–1,5	+4,8	+17,8	+23,4
разница с исходным, % difference with the original, %	–	+7,2	+21,9	+24,5
Опытная проба, 1:100 000 Experimental sample, 1:100 000	294,33 ± 6,57	297,00 ± 4,93	306,33 ± 2,19	292,00 ± 7,55
разница с контролем, % difference with the control, %	–0,2	+0,1	+1,9	–0,7
разница с исходным, % difference with the original, %	–	+0,9	+4,1	–0,8

Примечание. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$ – достоверность различий при сравнении показателей в опытной пробе с контрольной пробой. + $P < 0,05$, ++ $P < 0,01$, +++ $P < 0,001$ – достоверность различий при сравнении показателей с исходным значением по группе; опытная проба – отвар листьев аронии Мичурина.

Note. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$ – reliability of differences when comparing the parameters in the test sample with the control sample. + $P < 0,05$, ++ $P < 0,01$, +++ $P < 0,001$ – reliability of differences when comparing the parameters with the initial value for the group; test sample – decoction of Michurin's chokeberry leaves.

выявлено повышение времени выживаемости инфузорий на 2,9, 16,0 % (достоверно) и 34,4 % (достоверно) по сравнению с контрольной пробой, достоверно на 9,5, 23,5 и 39,3 % по сравнению с исходным значением в опытной пробе (таблица 5).

В опытной пробе с добавлением изучаемого отвара листьев аронии Мичурина, разведение 1:10 000, при инкубации в течение 60 мин, 120 мин и 24 ч также сохранялось несколько менее выраженное повы-

шение времени выживаемости инфузорий: на 3,9, 13,2 и 26,5 % (достоверно) по сравнению с контрольной пробой, на 8,8, 18,5 и 28,9 % (достоверно) по сравнению с исходным значением в опытной пробе (таблица 5).

В опытной пробе с добавлением изучаемого отвара листьев аронии Мичурина в разведении 1:100 000, как и в предыдущих сериях опытов, при исходном

Таблица 5. Изучение влияния отвара листьев аронии Мичурина (заготовка ЛРС – сентябрь) на время выживаемости *Paramecium caudatum* в тесте «Функциональная нагрузка»

Table 5. Study of the effect of decoction of Michurin's chokeberry leaves (harvested in September) on the survival time of *Paramecium caudatum* in the «functional load» test

Проба Sample	Время выживаемости инфузорий, с Survival time of <i>Paramecium caudatum</i> , s			
	0 мин 0 min	60 мин 60 min	120 мин 120 min	24 ч 24 h
Контрольная проба Control sample	300,67 ± 2,33	305,33 ± 5,21	298,67 ± 1,20	297,33 ± 3,28
Опытная проба, 1:10 Experimental sample, 1:10	295,33 ± 4,18	279,33 ± 9,33*	258,67 ± 15,72	150,00 ± 13,32 ⁺⁺ ,***
разница с контролем, % difference with the control, %	–1,8	–8,5	–2,2	–49,6
разница с исходным, % difference with the original, %	–	–5,4	–12,4	–49,2
Опытная проба, 1:100 Experimental sample, 1:100	297,00 ± 3,00	290,33 ± 4,26	287,67 ± 8,65	265,00 ± 13,32*
разница с контролем, % difference with the control, %	–1,2	–4,9	–5,8	–10,9
разница с исходным, % difference with the original, %	–	–2,2	–3,1	–10,8
Опытная проба, 1:1000 Experimental sample, 1:1000	287,00 ± 7,02	314,33 ± 4,26 ⁺	354,33 ± 5,04 ^{**} , ⁺⁺	399,67 ± 13,25 ^{**} , ⁺⁺
разница с контролем, % difference with the control, %	–4,5	+2,9	+16,0	+34,4
разница с исходным, % difference with the original, %	–	+9,5	+23,5	+39,3
Опытная проба, 1:10 000 Experimental sample, 1:10 000	291,67 ± 6,49	317,33 ± 3,53 ⁺	345,67 ± 22,15	376,00 ± 21,46 [*] , ⁺
разница с контролем, % difference with the control, %	–3,0	+3,9	+13,2	+26,5
разница с исходным, % difference with the original, %	–	+8,8	+18,5	+28,9
Опытная проба, 1:100 000 Experimental sample, 1:100 000	280,00 ± 11,27	288,00 ± 10,26	292,67 ± 3,71	294,00 ± 14,30
разница с контролем, % difference with the control, %	–6,9	–5,7	–4,1	–1,1
разница с исходным, % difference with the original, %	–	+2,9	+4,5	+5,0

Примечание. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$ – достоверность различий при сравнении показателей в опытной пробе с контрольной пробой. + $P < 0,05$, ++ $P < 0,01$, +++ $P < 0,001$ – достоверность различий при сравнении показателей с исходным значением по группе; опытная проба – отвар листьев аронии Мичурина.

Note. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$ – reliability of differences when comparing the parameters in the test sample with the control sample. + $P < 0,05$, ++ $P < 0,01$, +++ $P < 0,001$ – reliability of differences when comparing the parameters with the initial value for the group; test sample – decoction of Michurin's chokeberry leaves.

тестировании 0 мин (исходно), при инкубации в течение 60 мин, 120 мин и 24 ч не выявлено значимых различий с контрольной пробой и исходным значением в опытной пробе (таблица 5).

Согласно проведенным нами ранее исследованиям (таблица 6) содержание в отваре 1:10 флавоноидов (в пересчете на рутин) составляет 0,10 ± 0,021 %, следовательно, согласно рекомендуемым для взрослых величинам суточного потребления фла-

воноидов 30–100 мг, в том числе флавонолов и их гликозидов, в частности рутина, для восполнения адекватного уровня потребления достаточно 30 мл отвара (прием по 1 столовой ложке 2 раза в день), верхний допустимый уровень потребления – 100 мл отвара (прием по 2 столовые ложки 3 раза в день).

Также согласно проведенным нами исследованиям (таблица 6) содержание в отваре 1:10 дубильных веществ (в пересчете на катехин) составляет

0,86 ± 0,17 %, следовательно, согласно рекомендуемым для взрослых величинам суточного потребления¹ флаван-3-олов (катехины), в том числе катехина, 50–100 мг для восполнения адекватного уровня потребления достаточно 5,81 мл отвара (прием по 1/3 столовой ложки или по 1 чайной ложке 1 раз в день), верхний допустимый уровень потребления – 11,6 мл отвара (прием по 1 столовой ложке 1 раз в день).

Таблица 6. Результаты стандартизации и количественного определения целевых БАВ в отваре* листьев аронии Мичурина (1 : 10) [57]

Table 6. Results of standardisation and quantification of target BAS in decoction of Michurin's chokeberry leaves (1 : 10) [57]

№ п/п Item No.	Показатель Parameter	Отвар 1:10 Decoction 1:10
1	Сухой остаток, % Dry residue	4,80 ± 0,45
2	Значение pH pH value	6,01
3	Флавоноиды (в пересчете на рутин), % Total flavonoids (in terms of rutin), %	0,10 ± 0,021
4	Дубильные вещества (в пересчете на катехин), % The amount of tannins (in terms of catechin), %	0,86 ± 0,017

Примечание. * Отвар изготавливали из листьев, заготовленных в сентябре (как рекомендуемом времени заготовки для сохранения ценности фармакопейного сырья – плодов).

Note. * The decoction was prepared from leaves harvested in September (as the recommended harvesting time to preserve the value of the pharmacopoeial raw material – the fruits).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в целом с использованием тест-системы инфузорий *Paramecium caudatum* в тесте «Функциональная нагрузка» установлено, что отвар листьев аронии Мичурина *in vitro* в разведении 1:10 во все сроки заготовки ЛРС снижает время выживаемости инфузорий при повреждающем воздействии гипертонического раствора натрия хлорида максимально при инкубации в течение 24 ч не менее чем на 43,5 % по сравнению с контрольной пробой, что, возможно, свидетельствует о повышении проницаемости биологических мембран под влиянием дубиль-

ных веществ и стеринных листьев и согласуется с их известным вяжущим и антибактериальным действием. Установленный эффект свидетельствует о целесообразности разработки комбинированных ЛРП, содержащих извлечения из листьев аронии Мичурина, антимикробного и противовоспалительного действия, например в лекарственной форме спрея для краткосрочного местного применения при инфекционно-воспалительных заболеваниях полости рта.

Отвар листьев аронии Мичурина (при заготовке ЛРС в июне) *in vitro* в разведениях 1:1000 и 1:10 000, близких к диапазонам терапевтических доз, проявляет наибольшее биостимулирующее и мембрано-протекторное действие, что подтверждается значительным достоверным повышением времени выживаемости инфузорий при повреждающем воздействии гипертонического раствора натрия хлорида максимально на 39,3 % по сравнению с контрольной пробой при инкубации в течение 24 ч, что, вероятно, связано с содержанием флавоноидов и лейкоантоцианов и согласуется с их известным капилляропротекторным и антиоксидантным действием. Установленный эффект свидетельствует о целесообразности разработки содержащих извлечения из листьев аронии Мичурина ЛРП, в том числе комбинированных, капилляропротекторного и антиоксидантного действия, например в твердых дозированных лекарственных формах для курсового перорального применения в качестве венотонизирующих средств.

ЛИТЕРАТУРА

1. Виноградова Ю. К., Куклина А. Г. Арония Мичурина: от создания до натурализации. М.: ГЕОС; 2014. 137 с.
2. Куклина А. Г. Натурализация аронии Мичурина в лесах европейской части России. *Лесохозяйственная информация*. 2015;2:46–56.
3. Kokotkiewicz A., Jaremicz Z., Luczkiewicz M. Aronia plants: a review of traditional use, biological activities, and perspectives for modern medicine. *Journal of Medicinal Food*. 2010;13(2):255–269. DOI: 10.1089/jmf.2009.0062.
4. Государственная фармакопея российской федерации. XIV издание. М.: ФЭМБ; 2018. 7019 с.
5. Brand M. H., Connolly B. A., Levine L. H., Richards J. T., Shine S. M., Spencer L. E. Anthocyanins, total phenolics, ORAC and moisture content of wild and cultivated dark-fruited Aronia species. *Scientia Horticulturae*. 2017;224:332–342. DOI: 10.1016/j.scienta.2017.06.021.
6. Дейнека В. И., Третьяков М. Ю., Олейниц Е. Ю., Павлов А. А., Дейнека Л. А., Блинова И. П., Манохина Л. А. Определение антоцианов и хлорогеновых кислот в плодах рода арония: опыт хемосистематики. *Химия растительного сырья*. 2019;2:161–167. DOI: 10.14258/jcprm.2019024601.
7. Cvetanović A., Zengin G., Zeković Z., Švarc-Gajić J., Ražić S., Damjanović A., Mašković P., Mitić M. Comparative *in vitro* studies of the biological potential and chemical composition of stems, leaves and berries *Aronia melanocarpa*'s extracts obtained by subcritical water extraction. *Food and Chemical Toxicology*. 2018;121:458–466. DOI: 10.1016/j.fct.2018.09.045.

¹ Методические рекомендации МР 2.3.1.1915-04 «Рекомендуемые уровни потребления пищевых и биологически активных веществ» (утв. Федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека 02.07.2004). Доступно по: <https://docs.cntd.ru/document/1200037560>. Ссылка активна на 10.09.2024.

8. Абидуллина Р. Г., Пупыкина К. А., Денисова С. Г., Пупыкина В. В. Биохимический состав плодов некоторых представителей рода *Sorbus* L. коллекции южно-уральского ботанического сада. *Химия растительного сырья*. 2021;3:235–243. DOI: 10.14258/jscrpm.2021037601.
9. Блиникова О. М. Витаминная ценность плодов аронии черноплодной. *Вестник МичГАУ*. 2013;2:56–59.
10. Блиникова О. М. Пищевая ценности плодов аронии черноплодной и перспективы их использования в производстве пищевых продуктов для функционального питания. «Инновационные технологии в АПК». В сб.: Международной научно-практической конференции. 2018. С. 294–298.
11. Гареева Г. М., Хасанова Л. А., Хасанова З. М. Целебные свойства аронии черноплодной (*Aronia melanocarpa*). *Вестник Башкирского государственного педагогического университета им. М. Акмуллы*. 2018;2:36–38.
12. Елисеева Л. Г., Блиникова О. М. Пищевая ценность плодов аронии черноплодной, выращенной в ЦЧР России. *Известия вузов. Пищевая технология*. 2013;4:111–112.
13. Елисеева Л. Г., Блиникова О. М. Плоды аронии черноплодной – источник витаминно-минеральных комплексов. *Пищевая промышленность*. 2013;4:28–29.
14. Брежнева Т. А., Недолужко Е. И., Логвинова Е. Е., Гудкова А. А., Сливкин А. И. Изучение биологически активных веществ листьев рябины черноплодной. *Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация*. 2018;2:306–311.
15. Недолужко Е. И., Брежнева Т. А., Логвинова Е. Е. и др. Изучение биологически активных веществ листьев рябины черноплодной. Университетская наука: взгляд в будущее. В сб.: Сборник научных трудов по материалам Международной научной конференции, посвященной 83-летию Курского государственного медицинского университета. 2018. С. 74–77.
16. Пугачева О. В., Свиридова О. Л., Брежнева Т. А., Сливкин А. И. Валидация методики количественного определения дубильных веществ в листьях рябины черноплодной. *Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация*. 2022;1:98–104.
17. Пугачева О. В., Брежнева Т. А., Сливкин А. И. Определение дубильных веществ в листьях рябины черноплодной различными аналитическими методами. В сб.: Сборник трудов седьмой научной конференции «Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения». 2019. С. 292–298.
18. Пугачева О. В., Брежнева Т. А., Сливкин А. И. Определение дубильных веществ в листьях рябины черноплодной для выбора сроков заготовки сырья. В сб.: «Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения», сборник материалов IX Международная научная конференция молодых ученых. 2021. С. 345–350.
19. Пугачева О. В., Брежнева Т. А., Сливкин А. И. Определение флавоноидов в листьях аронии мичурина методом ТСХ. «Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. В сб.: Актуальные вопросы разработки и исследования новых лекарственных средств», сборник трудов 8-й Международной научно-методической конференции. 2022. С. 429–433.
20. Пугачева О. В., Тринеева О. В., Панова К. Е. Количественное определение антоцианов в листьях аронии Мичурина. В сб.: Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Актуальные вопросы разработки и исследования новых лекарственных средств. Сборник трудов 9-й Международной научно-методической конференции. Воронеж. 2023. С. 356–359.
21. Пугачева О. В., Брежнева Т. А., Сливкин А. И. Разработка и валидация методики количественного определения флавоноидов в листьях аронии Мичурина. *Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация*. 2023;3:92–99.
22. Пугачева О. В., Тринеева О. В., Сливкин А. И. Исследование состава листьев аронии Мичурина методом газовой хромато-масс-спектрометрии. *Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация*. 2024;1:114–124.
23. Суворова И. Н., Давыдов В. В., Прозоровский В. Н. и др. Особенности проявления антиоксидантного действия экстракта листьев рябины черноплодной на головной мозг. *Биомедицинская химия*. 2005;51(1):66–71.
24. Ипатова О. М., Прозоровская Н. Н., Прозоровский В. Н., Княжев В. А., Баранова В. С., Груздьева А. Е. Экстракт листьев аронии, обладающий биологической активностью, и способ его получения. Патент РФ на изобретение № 2171111. Заявл. 05.05.2000. Опублик. 27.07.2001. Доступно по: <https://patentimages.storage.googleapis.com/74/9a/85/256ef6a82683f1/RU2171111C1.pdf>. Ссылка активна на 07.01.2024.
25. Efenberger-Szmechtyk M., Nowak A., Czyżowska A., Śniadowska M., Otlewska A., Żyżelewicz D. Antibacterial mechanisms of *Aronia melanocarpa* (Michx.), *Chaenomeles superba* Lindl. and *Cornus mas* L. leaf extracts. *Food Chemistry*. 2021;350:129218. DOI: 10.1016/j.foodchem.2021.129218.
26. Valcheva-Kuzmanova S., Kuzmanov K., Mihova V., Krasnaliev I., Borisova P., Belcheva A. Antihyperlipidemic effect of *Aronia melanocarpa* fruit juice in rats fed a high-cholesterol diet. *Plant Foods for Human Nutrition*. 2007;62(1):19–24. DOI: 10.1007/s11130-006-0036-2.
27. Martin D. A., Taheri R., Brand M. H., Draghi A., Sylvester F., Bolling B. W. Anti-inflammatory activity of aronia berry extracts in murine splenocytes. *Journal of Functional Foods*. 2014;8(1):68–75. DOI: 10.1016/j.jff.2014.03.004.
28. Ohgami K., Ilieva I., Shiratori K., Koyama Y., Jin X.-H., Yoshida K., Kase S., Kitaichi N., Suzuki Y., Tanaka T., Ohno S. Anti-inflammatory effects of Aronia extract on rat endotoxin-induced uveitis. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2005;46(1):275–281. DOI: 10.1167/iiov.04-0715.
29. Zhao Y., Liu X., Zheng Y., Liu W., Ding C. *Aronia melanocarpa* polysaccharide ameliorates inflammation and aging in mice by modulating the AMPK/SIRT1/NF-κB signaling pathway and gut microbiota. *Scientific Reports*. 2021;11(1):20558. DOI: 10.1038/s41598-021-00071-6.
30. Bell D. R., Gochenaur K. Direct vasoactive and vasoprotective properties of anthocyanin-rich extracts. *Journal of Applied Physiology*. 2006;100(4):1164–1170. DOI: 10.1152/jappphysiol.00626.2005.
31. Daskalova E., Delchev S., Vladimirova-Kitova L., Kitov S., Denev P. Black Chokeberry (*Aronia melanocarpa*) Functional Beverages Increase HDL-Cholesterol Levels in Aging Rats. *Foods*. 2021;10(7):1641. DOI: 10.3390/foods10071641.
32. Wu X., Gu L., Prior R. L., McKay S. Characterization of Anthocyanins and Proanthocyanidins in Some Cultivars of *Ribes*, *Aronia*, and *Sambucus* and Their Antioxidant Capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2004;52(26):7846–7856. DOI: 10.1021/jf0486850.

33. Appel K., Meiser P., Millán E., Collado J. A., Rose T., Gras C. C., Carle R., Muñoz E. Chokeberry (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliot) concentrate inhibits NF- κ B and synergizes with selenium to inhibit the release of pro-inflammatory mediators in macrophages. *Fitoterapia*. 2015;105:73–82. DOI: 10.1016/j.fitote.2015.06.009.
34. Szopa A., Kokotkiewicz A., Kubica P., Banaszczyk P., Wojtanowska-Krośniak A., Krośniak M., Marzec-Wróblewska U., Badura A., Zagrodzki P., Bucinski A., Luczkiewicz M., Ekiert H. Comparative analysis of different groups of phenolic compounds in fruit and leaf extracts of *Aronia* sp.: *A. melanocarpa*, *A. arbutifolia*, and *A. xprunifolia* and their antioxidant activities. *European Food Research and Technology*. 2017;243:1645–1657. DOI: 10.1007/s00217-017-2872-8.
35. Cvetanović A., Zengin G., Zeković Z., Švarc-Gajić J., Ražić S., Damjanović A., Mašković P., Mitić M. Comparative in vitro studies of the biological potential and chemical composition of stems, leaves and berries *Aronia melanocarpa*'s extracts obtained by subcritical water extraction. *Food and Chemical Toxicology*. 2018;121:458–466. DOI: 10.1016/j.fct.2018.09.045.
36. Kim D.-W., Han H.-A., Kim J.-K., Kim D.-H., Kim M.-K. Comparison of Phytochemicals and Antioxidant Activities of Berries Cultivated in Korea: Identification of Phenolic Compounds in *Aronia* by HPLC/Q-TOF MS. *Preventive Nutrition and Food Science*. 2021;26(4):459–468. DOI: 10.3746/pnf.2021.26.4.459.
37. Loo B.-M., Erlund I., Koli R., Puukka P., Hellström J., Wähälä K., Mattila P., Jula A. Consumption of chokeberry (*Aronia mitschurinii*) products modestly lowered blood pressure and reduced low-grade inflammation in patients with mildly elevated blood pressure. *Nutrition Research*. 2016;36(11):1222–1230. DOI: 10.1016/j.nutres.2016.09.005.
38. Ryszawa A., Kawczyńska-Drózd A., Pryjma J., Czesnikiewicz-Guzik M., Adamek-Guzik T., Naruszewicz M., Korbut R., Guzik T. J. Effects of novel plant antioxidants on platelet superoxide production and aggregation in atherosclerosis. *Journal of Physiology and Pharmacology*. 2006;57(4):611–626.
39. Yu W., Gao J., Hao R., Yang J., Wei J. Effects of simulated digestion on black chokeberry (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliot) anthocyanins and intestinal flora. *Journal of Food Science and Technology*. 2021;58(4):1511–1523. DOI: 10.1007/s13197-020-04664-3.
40. Yaneva M. P., Botushanova A. D., Grigorov L. A., Kokov J. L., Todorova E. P., Krachanova M. G. Evaluation of the immunomodulatory activity of *Aronia* in combination with apple pectin in patients with breast cancer undergoing postoperative radiation therapy. *Folia Medica*. 2002;44:22–25.
41. Matsumoto M., Hara H., Chiji H., Kasai T. Gastroprotective effect of red pigments in black chokeberry fruit (*Aronia melanocarpa* Elliot) on acute gastric hemorrhagic lesions in rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2004;52(8):2226–2229. DOI: 10.1021/jf034818q.
42. Kong Y., Yan T., Tong Y., Deng H., Tan C., Wan M., Wang M., Meng X., Wang Y. Gut Microbiota Modulation by Polyphenols from *Aronia melanocarpa* of LPS-Induced Liver Diseases in Rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2021;69(11):3312–3325. DOI: 10.1021/acs.jafc.0c06815.
43. Bolling B. W., Taheri R., Pei R., Kranz S., Yu M., Durocher S. N., Brand M. H. Harvest date affects aronia juice polyphenols, sugars, and antioxidant activity, but not anthocyanin stability. *Food Chemistry*. 2015;187:189–196. DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.04.106.
44. Valcheva-Kuzmanova S., Borisova P., Galunska B., Krasnaliev I., Belcheva A. Hepatoprotective effect of the natural fruit juice from *Aronia melanocarpa* on carbon tetrachloride-induced acute liver damage in rats. *Experimental and Toxicologic Pathology*. 2004;56(3):195–201. DOI: 10.1016/j.etp.2004.04.012.
45. Pyun C.-W., Seo T.-S., Kim D.-J., Kim T.-W., Bae J.-S. Protective Effects of *Ligularia fischeri* and *Aronia melanocarpa* Extracts on Alcoholic Liver Disease (*In Vitro* and *In Vivo* Study). *BioMed Research International*. 2020;2020:9720387. DOI: 10.1155/2020/9720387.
46. Bushmeleva K., Vyshtakalyuk A., Terenzhev D., Belov T., Parfenov A., Sharonova N., Nikitin E., Zobov V. Radical Scavenging Actions and Immunomodulatory Activity of *Aronia melanocarpa* Propylene Glycol Extracts. *Plants*. 2021;10(11):2458. DOI: 10.3390/plants10112458.
47. Шабунин С. В., Бузлама В. С., Ермакова Т. И., Мещеряков Н. П., Бузлама С. В., Бузлама А. В., Трутаев И. В., Долгополов В. Н., Максимова Л. Н. Скрининг биостимулирующих и биоцидных веществ (адаптогены, бактерициды и другие препараты). Москва – Воронеж: Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии; 2006. 51 с.
48. Миронова А. Н., ред. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. М.: Гриф и К. 2012. 944 с.
49. Пугачева О. В., Брежнева Т. А., Сливкин А. И. Исследование элементного состава листьев аронии Мичурина (*Aronia Mitchurinii* Skvortsov & Maitulina). *Химия растительного сырья*. 2023;4:307–316. DOI: 10.14258/jcprm.20230411883.
50. Пугачева О. В., Панова К. Е., Брежнева Т. А., Сливкин А. И. Определение экстрактивных веществ в листьях аронии Мичурина. *Биофармацевтический журнал*. 2023;15(4):3–6. DOI: 10.30906/2073-8099-2023-15-4-3-6.
51. Тринева О. В., Пугачева О. В. Профиль биологически активных веществ листьев аронии Мичурина, произрастающей в условиях Центрального Черноземья. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2024;13(2):48–58. DOI: 10.33380/2305-2066-2024-13-2-1715.
52. Пугачева О. В., Тринева О. В., Панова К. Е. Валидация методики количественного определения антоцианов в аронии Мичурина листьях. *Вестник Смоленской государственной медицинской академии*. 2023;22(4):214–222. DOI: 10.37903/vsgma.2023.4.29.
53. Кубасова Е. Д., Крылов И. А., Корельская Г. В., Кубасов Р. В. Дубильные вещества растительного происхождения и некоторые механизмы их фармакологических свойств. *Вестник «Биомедицина и Социология»*. 2022;7(4):5–11. DOI: 10.26787/nydha-2618-8783-2022-7-4-5-11.
54. Азарова О. В., Галактионова Л. П. Флавоноиды: механизм противовоспалительного действия. *Химия растительного сырья*. 2012;4:61–78.
55. Герасимов М. А., Кошечкина А. С., Перова И. Б., Эллер К. И. Современные методы получения очищенных экстрактов антоцианов. *Фармация*. 2024;4(4):5–13. DOI: 10.29296/25419218-2024-04-01.

56. Сатывалдеева Ж. С. Характеристика основного химического состава и биологической активности некоторых стеринов высших растений. Студенческий научный форум. В сб.: Материалы XIII Международной студенческой научной конференции. Доступно по: <https://scienceforum.ru/2021/article/2018027306>. Ссылка активна на 20.08.2024.
57. Пугачева О. В., Панова К. Е., Брежнева Т. А., Сливкин А. И. Выбор оптимальной лекарственной формы листьев аронии Мичурина. *Биофармацевтический журнал*. 2023;15(5):3–5. DOI: 10.30906/2073-8099-2023-15-5-3-5.

REFERENCES

1. Vinogradova Yu. K., Kuklina A. G. Michurin's chokeberry: from creation to naturalization. Moscow: GEOS; 2014. 137 p. (In Russ.)
2. Kuklina A. G. Naturalisation aronia Mitschurinii in the forests of european Russia. *Forestry information*. 2015;2:46–56. (In Russ.)
3. Kokotkiewicz A., Jaremicz Z., Luczkiewicz M. Aronia plants: a review of traditional use, biological activities, and perspectives for modern medicine. *Journal of Medicinal Food*. 2010;13(2):255–269. DOI: 10.1089/jmf.2009.0062.
4. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIV edition. Moscow: Federalnaia elektronnaia meditsinskaia biblioteka; 2018. 7019 p. (In Russ.)
5. Brand M. H., Connolly B. A., Levine L. H., Richards J. T., Shine S. M., Spencer L. E. Anthocyanins, total phenolics, ORAC and moisture content of wild and cultivated dark-fruited Aronia species. *Scientia Horticulturae*. 2017;224:332–342. DOI: 10.1016/j.scienta.2017.06.021.
6. Deineka V. I., Tret'akov M. Y., Oleiniz Y. Y., Pavlov A. A., Deineka L. A., Blinova I. P., Manokhina L. A. Determination of anthocyanins and chlorogenic acids in fruits of aronia genus: the experience of chemosystemetics. *Chemistry of plant raw material*. 2019;2:161–167. (In Russ.) DOI: 10.14258/jcprm.2019024601.
7. Cvetanović A., Zengin G., Zeković Z., Švarc-Gajić J., Ražić S., Damjanović A., Mašković P., Mitić M. Comparative *in vitro* studies of the biological potential and chemical composition of stems, leaves and berries *Aronia melanocarpa*'s extracts obtained by subcritical water extraction. *Food and Chemical Toxicology*. 2018;121:458–466. DOI: 10.1016/j.fct.2018.09.045.
8. Abdullina R. G., Pupykina K. A., Denisova S. G., Pupykina V. V. Biochemical composition of fruits of some representatives of the genus *Sorbus* L. in collection of the south-ural botanical garden. *Chemistry of plant raw material*. 2021;3:235–243. (In Russ.) DOI: 10.14258/jcprm.2021037601.
9. Blinnikova O. M. The vitamin value of the black chokeberry fruits (*Aronia melanocarpa*). *Vestnik MichGAU*. 2013;2:56–59. (In Russ.)
10. Blinnikova O. M. Nutritional value of chokeberry fruits and prospects for their use in the production of food products for functional nutrition. "Innovative technologies in the agro-industrial complex." In: International scientific and practical conference. 2018. P. 294–298. (In Russ.)
11. Gareeva G. M., Hasanova L. A., Hasanova Z. M. Healing properties of chokeberry (*Aronia melanocarpa*). *Bulletin of the Bashkir State Pedagogical University named after. M. Akmulla*. 2018;2:36–38. (In Russ.)
12. Eliseeva L. G., Blinnikova O. M. Nutritional value of chokeberry fruits grown in the Central Black Sea region of Russia. *Izvestiya vuzov. Pishchevaya tekhnologiya*. 2013;4:111–112. (In Russ.)
13. Eliseeva L. G., Blinnikova O. M. Chokeberry fruits are a source of vitamin and mineral complexes. *Food Industry*. 2013;4:28–29. (In Russ.)
14. Brezhneva T. A., Nedoluzhko E. I., Logvinova E. E., Gudkova A. A., Slivkin A. I. The study of biologically active substances in the leaves of black chokeberry. *Vestnik VGU. Seriya: Himiya. Biologiya. Farmaciya*. 2018;2:306–311. (In Russ.)
15. Nedoluzhko E. I., Brezhneva T. A., Logvinova E. E. et al. Study of biologically active substances of chokeberry leaves. University science: a look into the future. In: Collection of scientific papers based on the materials of the International Scientific Conference dedicated to the 83rd anniversary of Kursk State Medical University. 2018. P. 74–77. (In Russ.)
16. Pugacheva O. V., Sviridova O. L., Brezhneva T. A., Slivkin A. I. Validation of a method for the quantification of tannins in black chokeberry leaves. *Proceedings of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy*. 2022;1:98–104. (In Russ.)
17. Pugacheva O. V., Brezhneva T. A., Slivkin A. I. Determination of tannins in the leaves of chokeberry by various analytical methods. In: Collection of proceedings of the seventh scientific conference "Modern trends in the development of health-saving technologies". 2019. P. 292–298. (In Russ.)
18. Pugacheva O. V., Brezhneva T. A., Slivkin A. I. Determination of tannins in chokeberry leaves to select the timing of raw material procurement. In: "Modern trends in the development of health-saving technologies", collection of materials from the IX International Scientific Conference of Young People scientists. 2021. P. 345–350. (In Russ.)
19. Pugacheva O. V., Brezhneva T. A., Slivkin A. I. Determination of flavonoids in chokeberry leaves by TLC. "Ways and forms of improving pharmaceutical education. In: Current issues in the development and research of new drugs", collection of proceedings of the 8th International Scientific and Methodological Conference. 2022. P. 429–433. (In Russ.)
20. Pugacheva O. V., Trineeva O. V., Panova K. E. Quantitative determination of anthocyanins in leaves of chokeberry Michurin. In: Ways and forms of improving pharmaceutical education. Current issues of development and research new medicines. Collection of proceedings of the 9th International Scientific and Methodological Conference. Voronezh. 2023. P. 356–359. (In Russ.)
21. Pugacheva O. V., Brezhneva T. A., Slivkin A. I. Development and validation of a method for the quantification of flavonoids in aronia Michurina leaves. *Proceedings of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy*. 2023;3:92–99. (In Russ.)
22. Pugacheva O. V., Trineeva O. V., Slivkin A. I. Study of the composition of aronia michurina leaves by gas chromatography-mass spectrometry. *Vestnik VGU. Seriya: Himiya. Biologiya. Farmaciya*. 2024;1:112–122. (In Russ.)
23. Suvorova I. N., Davydov V. V., Prozorovskiy V. N., Shvets V. N. Peculiarity of extract from *Aronia melanocarpa* leaves antioxidant action for the brain. *Biomeditsinskaya Khimiya*. 2005;51(1):66–71. (In Russ.)

24. Ipatova O. M., Prozorovskaya N. N., Prozorovsky V. N., Knyazhev V. A., Baranova V. S., Gruzdyeva A. E. Extract of chokeberry leaves with biological activity, and a method for its preparation. Patent RUS No. 2171111. Appl. 05.05.2000. Publ. 27.07.2001. Available at: <https://patentimages.storage.googleapis.com/74/9a/85/256ef6a82683f1/RU2171111C1.pdf>. Accessed: 07.01.2024. (In Russ.)
25. Efenberger-Szmechtyk M., Nowak A., Czyżowska A., Śniadowska M., Otlewska A., Żyżelewicz D. Antibacterial mechanisms of *Aronia melanocarpa* (Michx.), *Chaenomeles superba* Lindl. and *Cornus mas* L. leaf extracts. *Food Chemistry*. 2021;350:129218. DOI: 10.1016/j.foodchem.2021.129218.
26. Valcheva-Kuzmanova S., Kuzmanov K., Mihova V., Krasnaliyev I., Borisova P., Belcheva A. Antihyperlipidemic effect of *Aronia melanocarpa* fruit juice in rats fed a high-cholesterol diet. *Plant Foods for Human Nutrition*. 2007;62(1):19–24. DOI: 10.1007/s11130-006-0036-2.
27. Martin D. A., Taheri R., Brand M. H., Draghi A., Sylvester F., Bolling B. W. Anti-inflammatory activity of aronia berry extracts in murine splenocytes. *Journal of Functional Foods*. 2014;8(1):68–75. DOI: 10.1016/j.jff.2014.03.004.
28. Ohgami K., Ilieva I., Shiratori K., Koyama Y., Jin X.-H., Yoshida K., Kase S., Kitaichi N., Suzuki Y., Tanaka T., Ohno S. Anti-inflammatory effects of Aronia extract on rat endotoxin-induced uveitis. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2005;46(1):275–281. DOI: 10.1167/iov.04-0715.
29. Zhao Y., Liu X., Zheng Y., Liu W., Ding C. *Aronia melanocarpa* polysaccharide ameliorates inflammation and aging in mice by modulating the AMPK/SIRT1/NF-κB signaling pathway and gut microbiota. *Scientific Reports*. 2021;11(1):20558. DOI: 10.1038/s41598-021-00071-6.
30. Bell D. R., Gochenaur K. Direct vasoactive and vasoprotective properties of anthocyanin-rich extracts. *Journal of Applied Physiology*. 2006;100(4):1164–1170. DOI: 10.1152/jap.00626.2005.
31. Daskalova E., Delchev S., Vladimirova-Kitova L., Kitov S., Denev P. Black Chokeberry (*Aronia melanocarpa*) Functional Beverages Increase HDL-Cholesterol Levels in Aging Rats. *Foods*. 2021;10(7):1641. DOI: 10.3390/foods10071641.
32. Wu X., Gu L., Prior R. L., McKay S. Characterization of Anthocyanins and Proanthocyanidins in Some Cultivars of *Ribes*, *Aronia*, and *Sambucus* and Their Antioxidant Capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2004;52(26):7846–7856. DOI: 10.1021/jf0486850.
33. Appel K., Meiser P., Millán E., Collado J. A., Rose T., Gras C. C., Carle R., Muñoz E. Chokeberry (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliot) concentrate inhibits NF-κB and synergizes with selenium to inhibit the release of pro-inflammatory mediators in macrophages. *Fitoterapia*. 2015;105:73–82. DOI: 10.1016/j.fitote.2015.06.009.
34. Szopa A., Kokotkiewicz A., Kubica P., Banaszczyk P., Wojtanowska-Krośniak A., Krośniak M., Marzec-Wróblewska U., Badura A., Zagrodzki P., Bucinski A., Luczkiewicz M., Ekiert H. Comparative analysis of different groups of phenolic compounds in fruit and leaf extracts of *Aronia* sp.: *A. melanocarpa*, *A. arbutifolia*, and *A. xprunifolia* and their antioxidant activities. *European Food Research and Technology*. 2017;243:1645–1657. DOI: 10.1007/s00217-017-2872-8.
35. Cvetanović A., Zengin G., Zeković Z., Švarc-Gajić J., Ražić S., Damjanović A., Mašković P., Mitić M. Comparative in vitro studies of the biological potential and chemical composition of stems, leaves and berries *Aronia melanocarpa*'s extracts obtained by subcritical water extraction. *Food and Chemical Toxicology*. 2018;121:458–466. DOI: 10.1016/j.fct.2018.09.045.
36. Kim D.-W., Han H.-A., Kim J.-K., Kim D.-H., Kim M.-K. Comparison of Phytochemicals and Antioxidant Activities of Berries Cultivated in Korea: Identification of Phenolic Compounds in *Aronia* by HPLC/Q-TOF MS. *Preventive Nutrition and Food Science*. 2021;26(4):459–468. DOI: 10.3746/pnf.2021.26.4.459.
37. Loo B.-M., Erlund I., Koli R., Puukka P., Hellström J., Wähälä K., Mattila P., Jula A. Consumption of chokeberry (*Aronia mitschurinii*) products modestly lowered blood pressure and reduced low-grade inflammation in patients with mildly elevated blood pressure. *Nutrition Research*. 2016;36(11):1222–1230. DOI: 10.1016/j.nutres.2016.09.005.
38. Ryszawa A., Kawczyńska-Drózd A., Pryjma J., Czesnikiewicz-Guzik M., Adamek-Guzik T., Naruszewicz M., Korbut R., Guzik T. J. Effects of novel plant antioxidants on platelet superoxide production and aggregation in atherosclerosis. *Journal of Physiology and Pharmacology*. 2006;57(4):611–626.
39. Yu W., Gao J., Hao R., Yang J., Wei J. Effects of simulated digestion on black chokeberry (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliot) anthocyanins and intestinal flora. *Journal of Food Science and Technology*. 2021;58(4):1511–1523. DOI: 10.1007/s13197-020-04664-3.
40. Yaneva M. P., Botushanova A. D., Grigorov L. A., Kokov J. L., Todorova E. P., Krachanova M. G. Evaluation of the immunomodulatory activity of *Aronia* in combination with apple pectin in patients with breast cancer undergoing postoperative radiation therapy. *Folia Medica*. 2002;44:22–25.
41. Matsumoto M., Hara H., Chiji H., Kasai T. Gastroprotective effect of red pigments in black chokeberry fruit (*Aronia melanocarpa* Elliot) on acute gastric hemorrhagic lesions in rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2004;52(8):2226–2229. DOI: 10.1021/jf034818q.
42. Kong Y., Yan T., Tong Y., Deng H., Tan C., Wan M., Wang M., Meng X., Wang Y. Gut Microbiota Modulation by Polyphenols from *Aronia melanocarpa* of LPS-Induced Liver Diseases in Rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2021;69(11):3312–3325. DOI: 10.1021/acs.jafc.0c06815.
43. Bolling B. W., Taheri R., Pei R., Kranz S., Yu M., Durocher S. N., Brand M. H. Harvest date affects aronia juice polyphenols, sugars, and antioxidant activity, but not anthocyanin stability. *Food Chemistry*. 2015;187:189–196. DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.04.106.
44. Valcheva-Kuzmanova S., Borisova P., Galunska B., Krasnaliyev I., Belcheva A. Hepatoprotective effect of the natural fruit juice from *Aronia melanocarpa* on carbon tetrachloride-induced acute liver damage in rats. *Experimental and Toxicologic Pathology*. 2004;56(3):195–201. DOI: 10.1016/j.etp.2004.04.012.
45. Pyun C.-W., Seo T.-S., Kim D.-J., Kim T.-W., Bae J.-S. Protective Effects of *Ligularia fischeri* and *Aronia melanocarpa* Extracts on Alcoholic Liver Disease (In Vitro and In Vivo Study). *BioMed Research International*. 2020;2020:9720387. DOI: 10.1155/2020/9720387.
46. Bushmeleva K., Vyshtakalyuk A., Terenzhev D., Belov T., Parfenov A., Sharonova N., Nikitin E., Zobov V. Radical Scavenging Actions and Immunomodulatory Activity of

- Aronia melanocarpa* Propylene Glycol Extracts. *Plants*. 2021;10(11):2458. DOI: 10.3390/plants10112458.
47. Shabunin S. V., Buzlama V. S., Ermakova T. I., Meshcheryakov N. P., Buzlama S. V., Buzlama A. V., Trutaev I. V., Dolgoplov V. N., Maksimova L. N. Screening of biostimulating and biocidal substances (adaptogens, bactericides and other drugs). Moscow – Voronezh: All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy; 2006. 51 p. (In Russ.)
48. Mironova A. N., editor. Guidelines for conducting preclinical studies of drugs. Moscow: Grif i K. 2012. 944 p. (In Russ.)
49. Pugacheva O. V., Brezhneva T. A., Slivkin A. I. Research of element composition of aronia mitchurina (*Aronia mitchurinii* Skvortsov & Maitulina) leaves. *Chemistry of plant raw material*. 2023;4:307–316. (In Russ.) DOI: 10.14258/jcprm.20230411883.
50. Pugacheva O. V., Panova K. E., Brezhneva T. A., Slivkin A. I. Determination of Extractives in the Leaves of Aronia Mitchurinii. *Russian Journal of Biopharmaceuticals*. 2023;14(4):3–6. (In Russ.) DOI: 10.30906/2073-8099-2023-15-4-3-6.
51. Trineeva O. V., Pugacheva O. V. Profile of biologically active substances of Aronia mitschurinii leaves growing in the conditions of the Central Black Earth region. *Drug development & registration*. 2024;13(2):48–58. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2024-13-2-1715.
52. Pugacheva O. V., Trineeva O. V., Panova K. E. Validation of a method for the quantification of antocianins in Aronia Michurina leaves. *Vestnik of the Smolensk State Medical Academy*. 2023;22(4):214–222. (In Russ.) DOI: 10.37903/vsgma.2023.4.29.
53. Kubasova E. D., Krylov I. A., Korelskaya G. V., Kubasov R. V. Plant tannins and some mechanisms of their pharmacological properties. *Bulletin "Biomedicine & Sociology"*. 2022;7(4):5–11. (In Russ.) DOI: 10.26787/nydha-2618-8783-2022-7-4-5-11.
54. Azarova O. V., Galaktionova L. P. Flavonoids: anti-inflammatory mechanism of action. *Khimiya rastitelnogo syrya*. 2012;(4):61–78. (In Russ.)
55. Gerasimov M. A., Koshechkina A. S., Perova I. B., Eller K. I. Modern methods for obtaining purified anthocyanin extracts. *Pharmacy*. 2024;(4):5–13. (In Russ.) DOI: 10.29296/25419218-2024-04-01.
56. Satyvaldeeva Zh. S. Characteristics of the main chemical composition and biological activity of some sterols of higher plants. Student scientific forum. In: Proceedings of the XIII International student scientific conference. Available at: <https://scienceforum.ru/2021/article/2018027306>. Accessed: 20.08.2024. (In Russ.)
57. Pugacheva O. V., Panova K. E., Brezhneva T. A., Slivkin A. I. Selection of the Optimal Dosage Form of Aronia Michurinii Leaves. *Russian Journal of Biopharmaceuticals*. 2023;15(5):3–5. (In Russ.) DOI: 10.30906/2073-8099-2023-15-5-3-5.