

УДК 615.322:577.1274+543.51

3.4.2 Фармацевтическая химия, фармакогнозия

DOI: 10.37903/vsgma.2025.1.30 EDN: YGVZQQ

**РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ КАРОТИНОИДОВ И ХЛОРОФИЛЛОВ В ЛИСТЬЯХ АРОНИИ МИЧУРИНА**

© Пугачева О.В., Тринеева О.В.

*Воронежский государственный университет, Россия, 394018, Воронеж, Университетская пл., 1**Резюме*

**Цель.** разработка и валидация методики определения пигментов (каротиноидов и хлорофиллов) в листьях аронии Мичурина.

**Методика.** Объектом исследования служили высушенные аронии Мичурина листья сорта «Мулатка», заготовленные от культивируемого растения в Тамбовской области в 2023 году; сушка воздушно-тенивая (влажность не более 10%). Сырье собирали на четырех стадиях развития растения: фаза цветения, фаза начала плодоношения, фаза зрелости плодов, фаза начала покраснения листьев. Разработку и валидацию методики определения пигментов (каротиноидов и хлорофиллов) в листьях аронии Мичурина осуществляли методом прямой спектрофотометрии в видимой области спектра на спектрофотометре СФ-2000.

**Результаты.** При подборе оптимальной степени измельчения использовали сырьё 5-ти фракций, причём с уменьшением размера частиц выход каротиноидов и хлорофиллов возрастал. При выборе экстрагента сравнивали выход веществ при экстракции спиртом этиловым в концентрациях 70 и 96%об., а также гексаном, но наилучший выход наблюдался при использовании этанола 70%об., так как, согласно литературным данным, каротиноиды и хлорофиллы лучше экстрагируются водно-спиртовыми смесями. При подборе времени наблюдалось возрастание выхода веществ в извлечение с увеличением продолжительности экстракции с максимумом при 45 минутах. При увеличении кратности экстракции до 2-х выход каротиноидов и хлорофиллов увеличивался, снижаясь при использовании 3-х кратной экстракции. Валидация методики проведена по таким критериям, как прецизионность на уровне сходимости, предел обнаружения, предел количественного определения, линейность, аналитическая область методики, специфичность.

**Заключение.** Оптимальной степенью измельчения, при которой наблюдается максимальный выход каротиноидов и хлорофиллов из сырья, является 0,5-1,0 мм, экстракцию рекомендовано проводить спиртом этиловым 70%об. при соотношении сырьё:экстрагент 1 : 200 в течение 45 минут двукратно. Разработанная методика валидна и пригодна для спектрофотометрического определения каротиноидов и хлорофиллов в листьях аронии Мичурина.

**Ключевые слова:** арония Мичурина, рябина черноплодная, хлорофиллы, каротиноиды, спектрофотометрия, валидация

**DEVELOPMENT AND VALIDATION OF METHODS FOR QUANTITATIVE DETERMINATION OF CAROTENOIDS AND CHLOROPHYLLS IN ARONIA MICHURINA LEAVES**

Pugacheva O.V., Trineeva O.V.

*Voronezh State University, 1, Universitetskaya pl., 394018, Voronezh, Russia**Abstract*

**Objective.** Development and validation of a method for the determination of pigments (carotenoids and chlorophylls) in leaves of aronia Michurinina.

**Methods.** The object of the study was dried Michurin's chokeberry leaves of the variety 'Mulatka', harvested from a cultivated plant in the Tambov region in 2023; air-shade drying (moisture content not more than 10%). Raw materials were collected at four stages of plant development: flowering phase, phase of the beginning of fruiting, phase of fruit maturity, phase of the beginning of leaf reddening. Development and validation of the methodology for determination of pigments (carotenoids and

chlorophylls) in leaves of aronia Michurinia was carried out by direct spectrophotometry in the visible spectrum on a spectrophotometer SF-2000.

**Results.** When selecting the optimal degree of grinding, the raw materials of 5 fractions were used, and the yield of carotenoids and chlorophylls increased with decreasing particle size. When selecting the extractant, the yield of substances was compared during extraction with ethanol at concentrations of 70 and 96% vol. as well as with hexane, but the best yield was observed when using ethanol 70% vol. as, according to literature data, carotenoids and chlorophylls are better extracted by water-alcohol mixtures. At selection of time, an increase in the yield of substances in extraction was observed with increasing duration of extraction with a maximum at 45 minutes. The yield of carotenoids and chlorophylls increased when the extraction multiplicity was increased to 2, decreasing when 3-fold extraction was used. The validation of the method was carried out according to such criteria as precision at convergence level, limit of detection, limit of quantification, linearity, analytical range of the method, and specificity.

**Conclusions.** The optimum degree of grinding, at which the maximum yield of carotenoids and chlorophylls from raw materials is observed, is 0.5-1.0 mm, extraction is recommended to be carried out with ethyl alcohol 70% vol. at the ratio of raw materials:extractant 1 : 200 for 45 minutes twice. The developed method is valid and suitable for spectrophotometric determination of carotenoids and chlorophylls in leaves of aronia Michurinia.

**Keywords:** Aronia mitschurinii, black chokeberry, carotenoids, chlorophylls, spectrophotometry, validation

## Введение

Биологически активные вещества (БАВ) фенольной природы – флавоноиды, дубильные вещества и лейкоантоцианы, как известно, являются основными целевыми группами, определяющими фармакологические свойства листьев аронии Мичурина [1, 5-9, 12-13, 17]. Изучению химического состава данного нефармакопейного вида растительного сырья известного фармакопейного растения посвящено в последнее время достаточно много научных работ [4, 11]. Данный интерес обусловлен развитием ресурсосберегающих подходов и технологий к использованию ограниченных природных ресурсов. Листья у растения являются побочным продуктом при заготовке плодов в промышленных масштабах. Кроме полифенольной фракции листьев, участвуя в процессе фотосинтеза, как известно, в составе липофильной фракции БАВ содержатся пигменты (каротиноиды и хлорофиллы), однако в литературе эти данные практически не представлены. При этом, следует учитывать, что активно изучаемые на предмет выявления различных видов фармакологической активности спирто-водные извлечения из листьев характеризуются многокомпонентным составом БАВ (в т.ч. присутствуют каротиноиды и хлорофиллы), а следовательно, и комплексным характером действия. Поэтому всестороннее изучение химического состава БАВ листьев аронии Мичурина является актуальной задачей.

Целью исследования являлась разработка и валидация методики определения пигментов (каротиноидов и хлорофиллов) в листьях аронии Мичурина.

## Методика

Объектом исследования служили высушенные аронии Мичурина листья сорта «Мулатка», заготовленные от культивируемого растения в Тамбовской области в 2023 году. Сушку проводили воздушно-теневым методом до остаточной влажности, не превышающей 10%. Определение содержания пигментов в листьях проводили на разных стадиях развития растения: образец 1 – на стадии цветения, май; образец 2 – на стадии начала плодоношения, июнь; образец 3 – на стадии зрелости плодов, август; образец 4 – на стадии начала покраснения листьев, сентябрь. Разработку методики определения пигментов (каротиноидов и хлорофиллов) в листьях аронии Мичурина осуществляли методом прямой спектрофотометрии в видимой области спектра на спектрофотометре СФ-2000 (ОКБ «Спектр», Россия).

Валидацию разработанной методики проводили в соответствии с ОФС.1.1.0012 «Валидация аналитических методик» по показателям специфичности, правильности, линейности, сходимости, межлабораторной прецизионности [3]. Статистическая обработка результатов проведена в Microsoft Excel 2016.

## Результаты исследования и их обсуждение

При изучении спектральных характеристик спирто-водных извлечений из листьев в диапазоне волн 400-800 нм (рис. 1) наблюдали основные максимумы поглощения в диапазоне волн  $414\pm 3$  нм,  $439\pm 2$  нм и  $467\pm 2$  нм, характерные, согласно литературным данным [14], для неоксантина, а также при  $667\pm 2$  нм, свойственный хлорофиллам.

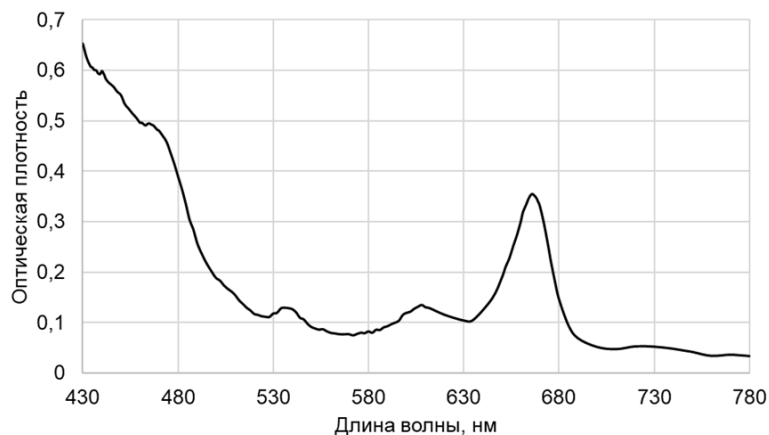


Рис. 1. Спектр поглощения спиртового извлечения листьев аронии Мичурина

На этапе выбора экстрагента проведен анализ содержания каротиноидов и хлорофиллов при извлечении спиртом этиловым 70% и 96%, а также гексаном, согласно рекомендациям литературы [1, 10, 15-16]. Максимальный выход каротиноидов и хлорофиллов наблюдался при экстрагировании спиртом этиловым 70% (табл. 1) при использовании сырья со степенью измельчения от 0,5 до 1 мм (табл. 2).

Таблица 1. Влияние экстрагента на выход каротиноидов и хлорофиллов из листьев аронии Мичурина

Экстрагент	Длина волны максимума, нм	Выход каротиноидов, %	Выход хлорофиллов, %
Спирт этиловый 70%	439 $\pm$ 2	0,056 $\pm$ 0,005	0,073 $\pm$ 0,003
	667 $\pm$ 3		
Спирт этиловый 96%	439 $\pm$ 2	0,026 $\pm$ 0,005	0,046 $\pm$ 0,004
	667 $\pm$ 3		
Гексан	439 $\pm$ 2	0,014 $\pm$ 0,007	0,019 $\pm$ 0,010
	670 $\pm$ 3		

При увеличении количества частей экстрагента на 1 часть сырья при получении извлечения выход каротиноидов и хлорофиллов из листьев аронии Мичурина увеличивался. Оптимальным выбрано соотношение сырье-экстрагент 1:200, так как в сравнении с соотношением 1:150 выход пигментов в извлечение увеличивался незначительно, выходя на плато. Дальнейшее увеличение степени разведения экономически нецелесообразно, так как потребовало значительного расхода экстрагента (табл. 3).

Таблица 2. Влияние степени измельчения на выход каротиноидов и хлорофиллов из листьев аронии Мичурина

Степень измельчения, мм	Выход каротиноидов, %	Выход хлорофиллов, %
2,0-3,0	0,046 $\pm$ 0,005	0,060 $\pm$ 0,011
1,0-2,0	0,056 $\pm$ 0,005	0,073 $\pm$ 0,003
0,5-1,0	0,062 $\pm$ 0,003	0,087 $\pm$ 0,004
0,2-0,5	0,056 $\pm$ 0,014	0,069 $\pm$ 0,022

Таблица 3. Влияние соотношения сырье-экстрагент на выход каротиноидов и хлорофиллов из листьев аронии Мичурина

Соотношение сырье-экстрагент	Выход каротиноидов, %	Выход хлорофиллов, %
1:25	0,051±0,003	0,097±0,013
1:50	0,062±0,003	0,087±0,004
1:100	0,065±0,009	0,096±0,021
1:150	0,074±0,003	0,111±0,004
1:200	0,078±0,001	0,115±0,004

Оптимальным временем получения извлечения выбраны 45 минут. При увеличении времени экстракции до 60 мин выход исследуемых БАВ снижался. Дальнейшее увеличение времени экстракции приводило к постепенному снижению выхода каротиноидов, а выход хлорофиллов выходил на плато (рис. 2).

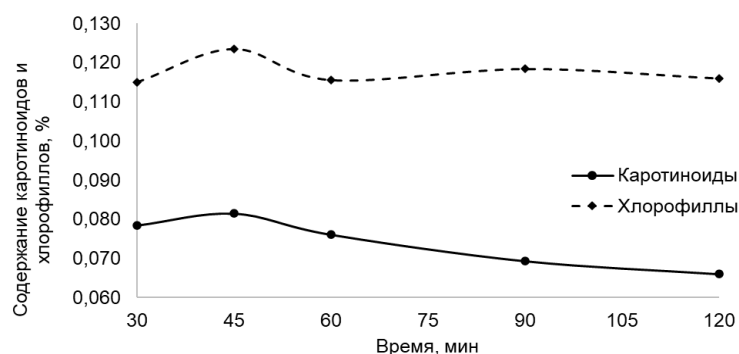


Рис. 2. График зависимости содержания каротиноидов и хлорофиллов в зависимости от времени извлечения

Выход каротиноидов и хлорофиллов максимален при использовании кратности экстракции равной 2 (табл. 4). На основании результатов исследования разработана методика количественного определения каротиноидов и хлорофиллов в листьях аронии Мичурина. Около 1,0 г (точная навеска) высушенных измельченных листьев аронии Мичурина, измельченных до размеров частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 1 мм, помещают в коническую колбу, вместимостью 250 мл, заливают 100 мл спирта этилового 70%, взвешивают и нагревают на кипящей водяной бане с обратным холодильником 45 минут. По истечении времени колбу с извлечением быстро охлаждают, доводят по массе до первоначального значения и фильтруют через 10 слоев марли в колбу на 200 мл. Экстракцию повторяют второй порцией растворителя. Фильтраты объединяют в колбе на 200 мл и доводят объем до метки (раствор А). 15 мл раствора А помещают в колбу на 25 мл, доводят объем до метки 70% этиловым спиртом (раствор Б). Измеряют оптическую плотность раствора Б на спектрофотометре при  $439 \pm 2$  нм для каротиноидов и  $667 \pm 3$  нм для хлорофиллов. Раствор сравнения – спирт этиловый 70%.

Таблица 4. Влияние кратности экстракции на выход каротиноидов и хлорофиллов из листьев аронии Мичурина

Кратность	Выход каротиноидов, %	Выход хлорофиллов, %
1	0,075±0,012	0,115±0,016
2	0,095±0,005	0,146±0,016
3	0,073±0,004	0,115±0,010

Расчет содержания каротиноидов (в пересчете на неоксантин) и хлорофиллов (в пересчете на хлорофилл а) в % в абсолютно сухом сырье проводили по формулам:

$$X (\text{каротиноидов}) = \frac{A \cdot V_{\text{к1}} \cdot V_{\text{к2}} \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot E_{1\text{ см}}^{1\%} \cdot 100 \cdot V_a \cdot (100 - w)} = \frac{A \cdot 200 \cdot 25 \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot 2243 \cdot 100 \cdot 15 \cdot (100 - w)}$$

$$X \text{ (хлорофиллов)} = \frac{A \cdot V_{k1} \cdot V_{k2} \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot E_{1\text{см}}^{1\%} \cdot 100 \cdot V_a \cdot (100 - w)} = \frac{A \cdot 200 \cdot 25 \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot 944,5 \cdot 100 \cdot 15 \cdot (100 - w)}$$

, где  $A$  – оптическая плотность раствора Б при  $439 \pm 2$  нм для каротиноидов и при  $667 \pm 3$  нм для хлорофиллов;  $V_{k1}$  и  $V_{k2}$  – объемы мерных колб, использованных для разведения, мл;  $m$  – масса сырья, г;  $E_{1\text{см}}^{1\%}$  – удельный показатель поглощения (2243 для каротиноидов в пересчете на неоксантин и 944,5 для хлорофиллов в пересчете на хлорофилл а);  $V_a$  – объем аликвоты, взятой на анализ, мл;  $w$  – потеря в массе при высушивании, %.

Проведена метрологическая оценка разработанной методики. Относительная ошибка определения составила 3,03% для каротиноидов и 1,81% для хлорофиллов, что свидетельствует о нахождении в пределах средней ошибки 5% (табл. 5).

Таблица 5. Метрологическая характеристика методики количественного определения каротиноидов (1) и хлорофиллов (2) в листьях аронии Мичурина ( $P=95\%$ ,  $n=6$ )

БАВ	$x_{\text{ср}}$	$S^2$	$S$	$Sx_{\text{ср}}$	$Sx_{\text{ср}}, \%$	$\Delta x$	$\Delta x_{\text{ср}}$	$\varepsilon, \%$
1	0,075	0,00000474	0,00217	0,00089	2,89	0,0056	0,0023	3,032
2	0,119	0,00000426	0,00206	0,00084	1,73	0,0053	0,0021	1,813

Специфичность методики оценивали по совпадению положений максимумов на спектрах индивидуальных извлечений каротиноидов и хлорофиллов согласно литературным данным и исследуемого извлечения [13]. Линейность методики определяли на 9 уровнях концентрации. Методика линейна, так как  $R^2$  больше 0,99. Предел обнаружения 0,125 г/мл для каротиноидов и 0,072 г/мл для хлорофиллов (рис. 3).

Прецизионность на этапе сходимости методики оценивали путем проведения шести измерений в одной лаборатории, одним исследователем, по одной методике на одном и том же оборудовании в течение короткого промежутка времени (табл. 6).

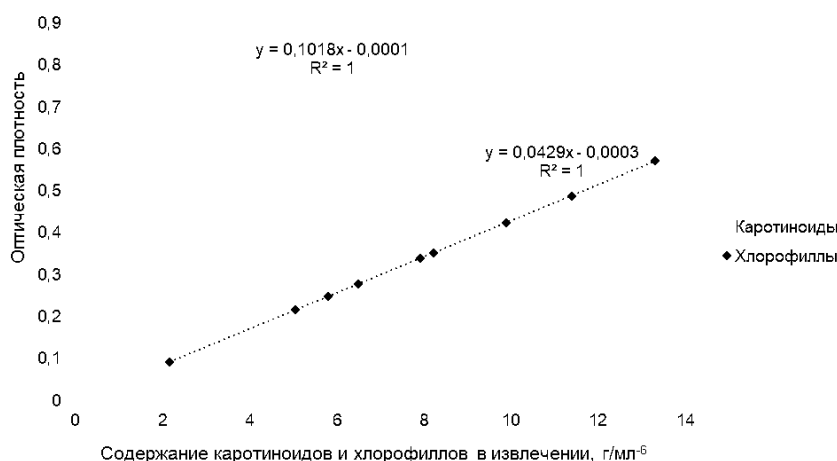


Рис. 3. График линейной зависимости оптической плотности от содержания каротиноидов и хлорофиллов в извлечении из листьев аронии Мичурина

С использованием разработанной и валидированной методики проводили оценку содержания каротиноидов и хлорофиллов в сырье разных фаз заготовки. Наибольшее содержание характерно для сырья, заготовленного на стадии начала плодоношения. К стадии начала покраснения листьев их содержание значительно снижается, что обусловлено разрушением хлоропластов и снижением процессов фотосинтеза (табл. 7).

Таблица 6. Валидационные характеристики методики определения суммы каротиноидов и хлорофиллов в аронии Мичурина листьях

Характеристика	Статистическая характеристика	Результат	
Сходимость	Проба	Содержание суммы каротиноидов, %	Содержание суммы хлорофиллов, %
	1	0,075	0,119
	2	0,075	0,120
	3	0,073	0,119
	4	0,077	0,122
	5	0,073	0,116
	6	0,078	0,120
	Доверительный интервал (P=95%), %	0,075±0,0023	0,119±0,0022
	Относительное стандартное отклонение (RSD), %	2,89	1,73
	Стандартное отклонение (SD), %	0,217	0,206
Линейность	Уравнение прямой	$y=0,1018x-0,0001$	$y=0,0429x-0,0003$
	Угловой коэффициент (a)	0,1018	0,0429
	Свободный член b	-0,0001	-0,0003
	Коэффициент корреляции	1	1
	Область линейности (по содержанию каротиноидов и хлорофиллов в извлечении), г/мл	$1,25-8,03 \cdot 10^{-6}$	$2,17-13,30 \cdot 10^{-6}$
Предел обнаружения, г/мл		0,125	0,072

Таблица 7. Содержание каротиноидов и хлорофиллов в листьях аронии Мичурина на различных этапах заготовки

Фаза заготовки	Выход каротиноидов, %	Выход хлорофиллов, %
Начало цветения (май)	0,072±0,002	0,131±0,003
Начало плодоношения (июнь)	0,093±0,002	0,162±0,005
Массовая зрелость плодов (август)	0,075±0,002	0,119±0,002
Начало покраснения листьев (сентябрь)	0,063±0,002	0,098±0,003

## Заключение

Разработана и валидирована методика количественного определения суммы каротиноидов (в пересчёте на неоксантин) и хлорофиллов методом спектрофотометрии в листьях аронии Мичурина. Разработанная методика валидна и пригодна для спектрофотометрического определения каротиноидов и хлорофиллов в листьях аронии Мичурина. Наибольшее содержание определяемых соединений наблюдается в листьях на стадии начала плодоношения (период заготовки – июнь). Однако, даже на рекомендуемом сроке заготовки листьев – в период массовой зрелости плодов (август) и начала покраснения листьев (сентябрь) изучаемое сырьё следует считать также перспективным источником каротиноидов (до 75 мг%), которые в сумме с полифенольным комплексом БАВ, также вносят свой вклад в антиоксидантное действие комплексных экстракционных препаратов.

## Литература (references)

1. Бабина Д.Д., Подобед М.Ю., Празян А.А. и др. Определение количественного содержания хлорофиллов в листьях растений *Arabidopsis thaliana* дикого типа и линии HPCA1 // Современные проблемы радиобиологии, радиоэкологии и агроэкологии. Сборник докладов IV Международной научно-практической конференции. – Обнинск, 2021. – С. 13-16. [Babina D.D., Podobed M.Yu., Prazyan A.A. i dr. *Sovremennye problemy radiobiologii, radioekologii i agroekologii. Sbornik докладов IV Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii*. Modern problems of radiobiology, radioecology and agroecology. Proceedings of the IV International Scientific and Practical Conference. – Obninsk, 2021. – P. 13-16. (in Russian)]

2. Брежнева Т.А., Недолужко Е.И., Логвинова Е.Е. и др. Изучение биологически активных веществ листьев рябины черноплодной // Вестник ВГУ. Серия Химия. Биология. Фармация. – 2018. – №2. – С. 306-311. [Brezhneva T.A., Nedoluzhko E.I., Logvinova E.E. i dr. *Vestnik VGU. Seriya Khimiya. Biologiya. Farmatsiya*. Bulletin of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy. – 2018. – N2. – P. 306-311. (in Russian)]
3. Государственная Фармакопея Российской Федерации XV издания. – URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/> [Gosudarstvennaya Farmakopeya Rossiiskoi Federatsii XIV izdaniya. State Pharmacopoeia of the Russian Federation XV edition. – URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/> (in Russian)]
4. 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. – С. 92-99. [Pugacheva O.V., Brezhneva T.A., Slivkin A.I. *Vestnik VGU. Seriya Khimiya. Biologiya. Farmatsiya*. Bulletin of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy. – 2023. – N3. – P. 92-99. (in Russian)]
5. Пугачева О.В., Брежнева Т.А., Сливкин А.И. Исследование элементного состава листьев аронии Мичурина (*Aronia Mitchurinii* Skvortsov & Maitulina) // Химия растительного сырья. – 2023. – №6. – С. 307-316. [Pugacheva O.V., Brezhneva T.A., Slivkin A.I. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*. Chemistry of plant raw materials. – 2023. – N6. – P. 307-316. (in Russian)]
6. Пугачева О.В., Свиридова О.Л., Брежнева Т.А., Сливкин А.И. Валидация методики количественного определения дубильных веществ в листьях рябины черноплодной // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2022. – №1. – С. 98-104. [Pugacheva O.V., Sviridova O.L., Brezhneva T.A., Slivkin A.I. *Vestnik VGU. Seriya Khimiya. Biologiya. Farmatsiya*. Bulletin of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy. – 2022. – N1. – P. 98-104. (in Russian)]
7. Пугачева О.В., Тринеева О.В., Панова К.Е. Валидация методики количественного определения антоцианов в листьях аронии Мичурина // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2023. – Т.22. – №4. – С. 214-222. [Pugacheva O.V., Trineeva O.V., Panova K.E. *Vestnik Smolenskoï gosudarstvennoï meditsinskoi akademii* Bulletin of Smolensk State Medical Academy. – 2023. – T.22. – N4. – P. 214-222. (in Russian)]
8. Пугачева О.В., Тринеева О.В., Сливкин А.И. Исследование состава листьев аронии Мичурина методом газовой хромато-масс-спектрометрии // Вестник Воронежского государственного университета: серия Химия. Биология. Фармация. – 2024. – №1. – С. 114-124. [Pugacheva O.V., Trineeva O.V., Slivkin A.I. *Vestnik VGU. Seriya Khimiya. Biologiya. Farmatsiya*. Bulletin of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy. – 2024. – №1. – P. 114-124. (in Russian)]
9. Самойлова В.А., Ковальов В.М. Амінокислоти листя *Aronia melanocarpa* // Фармакогнозія та хімія природних сполук. – №3. - 2013. – 92-94 с. [Samojlova V.A., Koval'ov V.M. *Farmakognoziya ta himiya pryrodnyh spoluk*. Pharmacognosy and chemistry of natural compounds. – №3. - 2013. – P. 92-94. (in Ukraine)]
10. Тринеева О.В., Воропаева С.С., Сливкин А.И. Определение каротиноидов и хлорофиллов в листьях крапивы двудомной. // Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Актуальные вопросы разработки и исследования новых лекарственных средств: Сборник трудов 5-ой Международной научно-методической конференции «Фармобразование-2013». – Воронеж, 2013. – С. 549-552. [Trineeva O.V., Voropaeva S.S., Slivkin A.I. *Puti i formy sovershenstvovaniya farmatsevticheskogo obrazovaniya. Aktual'nye voprosy razrabotki i issledovaniya novykh lekarstvennykh sredstv: Sbornik trudov 5-oi Mezhdunarodnoi nauchno-metodicheskoi konferentsii «Farmobrazovanie-2013»*. Ways and forms of improving pharmaceutical education. Actual issues of development and research of new drugs: Proceedings of the 5 International Scientific and Methodological Conference "Pharmobrazovanie-2013". – Voronezh, 2013. – P. 549-552. (in Russian)]
11. Тринеева О.В., Пугачева О.В. Профиль биологически активных веществ листьев аронии Мичурина, произрастающей в условиях Центрального Черноземья // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2024. – Т.13, №2. – С. 33-43. [Trineeva O.V., Pugacheva O.V. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv*. Drug development and registration. – 2024. – T.13, N2. – P. 33-43 (in Russian)]
12. Cvetanović A., Zengin G., Zeković Z. et al. 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. – N121. – P. 458-466.
13. Pirvu L., Panteli M., Rasit I. et al. The leaves of *Aronia melanocarpa* L. and *Hippophae rhamnoides* L. as source of active ingredients for biopharmaceutical engineering // Agriculture and agricultural science procedia. – 2015. – N6. – P. 593-600.
14. Rodriguez-Amaya D.B. A guide to carotenoid analysis in foods. – Washington, 2001. – 71 p.

15. Staruhina A.O., Popova A.S., Zaitsev V.G. The quantification of chlorophylls and carotenoids in the same sample of an individual condition assessment of agricultural plant's seedlings // Научно-агрономический журнал. – 2021. – N2(113). – С. 18-22.
16. Szopa A., Kokotkiewicz A., Kubica P. et al. Comparative analysis of different groups of phenolic compounds in fruit and leaf extracts of Aronia sp.: A. melanocarpa, A. arbutifolia, and A. ×prunifolia and their antioxidant activities // European Food Research and Technology. – 2017. – V.243. – P. 1645-1657.
17. Thi N.D., Hwang E.-S. Bioactive compound contents and antioxidant activity an Aronia (Aronia melanocarpa) leaves collected at different growth stages // Preventive Nutrition and Food Science. – 2014. – N19.– P. 204-212.

### Информация об авторах

*Пугачева Ольга Валериевна* – преподаватель кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет» Минобрнауки России. E-mail: pugachevaov1@yandex.ru

*Тринеева Ольга Валерьевна* – доктор фармацевтических наук, доцент, профессор кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет» Минобрнауки России. E-mail: trineevaov@mail.ru

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

Поступила 12.01.2025

Принята к печати 20.03.2025