

## Возможности метода биохемилюминисценции с модельной средой из сыворотки крови в оценке антиоксидантной активности растительного сырья

© 2024. В. А. Козвонин<sup>1,2</sup>, к. м. н., с. н. с., доцент,  
Е. В. Товстик<sup>1</sup>, к. б. н., с. н. с., доцент, А. А. Маслова<sup>2</sup>, ассистент,  
Е. Б. Дунаева<sup>2</sup>, к. б. н., начальник научно-инновационного отдела,

<sup>1</sup>Вятский государственный университет,  
610000, Россия, г. Киров, ул. Московская, д. 36,

<sup>2</sup>Кировский государственный медицинский университет,  
610998, Россия, г. Киров, ул. К. Маркса, д. 112,  
e-mail: va\_kozvonin@vyatsu.ru

Антиоксидантная активность (АОА) – важный показатель оценки растительного сырья (РС), широко применяемого в медицине для получения различных лекарственных препаратов. Использование РС на современном этапе развития фармпромышленности позволяет избежать масштабного производства синтетических лекарственных средств, сопровождающегося негативным воздействием на окружающую среду. Для объективной оценки АОА необходимо применять методы, позволяющие определить не только содержание действующего вещества, но и в целом характеризующие функциональную активность РС. В статье приведены данные по АОА водных вытяжек из листьев и плодов облепихи крушиновидной (*Hippophae rhamnoides* L.) и аронии черноплодной (*Aronia melanocarpa* L.). Определение АОА выполнено методом биохемилюминисценции (БХЛ) с использованием в качестве модельной среды (МС) сыворотки крови белых беспородных крыс. Критерием оценки служили максимальная интенсивность ( $I_{\max}$ ) и светосумма свечения (S). Полученные результаты сопоставлены с данными анализа БХЛ без МС, а также с данными альтернативных методов количественного определения антиоксидантного потенциала РС (кулонометрическое титрование, прямое титрование, спектрофотометрия). По критериям оценки интенсивности свободнорадикального окисления ( $I_{\max}$ ) методом БХЛ без МС было установлено, что водные вытяжки из листьев и плодов аронии черноплодной, а также листьев облепихи имеют высокий антиоксидантный потенциал (343, 274 и 268 мВ соответственно), а из плодов облепихи – более низкий. Результаты БХЛ показали, что количество радикалов в сыворотке крови при контакте с вытяжками из РС снижалось. Среди исследуемых образцов наибольшей АОА характеризовались вытяжки из плодов аронии черноплодной ( $S=2006\pm 137$  мВ·с). При этом, согласно данным альтернативных методов, они занимают промежуточное положение по количественному содержанию биологически активных веществ (БАВ) с антиоксидантными свойствами. На основании слабой корреляции между данными метода БХЛ и альтернативных методов определения АОА сделано заключение о необходимости учитывать возможность непрямого зависимости между содержанием БАВ в РС и проявляемым эффектом в максимально близких к биологическим системам условиям. Измерение АОА методом БХЛ фактически является оценкой функции, а также эффективности работы БАВ и дополняет количественные методы оценки антиоксидантной активности РС.

**Ключевые слова:** биохемилюминисценция, сыворотка крови, арония черноплодная, облепиха крушиновидная, кулонометрическое титрование, прямое титрование, спектрофотометрия.

## Possibilities of the biochemiluminescence method with a model environment from blood serum in assessing the antioxidant activity of plant materials

© 2024. V. A. Kozvonin<sup>1,2</sup> ORCID: 0000-0002-2447-6949<sup>1</sup>  
E. V. Tovstik<sup>1</sup> ORCID: 0000-0003-1861-6076<sup>1</sup>  
A. A. Maslova<sup>2</sup> ORCID: 0009-0008-3030-2444<sup>2</sup>  
E. B. Dunaeva<sup>2</sup> ORCID: 0000-0002-4460-0302<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Vyatka State University,  
36, Moskovskaya St., Kirov, Russia, 610000,

<sup>2</sup>Kirov State Medical University,  
112, K. Marksa St., Kirov, Russia, 610998,  
e-mail: va\_kozvonin@vyatsu.ru

Antioxidant activity (AOA) is an important indicator of the evaluation of plant raw materials (RM), which are widely used in medicine to obtain various medicines. The use of RM at the present stage of the pharmaceutical industry development allows avoiding large-scale production of synthetic medicines, accompanied by a negative impact on the environment. For an objective assessment of AOA, it is necessary to apply methods that allow determining not only the content of the active substance, but also generally characterizing the functional activity of RM. The article presents data on the AOA of aqueous extracts from the leaves and fruits of *Hippophae rhamnoides* L., *Aronia melanocarpa* L. The determination of antioxidant activity was performed by biochemiluminiscence (BCHL) using serum from white mongrel rats as a model environment (ME). The evaluation criteria were the maximum intensity ( $I_{max}$ ) and the light sum of the glow (S). The results obtained were compared with the data of the analysis of BCHL without ME, as well as with the data of alternative methods for quantifying the antioxidant potential of RM (coulometric titration, direct titration, spectrophotometry). According to the criteria for assessing the intensity of free radical oxidation ( $I_{max}$ ) using the BCHL method without ME, it was found that aqueous extracts from the leaves and fruits of *A. melanocarpa*, as well as *H. rhamnoides* leaves, have a high antioxidant potential (343, 274 and 268 mV, respectively), and from *H. rhamnoides* fruits – more short. BCHL results showed that the amount of radicals in blood serum decreased upon contact with extracts from vegetable raw materials. Among the studied samples, extracts from the fruits of *A. melanocarpa* were characterized by the highest AOA ( $S=2006\pm 137$  mV·s). At the same time, according to alternative methods, they occupy an intermediate position in terms of the quantitative content of biologically active substances (BAS) with antioxidant properties. Based on the weak correlation between the data of the BCHL method and alternative methods for determining AOA, it is concluded that it is necessary to take into account the possibility of an indirect relationship between the content of BAS in RM and the effect manifested in conditions as close as possible to biological systems. The measurement of AOA by the BCHL method is actually an assessment of the function, as well as the effectiveness of BAS, and complements quantitative methods for assessing the antioxidant activity of ME.

**Keywords:** biochemiluminiscence, blood serum, *Aronia melanocarpa*, *Hippophae rhamnoides*, coulometric titration, direct titration, spectrophotometry.

Расширение спектра методов исследования биологически активных веществ (БАВ) с антиоксидантным действием направлено на выявление ценности различных видов растений в качестве сырья для фармацевтической промышленности [1]. Низкая токсичность, мягкое терапевтическое действие, отсутствие выраженных побочных эффектов и осложнений обуславливают растущую тенденцию к использованию БАВ природного происхождения в производстве лекарственных препаратов [2, 3]. С экологической точки зрения использование растительного сырья (РС) для производства лекарственных средств позволяет избежать масштабного производства синтетических фармсредств, сопровождающегося негативным воздействием на окружающую среду [4]. Значимым преимуществом фитопрепаратов является также способность к биодegradации до нетоксичных для организма и окружающей среды веществ [5].

Количественная оценка антиоксидантной активности (АОА) имеет ряд ограничений – отсутствие возможности прямого учёта связывания активных форм кислорода (АФК), образующихся в клетке; а также непосредственного химического анализа отдельных представителей АФК, например, свободных радикалов, в силу их высокой реакционной способности [6].

Доступные методы количественной оценки АОА по механизму действия, с помощью которого применяемые соединения приводят к реакции обрыва цепи, подразделяются на

две группы: перенос атома водорода и одного электрона [7]. В зависимости от способа регистрации методы разделяются на волюмометрические, фотометрические, хемилюминесцентные, флуоресцентные, электрохимические и др. [8].

Метод хемилюминесценции (ХЛ) основан на индуцировании каталитического разложения пероксида водорода ионами металлов с переменной валентностью:



Высвобождающийся при этом гидроксильный радикал ( $HO\cdot$ ) активизирует процессы свободнорадикального окисления (СРО), которые сопровождаются химической модификацией и разрушением биомолекул [9, 10]. Реакция переноса электрона с  $Fe^{2+}$  на  $H_2O_2$  с образованием  $Fe^{3+}$  идёт с одновременным выделением кванта света, определяемого как хемилюминесценция. Её интенсивность зависит от многих факторов и, как правило, затухает в течение 30–60 с при условии наличия антиоксидантов (АО) в исследуемой пробе. В случае работы с биологическими объектами и системами применяется термин биохемилюминесценция (БХЛ).

В настоящее время метод БХЛ редко применяется в лабораторной практике для оценки АОА [11–13]. Однако, данный метод имеет ряд преимуществ, таких как возможность применения модельных сред (МС), в частности плазмы млекопитающих, как наиболее при-

ближённой к реальным условиям функционирования антиоксидантного комплекса [10, 14] и фактически функциональной оценке работы БАВ.

Согласно ФС.2.5.0121 Государственной фармакопеи Российской Федерации XV издания (ГФ РФ XV) плоды облепихи крушиновидной (*Hippophaes rhamnoides* L.) входят в категорию лекарственного РС. Они характеризуются наличием каротиноидов и жирного масла [15]. Благодаря широкому спектру БАВ с антиоксидантным действием листья облепихи также рассматриваются в качестве перспективного лекарственного сырья [16]. Выбор облепихи в качестве объекта исследования был обусловлен её распространённостью в Кировской области, доступностью (наличием в аптечной сети, ценовой – для населения), а также высокой частотой применения данного РС в лекарственных препаратах и БАДах.

В состав аронии черноплодной (*Aronia melanocarpa* L.) входят различные вещества полифенольной природы: дубильные вещества, флавоноиды, в том числе антоцианы в лейко-формах, а также аскорбиновая кислота и сапонины [17]. Данные соединения обладают противовоспалительным, кровоостанавливающим, ранозаживляющим эффектом и могут использоваться как компоненты лекарственных препаратов, в том числе трансдермальных терапевтических систем [18, 19]. Исследование АО потенциала аронии черноплодной методом БХЛ проводилось в рамках научно-исследовательской работы по разработке новых форм фитопрепаратов [18].

В медицине АО широко применяются в клинической практике, как в отдельности, так и в комбинации с другими препаратами. Широта применения делает эту группу БАВ интересной для поиска и изучения новых источников сырья.

Целью работы являлось определение антиоксидантной активности водных вытяжек из облепихи крушиновидной и аронии черноплодной методом биохемилюминисценции для изучения возможности более широкого применения этого метода.

### Объекты и методы исследования

Объектом исследования служило РС – плоды, листья облепихи крушиновидной и аронии черноплодной.

Пробы РС были отобраны в раннеосенний период (сентябрь) в пригородной зоне г. Ки-

рова (Кировская область, Россия). Отбирали зрелые плоды, а также листья с ненарушенной структурой. Доставленные в лабораторию образцы промывали дистиллированной водой, удаляли влагу в сушильном шкафу (ШС-80-01 СПУ, Россия) при температуре 60 °С. После сушки РС измельчали в лабораторной мельнице и пропускали через сито с диаметром отверстий 1 мм.

Экстракцию АО из РС осуществляли по методике, изложенной в ОФС.1.4.1.0018.15 ГФ РФ XV. Для этого порошок РС заливали дистиллированной водой (1:20) и экстрагировали на кипящей водяной бане в течение 30 мин, далее при комнатной температуре 20±2 °С – 15 мин. Полученную суспензию фильтровали через бумажный фильтр «Синяя лента» (Россия). Готовые водные вытяжки подвергали анализу различными методами.

Уровень Fe<sup>2+</sup>-индуцированной ХЛ определяли на биохемилюминиметре (БХЛ-07, Россия) согласно руководству по эксплуатации прибора. Перед началом измерений БХЛ-07 прогревали не менее 20 мин, далее устанавливали в него кювету и регистрировали ХЛ образцов, наблюдая сигнал в камере в течение 30 с. Все исследования выполняли в десятикратной повторности. Критерием оценки служили максимальная интенсивность ( $I_{\max}$ ) и светосумма свечения (S). Поскольку показатель  $I_{\max}$  отражает потенциальную способность биологического объекта к СРО, считали, что у образцов с более высоким значением  $I_{\max}$  свободно-радикальные процессы протекают интенсивнее. Показатель S отражает содержание радикалов RO<sub>2</sub>, соответствующих обрыву цепи СРО (S обратно пропорционален АОА системы). Для анализа использовали базовый реакционный раствор (БРР), состоящий из 0,8 мл фосфатного буфера (20 мМ раствора дигидрофосфата калия, 105 мМ раствора хлорида калия, рН 7,4); 0,8 мл 0,05 мМ раствора сульфата железа(II); 0,4 мл свежеприготовленного 2% раствора пероксида водорода. Исходные фоновые показатели оценивали по дистиллированной воде без добавления МС (сыворотка крови, взятая у белых беспородных аутбредных крыс). Контролем служила МС, разведённая дистиллированной водой в соотношении 1:1, добавляемая в пробирку с БРР. Фоновый уровень АОА водных вытяжек из РС оценивали без добавления МС, а их АОА при смешении с МС в соотношении 1:1 (табл. 1).

Сопоставляли полученные данные с результатами альтернативных методов анализа

Таблица 1 / Table 1

Состав сред для испытаний / Composition of the test product

Название / Name	Объём, мл / Volume, mL			
	БРР BRS	H <sub>2</sub> O	Сыворотка Blood serum	Вытяжка Extract
Фон, вода / Background, water	2,0	0,2	–	–
Контроль с модельной средой Control with a model environment		0,1	0,1	–
Фон, вытяжка / Background, extract		0,1	–	0,1
Опыт / Test		–	0,1	0,1

Примечание: БРР – базовый реакционный раствор; прочерк означает отсутствие компонента в составе среды.  
Note: BRS – base reaction solution; a dash means the absence of a component in the environment.

АОА: кулонометрическим и прямым титрованием и спектрофотометрией. Кулонометрическое титрование осуществляли на кулонометре с бипотенциометрической индикацией точки эквивалентности (Эксперт-006, ООО «Эко-никс-эксперт», Россия). Прибор обеспечивает точное определение заряда, пошедшего на окисление и пересчёт измеренного значения в массовую концентрацию АО в среде. В качестве стандарта использовали аскорбиновую кислоту [20]. Оценку содержания АО с фотометрической регистрацией выполняли на спектрофотометре (ПЭ 5300ВИ, ООО «Экротех», Россия). Метод определения основан на окислительно-восстановительной реакции, в которой восстанавливается фосфорно-молибденовая кислота, входящая в состав реактива Фолина-Чокальтеу. Результаты выражали в эквиваленте галловой кислоты. Исследование АОА методом прямого титрования основывалось на окислении АО в кислой среде перманганатом калия. Стандартом служил кверцетин [21].

Единством альтернативных методов определения АОА служили стандарты (аскорбиновая и галловая кислота, кверцетин), которые благодаря гидроксильным группам являются сильными восстановителями и, окисляясь, производят эквивалентный аналитический сигнал.

Все манипуляции, производимые над лабораторными животными, выполнены с разрешения локального этического комитета и на основании Рекомендаций Коллегии ЕЭК от 14.11.2023 [22].

Статистическую обработку результатов измерений проводили согласно ГОСТ Р 8.736-2011. Данные выражали как среднее значение ± стандартное отклонение. Коэффициент корреляции Пирсона (r) рассчитывали с использованием программы Microsoft Excel. Для создания корреляционной матрицы брали средние значения.

### Результаты и обсуждение

Значения ХЛ ( $I_{max}$  и S) для фона были самыми низкими среди исследуемых проб (табл. 2).

Таблица 2 / Table 2

Показатели оценки биохемилюминисценции  
Biochemiluminescence assessment indicators

Вариант опыта Test	Образец Sample	Условия* Conditions	Среднее значение / Average value	
			$I_{max}$ , мВ / mV	S, мВ·с / mV·s
Фон / Background	Вода / water	1	22±3	106±32
Контроль с модельной средой Control with a model environment	Сыворотка Serum	2	837±124	4485±321
Облепиха крушиновидная <i>Hippophaes rhamnoides</i>	Листья / Leaves	1	268±29	1965±153
		2	376±25	4284±334
	Плоды / Fruit	1	1983±254	12511±830
		2	1224±144	13925±1212
Арония черноплодная <i>Aronia melanocarpa</i>	Листья / Leaves	1	343±50	2049±341
		2	650±64	4202±303
	Плоды / Fruit	1	274±19	1880±86
		2	268±48	2006±137

Примечание: \* 1 – без модельной среды; 2 – с модельной средой.  
Note: \* 1 – without model environment; 2 – with a model environment.

Таблица 3 / Table 3

Содержание АО в водных вытяжках из растительного сырья, мг/мл  
Antioxidants' content in aqueous extracts from plant raw materials, mg/mL

Метод анализа Method of analysis	Облепиха крушиновидная <i>Hippophaes rhamnoides</i>		Арония черноплодная <i>Aronia melanocarpa</i>	
	Листья Leaves	Плоды Fruit	Листья Leaves	Плоды Fruit
Кулонометрическое титрование Coulometric titration	0,0690±0,0033	0,0410±0,0023	0,0243±0,0012	0,0260±0,0013
Прямое титрование Direct titration	1,00±0,05	0,310±0,007	0,306±0,011	0,340±0,006
Спектрофотометрия Spectrophotometry	2,77±0,20	0,7022±0,0016	0,647±0,026	0,854±0,013

Примечание: в таблице приведены средние значения ± стандартные отклонения.  
Note: The table shows means ± standard deviations.

Максимальная интенсивность ( $I_{max}$ ) и светосумма свечения (S) МС по сравнению с фоном была выше соответственно в 38 и 42 раза.

Оцениваемые показатели ХЛ ( $I_{max}$  и S) для водных вытяжек из РС без добавления МС не имели статистически значимых различий между собой за исключением вытяжки из плодов облепихи. В этом случае регистрировали в 7 раз более высокие значения показателей  $I_{max}$  и S, чем у вытяжек из листьев облепихи, а также листьев и плодов аронии черноплодной. Более высокие значения ХЛ, регистрируемые для вытяжек из плодов облепихи, предположительно могли быть связаны с высоким содержанием в них липидов, которые являются основными мишенями активных форм кислорода и могут принимать активное участие в процессах перекисного окисления липидов (ПОЛ).

Известно, что ПОЛ может выступать в качестве основного источника спонтанной ХЛ у растений [23]. Это связано с тем, что липиды, которые содержатся в растениях, являются высоконенасыщенными, и, следовательно, очень чувствительны к окислению [24].

Полученные значения ХЛ ( $I_{max}$  и S) характеризовали вытяжки из листьев и плодов аронии, а также листьев облепихи, как имеющие самый высокий антиоксидантный потенциал и самую низкую интенсивность процессов СРО.

Показатели АОА для исследуемых вытяжек из РС достоверно отличались от МС. Однако, если для вытяжек из листьев и плодов аронии черноплодной, а также из листьев облепихи, значения показателей  $I_{max}$  и S МС были выше в 2,5–3 раза, то для вытяжек из плодов облепихи – в 2,5 раза ниже.

Сопоставление данных по исследованию ХЛ водных вытяжек из РС с МС и без неё позволило выявить, что наиболее активно процессы СРО протекают при контакте МС с вытяжками из плодов облепихи. Следует отметить, что без добавления МС количество прооксидантов в вытяжках из плодов облепихи было заведомо выше, и добавление МС способствовало снижению прооксидантной активности данной вытяжки.

Известно, что в физиологических условиях процессы ПОЛ и СРО протекают медленнее, чем при патологическом процессе, когда их интенсивность достигает максимума. При этом запускается цепная реакция, усугубляющая повреждение основных макромолекул клетки [25]. По данным БХЛ, количество радикалов в сыворотке снижалось при контакте со всеми исследуемыми вытяжками, за исключением вытяжек из плодов облепихи. В этом случае наблюдали обратное действие.

Исследование АО потенциала РС альтернативными методами позволило составить возрастающие ряды по содержанию АО в водных вытяжках из РС: листья < плоды аронии черноплодной < плоды < листья облепихи крушиновидной (кулонометрическое титрование); листья аронии черноплодной < плоды облепихи крушиновидной < плоды аронии черноплодной < листья облепихи крушиновидной (прямое титрование и спектрофотометрия) (табл. 3).

Отмечали высокую положительную корреляцию ( $r=0,99$ ) данных, полученных методами прямого титрования и спектрофотометрии, что, возможно, связано с использованием в этих определениях стандартов фенольного типа (галловая кислота и кверцетин); а также

Таблица 4 / Table 4

Матрица коэффициентов корреляции для показателей, полученных различными методами анализа АОА / A matrix of correlation coefficients for indicators obtained by various methods of antioxidant activity analysis

Показатель / Index	1	2	3	4
1	–	0,06*	–0,37*	–0,38*
2	–0,08**	–	0,92*	0,92*
3	–0,43**	0,92**	–	0,99*
4	–0,44**	0,92**	0,99**	–

Примечание: 1 – биофлуоресценция, 2 – кулометрическое титрование, 3 – прямое титрование, 4 – спектрофотометрия, \* – без модельной среды, \*\* – с модельной средой, прочерк означает, что показатель не рассчитывался.

Note: 1 – biochemiluminescence, 2 – coulometric titration, 3 – direct titration, 4 – spectrophotometry, \* – without model environment, \*\* – with a model environment, a dash mean that indicator was not calculated.

кулометрического титрования с данными прямого титрования и спектрофотометрии ( $r=0,92$ ) (табл. 4).

Между результатами определения АОА методом БХЛ и альтернативными методами анализа корреляции не было установлено ( $r<0,3$ ).

В настоящее время проблема оценки оптимальной концентрации АО актуальна во многих отраслях промышленности и связана с тем, чтобы максимизировать их активность, а также биодоступность.

### Заключение

Методы определения АО потенциала РС чаще всего основаны на количественном определении АО в субстрате. Вариативность стандартных образцов вызывает затруднения в интерпретации результатов определения АОА. Это связано с тем, что различные АО формируют различный сигнал и вступают в реакции по-разному.

Для получения более объективной оценки работы БАВ необходимо, чтобы аналитический сигнал формировался в условиях, максимально приближенных к естественным, например, при использовании метода БХЛ с МС в виде сыворотки крови животных. Выявлено, что вытяжки из листьев аронии черноплодной «гасят» процессы СРО лучше, чем вытяжки из листьев и плодов облепихи. Среди исследуемых образцов более низкими значениями  $I_{\max}$  и S характеризовались вытяжки из плодов аронии черноплодной, тогда как по данным альтернативных методов анализа они занимали промежуточное положение. В сравнении с другими исследуемыми образцами, вытяжки из плодов аронии черноплодной обладали самой мощной АО системой, позволяющей лучше остальных снижать интенсивность СРО в МС.

Таким, образом, учитывая слабую корреляцию между данными метода БХЛ и альтернативных методов определения АОА, можно сделать заключение о наличии не прямой зависимости между содержанием БАВ в РС и проявляемым эффектом в максимально близких к биологическим системам условиям. При этом измерение БХЛ фактически является оценкой функции, а также эффективности работы БАВ и дополняет количественные методы анализа.

Понимание эффективности работы антиоксидантного комплекса определённого вида растения в условиях, приближенных к *in vivo*, позволяет с большей объективностью оценивать его пригодность в качестве сырья для фармпроизводства. Исследуя АО свойства редкоиспользуемого РС методом БХЛ, можно расширить номенклатуру лекарственных средств и БАД, что, в свою очередь, снизит необходимость химического синтеза фармстанций и нагрузку на окружающую среду.

*Работа выполнена в рамках финансирования по программе «Университетский научный грант» ФГБОУ ВО Кировский ГМУ Минздрава России (утверждена решением Учёного совета, протокол №11 от 23.12.2022 г.).*

### Литература

- Евсеева С.Б., Сысуев Б.Б. Экстракты растительного сырья как компоненты косметических и наружных лекарственных средств: ассортимент продукции, особенности получения (обзор) // Фармация и фармакология. 2016. Т. 4. № 3(16). С. 4–37. doi: 10.19163/2307-9266-2016-4-3-4-37
- Джатдоева Д.Т. Комплексная оценка применения лекарственных растений в современной медицине в зависимости от биоорганических процессов // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. 2022. № 9. С. 113–118.

3. Noor F., Tahir ul Qamar M., Ashfaq U.A., Albutti A., Alwashmi A.S.S., Aljasir M.A. Network pharmacology approach for medicinal plants: review and assessment // *Pharmaceuticals*. 2022. V. 15. No. 5. P. 572–575. doi: 10.3390/ph15050572
4. Прожерина Ю. Фармацевтические отходы как новая экологическая проблема // *Ремедиум. Журнал о российском рынке лекарств и медицинской технике*. 2017. № 11. С. 14–19. doi: 10.21518/1561-5936-2017-11-14-19
5. Osi B., Khoder M., Al-Kinani A.A., Alany R.G. Pharmaceutical, biomedical and ophthalmic applications of biodegradable polymers (BDPs): literature and patent review // *Pharm. Dev. Technol.* 2022. V. 27. No. 3. P. 341–344. doi: 10.1080/10837450.2022.2055063
6. Владимиров Ю.А., Проскурнина Е.В. Свободные радикалы и клеточная хемилюминесценция // *Успехи биологической химии*. 2009. Т. 49. С. 341–388.
7. Chaves N., Santiago A., Alias J.C. Quantification of the antioxidant activity of plant extracts: analysis of sensitivity and hierarchization based on the method used // *Antioxidants (Basel)*. 2020. V. 9 (1). Article No. 76. doi: 10.3390/antiox9010076
8. Тринеева О.В. Методы определения антиоксидантной активности объектов растительного и синтетического происхождения в фармации (обзор) // *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2017. № 4 (21). С. 180–197.
9. Ni C., Ji Y., Hu K., Xing K., Xu Y., Gaocorresponding Y. Effect of exercise and antioxidant supplementation on cellular lipid peroxidation in elderly individuals: Systematic review and network meta-analysis // *Front. Physiol.* 2023. Article No. 1113270. doi: 10.3389/fphys.2023.1113270
10. Ромодин Л.А. Хемилюминесценция в исследовании свободнорадикальных реакций. Часть 1 // *Acta Naturae*. 2021. Т. 13. № 3. С. 90–100. doi: 10.32607/actanaturae.10912
11. Паничкин А.В., Большакова Л.С., Миленцев В.Н., Санников Д.П., Казьмин В.М. Использование хемилюминесценции для оценки антиоксидантных свойств пищевых веществ // *Фундаментальные исследования*. 2013. № 10 (11). С. 2436–2439.
12. Русина И.Ф., Карташева А.Ф., Максимова Т.В., Касайкина О.Т. Анализ содержания антиоксидантов в фармпрепаратах, пищевых добавках и биосистемах методом хемилюминесценции // *Альманах клинической медицины*. 2006. № 12. С. 128.
13. Ko S.H., Choi S.W., Ye S.K., Yoo S., Kim H.S., Chung M.H. Comparison of anti-oxidant activities of seventy herbs that have been used in Korean traditional medicine // *Nutr. Res. Pract.* 2008. V. 2 (3). P. 143–151. doi: 10.4162/nrp.2008.2.3.143
14. Chanda S., Dave R. *In vitro* models for antioxidant activity evaluation and some medicinal plants possessing antioxidant properties: An overview // *Afr. J. Microbiol. Res.* 2009. V. 3 (13). P. 981–996.
15. Государственная фармакопея Российской Федерации XV издания [Электронный ресурс] <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/> (Дата обращения: 24.06.2024).
16. Jaroszevska A., Biel W. Chemical composition and antioxidant activity of leaves of mycorrhized sea-buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) // *Chil. J. Agric. Res.* 2017. No. 12. P. 62–155. doi: 10.4067/S0718-58392017000200155
17. 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. С. 98–104.
18. Козвонин В.А., Товстик Е.В., Тупицын В.К., Вотинцева С.А. Применение комплекса биологически активных веществ из *Aronia melanocarpa* в парафармацевтических фитоплёнках // *Теоретическая и прикладная экология*. 2024. № 1. С. 97–105. doi: 10.25750/1995-4301-2024-1-097-105
19. Jurendić T., Ščetar M. *Aronia melanocarpa* products and by-products for health and nutrition: A review // *Antioxidants*. 2021. V. 10. No. 7. Article No. 1052. doi: 10.3390/antiox10071052
20. Фокина А.И., Фоминых Е.Г., Южанин К.И. Электрохимические методы определения аскорбиновой кислоты в биологически активных добавках // *Теоретическая и прикладная экология*. 2022. № 3. С. 34–40. doi: 10.25750/1995-4301-2022-3-034-040
21. Олькова А.С., Товстик Е.В. Альтернативные методы оценки полезных свойств недревесной продукции леса // *Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture*. 2024. Т. 16. № 1. С. 46–60. doi: 10.12731/2658-6649-2024-16-1-719
22. Рекомендация Коллегии ЕЭК от 14.11.2023 № 33 «О Руководстве по работе с лабораторными (экспериментальными) животными при проведении Доклинических (неклинических) исследований» [Электронный ресурс] <https://www.alta.ru/> (Дата обращения: 07.02.2024).
23. Naumova E.V., Vladimirov Yu.A., Belousov L.V., Tuchin V.V., Volodyaev I.V. Methods of studying ultraweak photon emission from biological objects: I. History, types and properties, fundamental and application significance // *Biophysics*. 2021. V. 66. P. 764–778. doi: 10.1134/S0006350921050158
24. Bour A., Kruglik S.G., Chabanon M., Rangamani P., Puff N., Bonneau S. Lipid unsaturation properties govern the sensitivity of membranes to photoinduced oxidative stress // *Biophys. J.* 2019. V. 116. P. 910–920. doi: 10.1101/451591
25. Узбеков М.Г. Перекисное окисление липидов и антиоксидантные системы при психических заболеваниях. Сообщение 1 // *Социальная и клиническая психиатрия*. 2014. Т. 24. № 4. С. 97–103.

## References

1. Evseeva S.B., Sysuev B.B. Extracts of plant raw materials as components of cosmetic and external medicines: product range, production features (overview) // *Farmatsiya i farmakologiya*. 2016. V. 4. No. 3 (16). P. 4–37 (in Russian). doi: 10.19163/2307-9266-2016-4-3-4-37
2. Dzhatdoeva D.T. Comprehensive assessment of the use of medicinal plants in modern medicine depending on biorganic processes // *Vestnik Kurskoy gosudarstvennoy selskokhozyaystvennoy akademii*. 2022. No. 9. P. 113–118 (in Russian).
3. Noor F., Tahir ul Qamar M., Ashfaq U.A., Albutti A., Alwashmi A.S.S., Aljasir M.A. Network pharmacology approach for medicinal plants: review and assessment // *Pharmaceuticals*. 2022. V. 15. No. 5. P. 572–575. doi: 10.3390/ph15050572
4. Prozherina Yu. Pharmaceutical waste as a new environmental problem // *Remedium. Zhurnal o rossiyskom rynke lekarstv i meditsinskoy tekhnike*. 2017. No. 11. P. 14–19 (in Russian). doi: 10.21518/1561-5936-2017-11-14-19
5. Osi B., Khoder M., Al-Kinani A.A., Alany R.G. Pharmaceutical, biomedical and ophthalmic applications of biodegradable polymers (BDPs): literature and patent review // *Pharm. Dev. Technol.* 2022. V. 27. No. 3. P. 341–344. doi: 10.1080/10837450.2022.2055063
6. Vladimirov Yu.A., Proskurnina E.V. Free radicals and cellular chemiluminescence // *Uspekhi biologicheskoy khimii*. 2009. V. 49. P. 341–388 (in Russian).
7. Chaves N., Santiago A., Alías J.C. Quantification of the antioxidant activity of plant extracts: analysis of sensitivity and hierarchization based on the method used // *Antioxidants (Basel)*. 2020. V. 9 (1). Article No. 76. doi: 10.3390/antiox9010076
8. Trineeva O.V. Methods for determining the antioxidant activity of objects of plant and synthetic origin in pharmacy (review) // *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv*. 2017. No. 4 (21). P. 180–197 (in Russian).
9. Ni C., Ji Y., Hu K., Xing K., Xu Y., Gaocorresponding Y. Effect of exercise and antioxidant supplementation on cellular lipid peroxidation in elderly individuals: Systematic review and network meta-analysis // *Front. Physiol.* 2023. Article No. 1113270. doi: 10.3389/fphys.2023.1113270
10. Romodin L.A. Chemiluminescence in the study of free radical reactions. Part 1 // *Acta Naturae*. 2021. V. 13. No. 3. P. 90–100. doi: 10.32607/actanaturae.10912
11. Panichkin A.V., Bolshakova L.S., Milentev V.N., Sannikov D.P., Kazmin V.M. The use of chemiluminescence to evaluate the antioxidant properties of food substances // *Fundamentalnye issledovaniya*. 2013. No. 10 (11). P. 2436–2439 (in Russian).
12. Rusina I.F., Kartasheva A.F., Maksimova T.V., Kasaykina O.T. Analysis of the antioxidant content in pharmaceuticals, food additives and biosystems by chemiluminescence // *Almanakh klinicheskoy meditsiny*. 2006. No. 12. P. 128 (in Russian).
13. Ko S.H., Choi S.W., Ye S.K., Yoo S., Kim H.S., Chung M.H. Comparison of anti-oxidant activities of seventy herbs that have been used in Korean traditional medicine // *Nutrition Research and Practice*. 2008. V. 2 (3). P. 143–151. doi: 10.4162/nrp.2008.2.3.143
14. Chanda S., Dave R. *In vitro* models for antioxidant activity evaluation and some medicinal plants possessing antioxidant properties: An overview // *Afr. J. Microbiol. Res.* 2009. V. 3 (13). P. 981–996.
15. Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiyskoy Federatsii XV izdaniya [Internet resource] <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/> (Accessed: 24.06.2024).
16. Jaroszevska A., Biel W. Chemical composition and antioxidant activity of leaves of mycorrhized sea-buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) // *Chil. J. Agric. Res.* 2017. No. 12. P. 62–155. doi: 10.4067/S0718-58392017000200155
17. 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 // *Vestnik VGU, seriya: Khimiya. Biologiya. Farmatsiya*. 2022. No. 1. P. 98–104 (in Russian).
18. Kozvonin V.A., Tovstik E.V., Tupitsyn V.K., Votintseva S.A. Application of a complex of biologically active substances of *Aronia melanocarpa* in parapharmaceutical phytofilms // *Theoretical and Applied Ecology*. 2024. No. 1. P. 97–105 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2024-1-097-105
19. Jurendić T., Ščetar M. *Aronia melanocarpa* products and by-products for health and nutrition: A review // *Antioxidants*. 2021. V. 10. No. 7. Article No. 1052. doi: 10.3390/antiox10071052
20. Fokina A.I., Fominykh E.G., Yuzhanin K.I. Electrochemical methods for the determination of ascorbic acid in biologically active additives // *Theoretical and Applied Ecology*. 2022. No. 3. P. 34–40 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2022-3-034-040
21. Olkova A.S., Tovstik E.V. Alternative methods for assessing useful properties of non-wood forest products // *Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture*. 2024. V. 16. No. 1. P. 46–60 (in Russian). doi: 10.12731/2658-6649-2024-16-1-719
22. Rekomendatsiya Kollegii EEK ot 14.11.2023 No. 33 “O Rukovodstve po rabote s laboratornymi (eksperimentalnymi) zhivotnymi pri provedenii Doklinicheskikh (neklinicheskikh) issledovaniy” [Internet resource] <https://www.alt.ru> (Accessed: 07.02.2024).
23. Naumova E.V., Vladimirov Yu.A., Belousov L.V., Tuchin V.V., Volodyaev I.V. Methods of studying ultraweak photon emission from biological objects: I. History, types and properties, fundamental and application significance // *Biophysics*. 2021. V. 66. P. 764–778. doi: 10.1134/S0006350921050158
24. Bour A., Kruglik S.G., Chabanon M., Rangamani P., Puff N., Bonneau S. Lipid unsaturation properties govern the sensitivity of membranes to photoinduced oxidative stress // *Biophys. J.* 2019. V. 116. P. 910–920. doi: 10.1101/451591
25. Uzbekov M.G. Lipid peroxidation and antioxidant systems in mental disorders. Part 1 // *Sotsialnaya i klinicheskaya psixiatriya*. 2014. V. 24. No. 4. P. 97–103 (in Russian).