

Оригинальная статья / Research article

УДК 615.076

<https://doi.org/10.33380/2305-2066-2024-13-2-1611>

Изучение органических кислот и аминокислотного состава каштана конского цветков

А. С. Чистякова✉, А. Д. Дунилин, О. В. Тринеева, А. С. Болгов,
А. А. Гудкова, А. И. Сливкин

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

✉ Контактное лицо: Чистякова Анна Сергеевна. E-mail: anna081189@yandex.ru

ORCID: А. С. Чистякова – <https://orcid.org/0000-0002-8291-9904>; А. Д. Дунилин – <https://orcid.org/0000-0001-6792-6877>;
О. В. Тринеева – <https://orcid.org/0000-0002-1421-5067>; А. С. Болгов – <https://orcid.org/0000-0001-5827-5953>;
А. А. Гудкова – <https://orcid.org/0000-0002-1275-5000>; А. И. Сливкин – <https://orcid.org/0000-0002-7811-8354>.

Статья поступила: 16.10.2023

Статья принята в печать: 29.03.2024

Статья опубликована: 29.03.2024

Резюме

Введение. В настоящее время все чаще прослеживается тенденция к оценке полного спектра химических соединений в растительном сырье. Одними из первых ступеней в формировании вторичных метаболитов сложного строения, участвующих в биохимических процессах в растительном организме, оказывающих собственное влияние на организм человека и животных, являются органические кислоты (ОК) и аминокислоты (АК). Однако данным соединениям не всегда уделяется должное внимание при изучении компонентного состава растительного сырья.

Цель. Целью работы являлось изучение профиля и количественная оценка содержания органических кислот и аминокислот каштана конского обыкновенного (*Aesculus hippocastanum* L.) цветков.

Материалы и методы. Объектом исследования выступали каштана конского цветки, заготовленные во время цветения в Воронежской области в 2021 году и высушенные воздушно-теневым способом. Количественную оценку суммы ОК в пересчете на яблочную кислоту и аскорбиновой кислоты проводили титриметрически согласно методикам, представленным в Государственной фармакопее Российской Федерации XIV изд. Состав профиля ОК и АК каштана конского цветков устанавливали с использованием метода капиллярного электрофореза («КАПЕЛЬ»-105/105М», ГК «Люмэкс», Россия)

Результаты и обсуждение. Методом капиллярного электрофореза выявлено наличие 12 соединений группы ОК в общем количестве 4,7 % (в пересчете на абсолютно сухое сырье). Показана рациональность пересчета содержания суммы ОК на мажорный компонент – лимонную кислоту, что составило $1,65 \pm 0,04$ %. Содержание аскорбиновой кислоты было невысоким ($0,033 \pm 0,007$ %). Методом ТСХ в водном извлечении из каштана конского цветков установлено наличие 5 зон соединений, относящихся к классу АК. Количественное содержание суммы свободных АК в пересчете на глутаминовую, определенное спектрофотометрическим методом, составило $2,25 \pm 0,07$ % ($n = 5$). Методом капиллярного электрофореза установлено присутствие 17 АК, что составило 7,13 %. В наибольшем количестве в цветках каштана конского присутствует глутаминовая кислота (1,19 %). Незаменимые АК составили 2,27 %, в преобладающем количестве присутствует лейцин (0,58 %).

Заключение. Проведено изучение качественного состава и количественного содержания органических кислот и аминокислот каштана конского цветков. Установлен состав профиля и количественное содержание органических кислот и аминокислот. Выявлено, что в сумме органических кислот преобладает лимонная кислота, в сумме аминокислот в большем количестве содержатся глутаминовая, аспарагиновая кислота, аргинин и пролин.

Ключевые слова: каштан конский обыкновенный (*Aesculus hippocastanum* L.), цветки, органические кислоты, аминокислоты, капиллярный электрофорез

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

Вклад авторов. А. А. Гудкова, О. В. Тринеева и А. И. Сливкин отвечали за организационную часть исследования, осуществляли планирование эксперимента, постановку целей и задач исследования, участвовали в обсуждении полученных результатов. А. С. Чистякова, А. Д. Дунилин и А. С. Болгов участвовали в заготовке объектов исследования, их идентификации, приведении в стандартное состояние и подготовке к исследованию. Все авторы участвовали в обсуждении полученных результатов в формате научной дискуссии.

Для цитирования: Чистякова А. С., Дунилин А. Д., Тринеева О. В., Болгов А. С., Гудкова А. А., Сливкин А. И. Изучение органических кислот и аминокислотного состава каштана конского цветков. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2024;13(2):125–132. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2024-13-2-1611>

Studying the acids and amino acid composition of horse chestnut flowers

Anna S. Chistyakova✉, Alexander D. Dunilin, Olga V. Trineeva, Alexei S. Bolgov,
Alevtina A. Gudkova, Alexei I. Slivkin

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

✉ Corresponding author: Anna S. Chistyakova. E-mail: anna081189@yandex.ru

© Чистякова А. С., Дунилин А. Д., Тринеева О. В., Болгов А. С., Гудкова А. А., Сливкин А. И., 2024

© Chistyakova A. S., Dunilin A. D., Trineeva O. V., Bolgov A. S., Gudkova A. A., Slivkin A. I., 2024

ORCID: Anna S. Chistyakova – <https://orcid.org/0000-0002-8291-9904>; Alexander D. Dunilin – <https://orcid.org/0000-0001-6792-6877>;
Olga V. Trineeva – <https://orcid.org/0000-0002-1421-5067>; Alexei S. Bolgov – <https://orcid.org/0000-0001-5827-5953>;
Alevtina A. Gudkova – <https://orcid.org/0000-0002-1275-5000>; Alexei I. Slivkin – <https://orcid.org/0000-0002-7811-8354>.

Received: 16.10.2023

Accepted: 29.03.2024

Published: 29.03.2024

Abstract

Introduction. Currently, there is an increasing trend towards assessing the full spectrum of chemical compounds in plant materials. One of the first steps in the formation of secondary metabolites of complex structure, participating in biochemical processes in the plant body, which have their own effect on the human and animal body, are organic acids (OA) and amino acids (AA). However, due attention is not always given to these compounds when studying the component composition of plant raw materials.

Aim. The purpose of the work was to study the profile and quantitative assessment of the content of organic acids and amino acids of *Aesculus hippocastanum* L. flowers.

Materials and methods. The object of the study were horse chestnut flowers, collected during flowering in the Voronezh region in 2021 and dried by air-shade method. Quantitative assessment of the amount of TC in terms of malic acid and ascorbic acid was carried out titrimetrically according to the methods presented in the State Pharmacopoeia of the Russian Federation, XIV edition. The composition of the OA and AA profiles of horse chestnut flowers was determined using the capillary electrophoresis method ("KAPEL®-105/105M", Group of Companies "Lumex", Russia).

Results and discussion. The method of capillary electrophoresis revealed the presence of 12 compounds of the OA group in a total amount of 4.7 % (in terms of absolutely dry raw materials). The rationality of recalculating the content of the sum of OA to the major component – citric acid, which amounted to 1.65 ± 0.04 %, was shown. The content of ascorbic acid was low (0.033 ± 0.007 %). Using the TLC method, the presence of 5 zones of compounds belonging to the AA class was established in the aqueous extract of horse chestnut flowers. The quantitative content of the sum of free AA in terms of glutamine, determined by the spectrophotometric method, was 2.25 ± 0.07 % ($n = 5$). The presence of 17 AA was determined by capillary electrophoresis, which amounted to 7.13 %. Glutamic acid is present in the greatest quantity in horse chestnut flowers (1.19 %). Essential amino acids amounted to 2.27 %; leucine was present in the predominant amount (0.58 %).

Conclusion. A study was carried out of the qualitative composition and quantitative content of organic acids and amino acids of horse chestnut flowers. The composition of the profile and the quantitative content of organic acids and amino acids have been established. It was revealed that citric acid prevails in the total organic acids; glutamic, aspartic acid, arginine and proline are found in greater quantities in the total amino acids.

Keywords: horse chestnut, flowers, organic acids, amino acids, capillary electrophoresis

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. Alevtina A. Gudkova, Olga V. Trineeva and Alexei I. Slivkin were responsible for the organizational part of the study, planned the experiment, set the goals and objectives of the study, and participated in the discussion of the results obtained. Anna S. Chistyakova, Alexander D. Dunilin and Alexei S. Bolgov participated in the procurement of research objects, their identification, bringing them to a standard state and preparing them for research. All authors participated in the discussion of the results obtained in the format of a scientific discussion.

For citation: Chistyakova A. S., Dunilin A. D., Trineeva O. V., Bolgov A. S., Gudkova A. A., Slivkin A. I. Studying the acids and amino acid composition of Horse chestnut flowers. *Drug development & registration*. 2024;13(2):125–132. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2024-13-2-1611>

ВВЕДЕНИЕ

Каштан конский обыкновенный относится к широко распространенным видам семейства конско-каштановых. История применения конского каштана в медицине довольно продолжительная и начинается с XI века; считается, что в Россию были завезены саженцы каштана из Византии, и в настоящее время растение активно культивируется [1]. В медицине используются все части каштана конского, но наиболее часто встречаются упоминания о применении семян, при этом они рекомендовались как жаропонижающее, противоотечное, противогеморроидальное средство [2]. В настоящее время семена каштана конского являются официальным видом сырья и используются в качестве источника получения ангиопротекторных, венотонизирующих средств [2–5]. Главным классом химических соединений, отвечающих за проявляемые эффекты, являются сапонины (среди них были выделены и идентифицированы протоэсцигенин и баррингтогенол, а также эсцин,

являющийся смесью двух соединений эсцина и просапогенина, различающихся способностью к гемолизу), кроме того, содержатся флавоноиды (производные кверцетина и кемпферола, антоциановые соединения), кумарины (эскулин, фраксин) [2, 6–8]. Как видно из доступных литературных источников, наиболее исследованными морфологическими частями каштана конского являются семена, почки, кора. Информация по изучению цветков каштана разрозненна, встречаются лишь немногочисленные исследования, которые не формируют полного представления о химическом составе и перспективах использования этого вида сырья в медицине [9–15]. В настоящее время все чаще прослеживается тенденция к оценке полного спектра химических соединений в растительном сырье, что позволяет прогнозировать с высокой точностью наличие тех или иных фармакологических эффектов, при этом внимание уделяется как соединениям, присутствующим в преобладающем большинстве, так и минорным компонентам (из

группы первичных и вторичных метаболитов). Учитывая, что одними из первых ступеней в формировании вторичных метаболитов сложного строения, участвующих в биохимических процессах в растительном организме, оказывающих собственное влияние на организм человека и животных, являются органические кислоты и аминокислоты, их изучение в цветках каштана конского обыкновенного следует считать актуальным.

Целью работы являлось изучение профиля и количественная оценка содержания органических кислот (ОК) и аминокислот (АК) каштана конского обыкновенного цветков.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе были использованы цветки каштана конского, которые были заготовлены во время цветения в Воронежской области в 2021 году и высушены воздушно-теневым способом.

Количественную оценку суммы ОК в пересчете на яблочную кислоту и аскорбиновой кислоты проводили титриметрически согласно методикам ГФ РФ XIV изд., ФС.2.5.0093.18 «Рябины обыкновенной плоды» и ФС.2.5.0106.18 «Шиповника плоды» [16]. Состав профиля ОК и АК каштана конского цветков устанавливали с использованием метода капиллярного электрофореза («КАПЕЛЬ®-105/105М», ГК «Люмэкс», Россия)¹ [17]. Условия анализа представлены в таблице 1.

Таблица 1. Условия анализа органических кислот и аминокислот методом капиллярного электрофореза

Table 1. Conditions for the analysis of organic acids and amino acids by capillary electrophoresis

Параметр Experimental condition	Условия анализа	
	Органические кислоты Organic acids	Аминокислоты Amino acids
Буфер Buffer	Фосфатный Phosphate	30 mM фосфатный, 4 mM β-циклодекстрин (pH 7,4) 30 mM phosphate, 4 mM β-cyclodextrin (pH 7.4)
Напряжение Voltage	17 кВ 17 kV	+25 кВ +25 kV
Капилляр Capillary	$L_{эфф.}/L_{общ.} = 40/50$ см, ID = 50 мкм $L_{эфф.}/L_{tot.} = 40/50$ см, ID = 50 μm	$L_{эфф.}/L_{общ.} = 65/75$ см, ID = 50 мкм $L_{эфф.}/L_{tot.} = 65/75$ см, ID = 50 μm
Ввод пробы Sample injection	300 мбар · с 300 mbar · s	150 мбар · с 150 mbar · s
Температура Temperature	+20 °C	+30 °C
Детектирование Detection	Косвенное при 190 нм Indirect at 190 nm	УФ-детектирование, 254 нм UV detection, 254 nm

¹ ГОСТ 13496.21-87. Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Методы определения лизина и триптофана. Доступно по: <https://docs.cntd.ru/document/1200024343>. Ссылка активна на 16.10.2023.

Для получения водного извлечения суммы свободных АК цветки каштана нагревали с водой очищенной на водяной бане в течение 2 часов [соотношение сырье:экстрагент (1:50)]. Далее профильтровывали в мерную колбу объемом 50 мл и доводили водой очищенной до метки. Полученное извлечение наносили на хроматограмму в объеме 5 мкл. Системой для хроматографирования являлась смесь состава *n*-бутанол:уксусная кислота:вода (4:1:2), проявитель – спиртовой раствор нингидрина 0,1%-й, в качестве стандартного образца выступал 0,1%-й раствор глутаминовой кислоты (степень чистоты не менее 99 %; АО «БЕКТОН», Россия), хроматографические пластинки фирмы Sorbfil (Россия) [18]. Далее для оценки количественного содержания суммы свободных АК в пересчете на глутаминовую кислоту 1 мл полученного извлечения помещали в мерную колбу объемом 50 мл, добавляли 1 мл 0,25%-го натрия гидрокарбоната и 2 мл 2%-го спиртового раствора нингидрина, нагревали в течение 15 минут на водяной бане, доводили до метки водой очищенной [19–21]. Оптическую плотность измеряли в аналитическом максимуме 568 ± 2 нм (СФ-2000-01, ООО «ОКБ Спектр», Россия).

Для оценки профиля АК (свободные и связанные) методом капиллярного электрофореза навеску измельченных цветков каштана конского подвергали гидролизу раствором 6 М кислоты хлороводородной в течение 16–18 часов при температуре 110 ± 5 °C [19].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Подробное изучение профиля ОК каштана конского цветков методом капиллярного электрофореза позволило выявить наличие 12 БАВ данной группы. На рисунке 1 показано распределение ОК в абсолютных значениях и долях по отношению к их сумме. Установлено, что лимонная кислота присутствует в преобладающем количестве (1,65 %, что составляет 35 % от суммы ОК). Также необходимо отметить довольно высокое содержание молочной (0,95 %, что составляет 20 % от суммы ОК), янтарной (0,82 %, что составляет 18 % от суммы ОК) и масляной кислот (0,71 %, что составляет 15 % от суммы ОК). Суммарное содержание ОК в цветках каштана конского составило 4,7 %. Полученные данные позволяют предположить дальнейшие пути использования каштана конского цветков. Янтарная кислота направленно влияет на регуляцию энергетического обмена, повышает неспецифическую иммунорезистентность, проявляет антиоксидантное действие [22], снижает остроту проявления стрессовых реакций, является интермедиатом цикла Кребса, способствует нормализации уровня гистамина и серотонина, повышает адаптационные возможности организма при воздействии неблагоприятных факторов [23]. Масляная кислота оказывает положительное воздействие на желудочно-кишечный тракт, участвуя в регуляции пролифе-

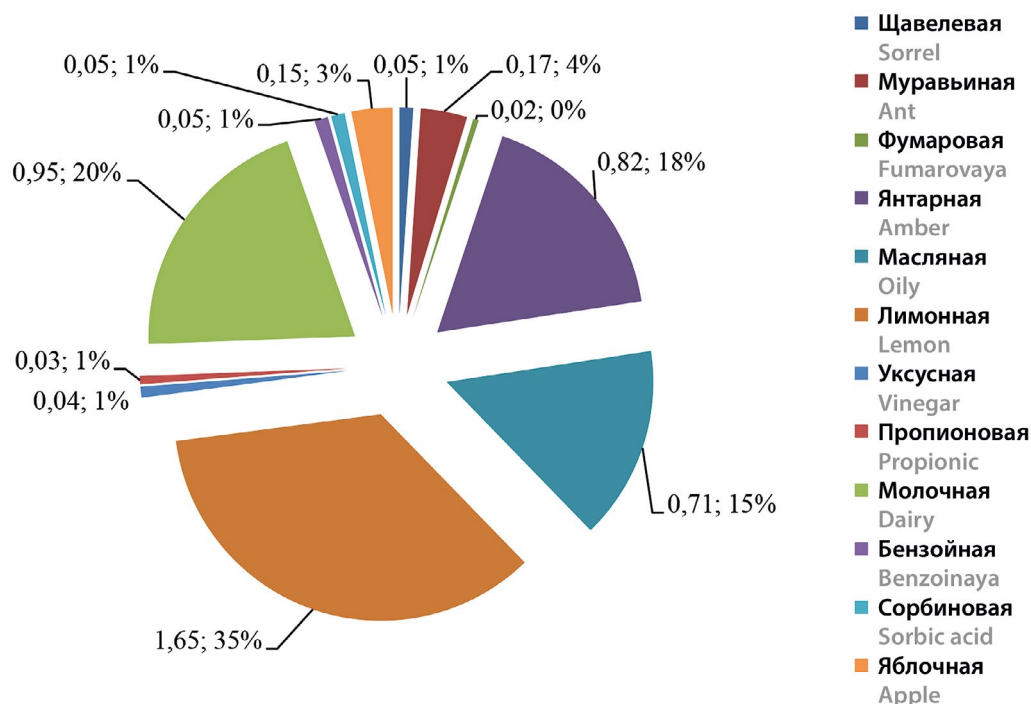


Рисунок 1. Профиль ОК каштана конского цветков

Figure 1. Profile of OA horse chestnut flowers

рации и дифференцировки эпителия слизистой [24], стимулирует специфический иммунный ответ и ингибирует патогенную микрофлору [25]. Молочная кислота подавляет патогенную микрофлору, обладает антисептическим действием, улучшает обменные процессы [26].

Современная нормативная документация на лекарственное растительное сырье рекомендует использовать для оценки содержания суммы ОК титриметрическую методику, что отражено в ФС.2.5.0093.18 «Рябины обыкновенной плоды» и ФС.2.5.0076.18 «Калины обыкновенной плоды свежие» ГФ РФ XIV изд. Пересчет суммы ОК предлагается проводить на яблочную кислоту. В результате количественной оценки содержания суммы ОК в пересчете на яблочную кислоту в каштана конского цветках, которая была проведена согласно фармакопейной методике, установлено значение данного параметра, равное $1,15 \pm 0,02\%$ ($n = 5$). Учитывая, что количество яблочной кислоты в цветках каштана конского незначительно, более рационально выполнять пересчет содержания суммы ОК на мажорный компонент – лимонную кислоту, что составило $1,65 \pm 0,04\%$. Содержание аскорбиновой кислоты, установленное с помощью фармакопейной титриметрической методики, было невысоким ($0,033 \pm 0,007\%$) ($n = 5$).

Фармакопейная методика количественного определения суммы ОК имеет ряд недостатков, один из которых – это невозможность оценки содержания ОК во всех формах их существования (в форме свободных кислот и в форме солей) [27]. Полученные на

данном этапе эксперимента данные позволяют оценить содержание суммы ОК исключительно в кислой форме, что объясняет расхождение результатов при использовании различных методов анализа.

Следующим этапом работы являлось изучение качественного состава и количественного содержания свободных и связанных АК в изучаемом растительном сырье.

С помощью метода ТСХ в водном извлечении из каштана конского цветков установлено наличие 5 зон соединений, относящихся к классу АК (рисунок 2). Среди них была идентифицирована глутаминовая кислота (R_f составляет $0,45 \pm 0,02$), а также, предположительно, лизин¹ (R_f составляет 0,10), глицин² (R_f составляет 0,30), метеонин³ (R_f составляет 0,36) и неидентифицированный компонент (R_f составляет 0,46).

Количественное определение суммы свободных АК осуществляли спектрофотометрическим методом в пересчете на глутаминовую кислоту, что правомерно, учитывая наличие зоны данного компонента на хроматограмме, полученной на предыдущем этапе, и присутствие характерного максимума на УФ-спектре поглощения продуктов реакции суммы АК с раствором нингидрина (рисунок 3). В результате расчетов было установлено количественное содержание сум-

¹ Идентификация проводилась с использованием данных литературы [18].

² Там же.

³ Там же.

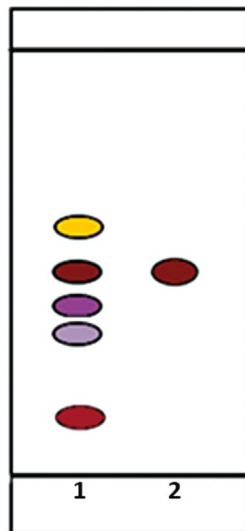
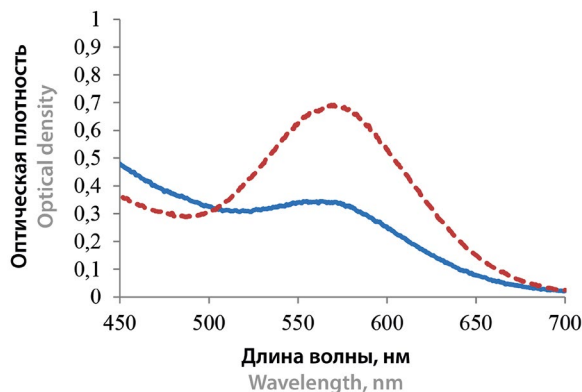


Рисунок 2. ТСХ-картина зон разделения аминокислот водного извлечения каштана конского цветков:

1 – извлечение каштана конского цветков; 2 – 0,1%-й раствор глутаминовой кислоты

Figure 2. TLC picture of the amino acid separation zones of an aqueous extract of horse chestnut flowers:

1 – extraction of horse chestnut flowers; 2 – 0.1 % glutamic acid solution



— Водное извлечение из каштана конского цветков
Aqueous extract horse chestnut flowers
- - - 0,1%-й водный раствор глутаминовой кислоты
0.1% aqueous solution glutamic acid

Рисунок 3. Фрагмент спектров поглощения продуктов реакции аминокислот с раствором нингидрина

Figure 3. Fragment of the absorption spectra of the reaction products of amino acids with ninhydrin solution

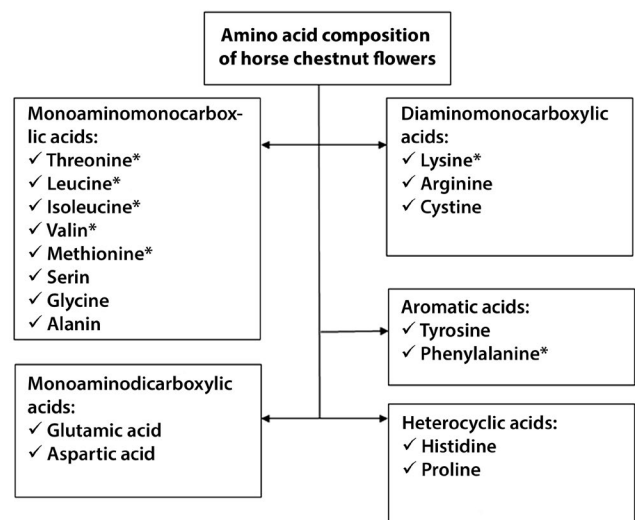
мы свободных АК в каштане конском цветках, которое составило $2,25 \pm 0,07$ % ($n = 5$).

В рамках подробного изучения профиля как свободных, так и связанных АК каштана конского цветков методом капиллярного электрофореза было установлено присутствие 17 АК, что в сумме составило 7,13 % (рисунок 4).



* Незаменимые аминокислоты

Рисунок 4. АК каштана конского цветков



* Essential amino acids

Figure 4. AA horse chestnut flowers

На рисунке 5 показано распределение АК в абсолютных значениях и долях по отношению к их сумме. В наибольшем количестве в цветках каштана конского присутствует глутаминовая кислота (1,19 %, что соответствует 16 % от суммы АК), аспарагиновая кислота; аргинин (по 0,72 %) и пролин (0,63 %) встречаются в меньшем количестве.

Незаменимые АК в количестве 7 наименований (лизин, лейцин, изолейцин, метеонин, валин, треонин, фенилаланин) составили 2,27 % (32 % от общего количества аминокислот). Среди незаменимых АК в преобладающем количестве присутствует лейцин (0,58 %), далее АК в ряду уменьшения их количества распределились следующим образом: треонин, фенилаланин (по 0,41 %), лизин (0,35 %), валин (0,29 %), изолейцин (0,19 %), метеонин (0,04 %).



Рисунок 5. Профиль АК каштана конского цветков

Figure 5. AA profile of horse chestnut flowers

Учитывая полученные данные, можно отметить, что каштана конского цветки могут являться дополнительным источником аминокислот. Глутаминовая кислота необходима организму в качестве медиатора, осуществляющего передачу возбуждения в центральной нервной системе, она регулирует гликолиз мышц, участвует в синтезе гемоглобина, усиливает фармакологическое действие некоторых лекарственных средств¹. Аспарагиновая кислота усиливает выработку АТФ, стимулирует цикл Кребса, увеличивает потребление кислорода миокардом, обладает антитагогенным действием [28]. Аргинин является блоатором ангиотензинпревращающего фермента (АПФ), снимает спазм сосудов, в том числе коронарных, улучшает микроциркуляцию, стимулирует иммунный ответ, нормализует половую дисфункцию [29]. Лейцин снижает уровень глюкозы в крови, стимулирует им-

мунный ответ, проявляет адаптогенное действие, регулирует тромбообразование [30].

Наличие такой АК, как лизин, особенно в сочетании с присутствующим в сырье эсцином, позволяет использовать каштана конского цветки как средство, нормализующее проницаемость сосудов, снижающее отечность, восстанавливающее микроциркуляцию, что незаменимо в нейрохирургии и нашло отражение в получении лекарственного средства – L-лизина эсцината² [31].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, проведено изучение качественного состава и количественного содержания ОК и АК каштана конского цветков. Показано, что данное сырье может являться дополнительным источником исследуемых групп БАВ. Методом капиллярного электрофореза изучен профиль органических

¹ Энциклопедия лекарств и товаров аптечного ассортимента. Доступно по: <https://www.rlsnet.ru/> Ссылка активна на 16.10.2023.

² Справочник лекарственных препаратов. Видаль. Доступно по: <https://www.vidal.ru/> Ссылка активна на 16.10.2023.

кислот каштана конского цветков, установлено наличие 12 соединений (4,7 %), среди которых преобладает лимонная кислота (1,65 %). При использовании фармакопейной титриметрической методики показана рациональность пересчета содержания суммы органических кислот на лимонную кислоту, что составило 1,65 %. Методом ТСХ выявлено присутствие 5 веществ группы АК, среди которых идентифицированы лизин, глицин, метеонин, глутаминовая кислота. Установлено количественное содержание суммы свободных АК в пересчете на глутаминовую кислоту, равное 2,25 %. Методом капиллярного электрофореза установлен компонентный состав профиля АК каштана конского цветков. Показано наличие 17 АК, содержание которых суммарно составило 7,13 %, 7 из них (2,27 %) относятся к незаменимым.

ЛИТЕРАТУРА

1. Заигралова Г.Н., Кабанов С.В. Изменчивость морфологических признаков *Aesculus hippocastanum* L. (конского каштана обыкновенного) в зеленых насаждениях г. Саратова. *Известия ОГАУ*. 2019;5(79):128–132.
2. Богачев В.Ю., Болдин Б.В., Туркин П.Ю. Экстракт конского каштана. *Consilium Medicum*. 2022;24(1):42–48.
3. Simon P., Lena M., Radial growth response of horse chestnut (*Aesculus hippocastanum* L.) trees to climate in Ljubljana, Slovenia. *Urban Forestry & Urban Greening*. 2016;18:110–116.
4. Порембская О.Я. Топические средства для лечения хронических заболеваний вен. Состав как основа эффективности. *Флебология*. 2020;14(4):322–327. DOI: 10.17116/flebo202014041322.
5. Ozkan E.E., Mesut B., Polat A., Tan N. In vitro skin permeation of escin in the new gel formulation of *Aesculus hippocastanum* (Horse Chestnut). *J Fac Pharm Istanbul Istanbul Ecz Fak Derg*. 2016;46:79–88.
6. Белов П.В. Определение содержания суммы флавоноидов в водно-спиртовых извлечениях из почек и цветков каштана конского обыкновенного (*Aesculus hippocastanum* L.). В сб.: Аспирантские чтения – 2018: Материалы всероссийской научно-практической конференции с международным участием. Самара. 24 октября 2018 года. Самара: Общество с ограниченной ответственностью «Офорт»; Самарский государственный медицинский университет Минздрава РФ; 2018. 122 с.
7. Paterska M., Bandurska H., Wysłouch J., Molińska-Glura M., Moliński K. Chemical composition of horse-chestnut (*Aesculus*) leaves and their susceptibility to chestnut leaf miner *Cameraria ohridella* Deschka & Dimić. *Acta Physiologiae Plantarum*. 2017;39:105.
8. Idris S., Mishra A., Khushtar M. Phytochemical, ethnomedicinal and pharmacological applications of escin from *Aesculus hippocastanum* L. towards future medicine. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*. 2020;31(5). DOI: 10.1515/jbcp-2019-0115.
9. Яцюк В.Я., Елецкая О.А. Элементный состав некоторых видов сырья *Aesculus hippocastanum* L. *Актуальные проблемы медицины*. 2017;26(275):158–167.
10. Филатова А.В., Джурбаев Д.Т., Азимова Л.Б., Тураев А.С. Технология выделения полисахаридов из оболочек плодов каштана конского (*Aesculus hippocastanum* L.) и изучение его химического состава. *Известия ВУЗов. Химия и химическая технология*. 2022;65(7):88–93. DOI: 10.6060/ivkkt.20226507.6605.
11. Курченко В.П., Сушинская Н.В., Майорова К.И., Тарун Е.И., Бондарук А.М., Цыганков В.Г., Фатыхова С.А., Шабуня П.С. Состав биологически активных веществ каштана конского (*Aesculus hippocastanum* L.). *Экобиотех*. 2021;4(1):33–39. DOI: 10.31163/2618-964X-2021-4-1-33-39.
12. Андреев Д.Н., Кучерявый Ю.А., Черемушкин С.В., Маев И.В. Эффективность включения масляной кислоты в схемы спазмолитической терапии синдрома раздраженного кишечника: метаанализ контролируемых исследований. *Consilium Medicum*. 2020;22(8):27–31. DOI: 10.26442/20751753.2020.8.200194.
13. Percival G.C., Holmes S.P. The influence of systemic inducing agents on horse chestnut leaf miner (*Cameraria ohridella*) severity in white flowering horse chestnut (*Aesculus hippocastanum* L.). *Urban Forestry & Urban Greening*. 2016;20:97–102.
14. Oszmiański J., Kalisz S., Wojdyło A., The content of phenolic compounds in leaf tissues of white (*Aesculus hippocastanum* L.) and red horse chestnut (*Aesculus carea* H.) colonized by the horse chestnut leaf miner (*Cameraria ohridella* Deschka & Dimić). *Molecules*. 2014;19(9):14625–14636. DOI: 10.3390/molecules190914625.
15. Bielarska A.M., Jasek J.W., Kazimierczak R., Hallmann E. Red Horse Chestnut and Horse Chestnut Flowers and Leaves: A Potential and Powerful Source of Polyphenols with High Antioxidant Capacity. *Molecules*. 2022;27(7):2279. DOI: 10.3390/molecules27072279.
16. Государственная фармакопея Российской Федерации. В 4 т. 14-е изд. М.: Министерство здравоохранения Российской Федерации; 2018.
17. Комарова Н.В. Практическое руководство по использованию систем капиллярного электрофореза Капель. Санкт-Петербург: Веда; 2006. 213 с.
18. Чистякова А.С., Гудкова А.А., Сорокина А.А., Сливкин А.И. Сравнительное изучение аминокислотного состава представителей рядов *Persicariaeformes* Kom. и *Lapathiiformes* Worosch. *Химия растительного сырья*. 2019;4:157–162. DOI: 10.14258/jcpr.2019044347.
19. Олешко Г.И., Ярыгина Т.И., Зорина Е.В., Решетникова М.Д. Разработка унифицированной методики количественного определения суммы свободных аминокислот в лекарственном растительном сырье и экстракционных препаратах. *Фармация*. 2011;3:14–17.
20. Ажикова А.К. Количественное определение аминокислот в листьях гинкго двулопастного (*Ginkgo biloba* L.). В сб.: Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения: Сборник трудов Седьмой научной конференции с международным участием. Москва. 19 декабря 2019 года. Том 12. Москва: ФГБНУ ВИЛАР; 2019. С. 151–155.
21. Тринеева О.В. Определение аминокислот в фармацевтических субстанциях растительного происхождения физико-химическими методами (на примере плодов облепихи крушиновидной и листьев крапивы двудомной). В сб.: Современные аспекты использования растительного сырья и сырья природного происхождения в медицине: 5-я научно-практическая конференция. 15 марта 2017 года. Москва. 2017. С. 222–225.
22. Ли О.Н., Тыртышников А.В., Кропотов А.В., Седых Т.Н. Антиоксидантные свойства комбинированного препарата, содержащего янтарную кислоту, при тепловом воздействии на организм. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2021;1:76–79. DOI: 10.34215/1609-1175-2021-1-76-79.
23. Шахмарданова С.А., Гулевская О.Н., Хананашвили Я.А., Зеленская А.В., Нефедов Д.А., Галенко-Ярошевский П.А. Препараты янтарной и фумаровой кислот как средства профилактики и терапии различных заболеваний. *Журнал фундаментальной медицины и биологии*. 2016;3:16–30.
24. Ардатская М.Д., ред. Масляная кислота и инулин в клинической практике: теоретические аспекты и возможности клинического применения. М.: Форте принт; 2014. 64 с.
25. Готхалс Л., Горбакова А. Сравнительные характеристики бутиратов. *Комбикорма*. 2014;5:43–46.
26. Abd Alsaheb R.A., Aladdin A., Othma N.Z., Abd Malek R., Mei Leng O., Aziz R., El Enshasy H.A. Lactic acid applications in pharmaceutical and cosmeceutical industries. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 2015;7(10):729–735.
27. Тринеева О.В., Сливкин А.И., Воробаева С.С. Определение органических кислот в листьях крапивы двудомной. *Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация*. 2013;2:215–219.
28. Кадырова Р.Г., Кабиров Г.Ф., Муллахметов Р.Р. Синтез солей аспарагиновой кислоты щелочных и щелочноземельных металлов. *Ученые записки КГБВ им. Н.Э. Баумана*. 2012;1:156–161.
29. Разводовский Ю.Е., Смирнов В.Ю., Дорошенко Е.М., Перевезев В.А., Максимович Н.Е., Семененя И.Н. Эффекты совместного использования L-аргинина и омега-3 полиненасыщен-

ных жирных кислот на спектр аминокислот и биогенных аминов коры больших полушарий при субтотальной ишемии головного мозга. *Вестник Смоленской государственной медицинской академии*. 2021;20(2):5–11.

30. Лысыков Ю. А. Аминокислоты в питании человека. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2012;2:88–105.
31. Гафуров Б. Г. Эффективность противоотечного препарата L-лизина эсцината при церебральном инсульте. *Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. Спецвыпуски*. 2012;112(12–2):31–34.

REFERENCES

1. Zaigralova G. N., Kabanov S. V. Variability of morphological characters of *Aesculus hippocastanum* L. (common horse chestnut) in green spaces of Saratov. *Izvestia Orenburg State Agrarian University Theoretical and Scientific – Practical Journal*. 2019;5(79):128–132. (In Russ.)
2. Bogachev V. Yu., Boldin B. V., Turkin P. Yu. Horse chestnut extract. *Consilium Medicum*. 2022;24(1):42–48. (In Russ.)
3. Simon P., Lena M., Radial growth response of horse chestnut (*Aesculus hippocastanum* L.) trees to climate in Ljubljana, Slovenia. *Urban Forestry & Urban Greening*. 2016;18:110–116.
4. Porembskaya O. Ya. Topical remedies for chronic venous disease management. Composition as the basis of effectiveness. *Flebologiya*. 2020;14(4):322–327. (In Russ.) DOI: 10.17116/flebo202014041322.
5. Ozkan E. E., Mesut B., Polat A., Tan N. In vitro skin permeation of escin in the new gel formulation of *Aesculus hippocastanum* (Horse Chestnut). *J Fac Pharm Istanbul Istanbul Ecz Fak Derg*. 2016;46:79–88.
6. Belov P. V. Determination of the content of total flavonoids in aqueous-alcoholic extracts from the buds and flowers of horse chestnut (*Aesculus hippocastanum* L.). In: Postgraduate readings – 2018: Materials of the All-Russian scientific and practical conference with international participation. Samara. October 24, 2018. Samara: Limited Liability Company "Ofort"; Samara State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation; 2018. 122 p. (In Russ.)
7. Paterska M., Bandurska H., Wysłouch J., Molińska-Glura M., Moliński K. Chemical composition of horse-chestnut (*Aesculus*) leaves and their susceptibility to chestnut leaf miner *Cameraria ohridella* Deschka & Dimić. *Acta Physiologiae Plantarum*. 2017;39:105.
8. Idris S., Mishra A., Khushtar M. Phytochemical, ethnomedicinal and pharmacological applications of escin from *Aesculus hippocastanum* L. towards future medicine. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*. 2020;31(5). DOI: 10.1515/jbcpp-2019-0115.
9. Jacjuk V. Ya., Eleckaja O. A. Elemental composition of some types of raw materials *Aesculus hippocastanum* L. *Challenges in modern medicine*. 2017;26(275):158–167. (In Russ.)
10. Filatova A. V., Dzhurabaev D. T., Azimova L. B., Turaev A. S. Technology of separation of polysaccharides from the shells of the fruits of chestnut horse (*Aesculus hippocastanum* L.) and the study of its chemical composition. *ChemChemTech*. 2022;65(7):88–93. (In Russ.) DOI: 10.6060/ivkkt.20226507.6605.
11. Kurchenko V. P., Sushinskaja N. V., Majorova K. I., Tarun E. I., Bondaruk A. M., Cygankov V. G., Fatyhova S. A., Shabunja P. S. Composition of biologically active substances of horse chestnut (*Aesculus hippocastanum* L.). *Ecobiotech*. 2021;4(1):33–39. (In Russ.) DOI: 10.31163/2618-964X-2021-4-1-33-39.
12. Andreev D. N., Kucheryavyy Yu. A., Cheremushkin S. V., Maev I. V. The effectiveness of adding butyric acid to antispasmodic therapy regimens for irritable bowel syndrome: a meta-analysis of controlled studies. *Consilium Medicum*. 2020;22(8):27–31. (In Russ.) DOI: 10.26442/20751753.2020.8.200194.
13. Percival G. C., Holmes S. P. The influence of systemic inducing agents on horse chestnut leaf miner (*Cameraria ohridella*) severity in white flowering horse chestnut (*Aesculus hippocastanum* L.). *Urban Forestry & Urban Greening*. 2016;20:97–102.
14. Oszmiański J., Kalisz, S., Wojdyło A., The content of phenolic compounds in leaf tissues of white (*Aesculus hippocastanum* L.) and red horse chestnut (*Aesculus carea* H.) colonized by the horse chestnut leaf miner (*Cameraria ohridella* Deschka & Dimić). *Molecules*. 2014;19(9):14625–14636. DOI: 10.3390/molecules190914625.
15. Bielarska A. M., Jasek J. W., Kazimierzczak R., Hallmann E. Red Horse Chestnut and Horse Chestnut Flowers and Leaves: A Potential and Powerful Source of Polyphenols with High Antioxidant Capacity. *Molecules*. 2022;27(7):2279. DOI: 10.3390/molecules27072279.
16. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. In 4 volumes. 14th ed. Moscow: Ministry of Health of the Russian Federation Federations; 2018. (In Russ.)
17. Komarova N. V. A practical guide to the use of Capillary electrophoresis systems. St. Petersburg: Veda; 2006. 213 p. (In Russ.)
18. Chistyakova A. S., Gudkova A. A., Sorokina A. A., Slivkin A. I. Comparative study of the amino acid composition of representatives of the series *Persicariaeformes* Kom. and *Lapathiiformes* Worosch. *Chemistry of plant raw material*. 2019;4:157–162. (In Russ.) DOI: 10.14258/jcprm.2019044347.
19. Oleshko G. I., Yarygina T. I., Zorina E. V., Reshetnikova M. D. Development of a unified procedure to measure the sum of free amino acids in raw medicinal plant materials and extraction preparations. *Pharmacy*. 2011;3:14–17. (In Russ.)
20. Azhikova A. K. Quantitative determination of amino acids in leaves of *Ginkgo biloba* L. In: Modern trends in the development of health-saving technologies: Collection of proceedings of the Seventh Scientific Conference with international participation. Moscow. December 19, 2019. Volume 12. Moscow: FGBNU VILAR; 2019. P. 151–155. (In Russ.)
21. Trineeva O. V. Determination of amino acids in pharmaceutical substances of plant origin by physicochemical methods (using the example of sea buckthorn fruits and stinging nettle leaves). In: Contemporary New aspects of the use of plant raw materials and raw materials of natural origin in medicine: 5th scientific and practical conference. March 15, 2017. Moscow. 2017. P. 222–225. (In Russ.)
22. Li O. N., Tyrtysnikova A. V., Kropotov A. V., Sedyh T. N. Antioxidant properties of a combined medicine containing amberic acid with thermal influence on the organism. *Pacific Medical Journal*. 2021;1:76–79. (In Russ.) DOI: 10.34215/1609-1175-2021-1-76-79.
23. Shahmardanov S. A., Gulevskaja O. N., Hananashvili Ya. A., Zelenskaya A. V., Nefedov D. A., Galenko-Jaroshevsky P. A. Preparations of succinic and fumaric acids as a means of prevention and treatment of various diseases. *Zhurnal fundamental'noj mediciny i biologii*. 2016;3:16–30. (In Russ.)
24. Ardatskaya M. D., editor. Butyric acid and inulin in clinical practice: theoretical aspects and possibilities of clinical application. Moscow: Forte print. 2014. 64 p. (In Russ.)
25. Gothals L., Gorbakova A. Comparative characteristics of butyrates. *Kombikorma*. 2014;5:43–46. (In Russ.)
26. Abd Alsaheb R. A., Aladdin A., Othma N. Z., Abd Malek R., Mei Leng O., Aziz R., El Enshasy H. A. Lactic acid applications in pharmaceutical and cosmeceutical industries. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 2015;7(10):729–735
27. Trineeva O. V., Slivkin A. I., Voropaeva S. S. Determination of organic acids in leaves of stinging nettle. *Proceedings of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy*. 2013;2:215–219. (In Russ.)
28. Kadyrova R. G., Kabirov G. F., Mullahmetov R. R. Aspartic acid salts synthesis of alkali and alkaline-earth metals. *Uchenye zapiski KGAVM im. N. E. Bauman*. 2012;1:156–161.
29. Razvodovsky Yu. E., Smirnov V. Yu., Doroshenko E. M., Pereverzev V. A., Maksimovich N. E., Semeney I. N. Effects of combined administration of L-arginine and omega-3 polyunsaturated fatty acids on the spectrum of free amino acids and biogenic amines in the cortex of large hemispheres of rats undergoing subtotal cerebral ischemia. *Vestnik of the Smolensk State Medical Academy*. 2021;20(2):5–11. (In Russ.)
30. Lysikov Yu. A. Amino acids in human nutrition. *Experimental & clinical gastroenterology*. 2012;2:88–105. (In Russ.)
31. Gafurov B. G. Efficacy of the anti-edema drug L-lysine escinate in stroke. *Zhurnal Nevrologii i Psihiatrii imeni S. S. Korsakova. Specvypuski*. 2012;112(12–2):31–34. (In Russ.)