



## Оценка подлинности цветков каштана конского (*Aesculus hippocastanum* L.) методом растровой электронной микроскопии

А. Д. Дунилин, О. В. Тринеева✉

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

✉ Контактное лицо: Тринеева Ольга Валерьевна. E-mail: [trineevaov@mail.ru](mailto:trineevaov@mail.ru)

ORCID: А. Д. Дунилин – <https://orcid.org/0000-0001-6792-6877>;

О. В. Тринеева – <https://orcid.org/0000-0002-1421-5067>.

Статья поступила: 19.02.2024

Статья принята в печать: 11.12.2024

Статья опубликована: 13.12.2024

### Резюме

**Введение.** Каштан конский (*Aesculus hippocastanum* L.) – растение, широко используемое в официальной и народной медицине многих стран. Фармакопейным сырьем в Российской Федерации являются только семена каштана конского. Цветки, благодаря содержащейся в них фракции фенольных производных и тритерпеновых сапонинов, являются перспективным лекарственным растительным сырьем, предположительно обладающим венотонизирующим и мембранопротекторным действием. Для получения лекарственных растительных препаратов на основе цветков каштана конского требуется наличие нормативной документации, содержащей перечень показателей качества, в том числе описание признаков его подлинности (морфологии и анатомии). Одним из передовых методов, широко применяемых в медицине и в последнее время все чаще используемых в фармакогностическом анализе, является растровая электронная микроскопия. В отличие от традиционной световой микроскопии метод дает возможность получить объемное пространственное представление о диагностически значимых признаках лекарственного растительного сырья.

**Цель.** Целью исследования являлось изучение особенностей морфологии поверхности цветков каштана конского методом растровой электронной микроскопии.

**Материалы и методы.** Объектом исследования служили высушенные цельные цветки каштана конского обыкновенного (*Aesculus hippocastanum* L.), собранные в Воронежской области в 2023 году в начале цветения. Кусочки цветков предварительно напыляли кремнием на автоматической напылительной установке Q150R ES (Quorum Technologies Ltd., Великобритания). Микрофотографии получены на электронном микроскопе JSM-6510LV (JEOL Ltd., Япония).

**Результаты и обсуждение.** Микрофотографии, полученные в ходе анализа, показали диагностически значимые особенности строения цветка: эпидермальные клетки лепестков венчика многоугольные, неправильной формы, некоторые вытянутые, с извилистыми складками. Пыльцевые зерна могут быть собраны в гроздеобразные скопления, располагаться разрозненно или встречаться поодиночке. Поверхность лепестка венчика покрыта многочисленными, часто перекручивающимися волосками, имеющими грубобородавчатую структуру и конусовидное основание с четко выраженным местом крепления. Поверхность тычиночных нитей бороздчатая, с продольными складками с единичными одноклеточными волосками. Пыльник обладает складчатой формой, его поверхность выстилают чешуйчатые эпидермальные клетки с грубыми и утолщенными стенками. Поверхность чашечки, включая цветоножку, также густо опушена многочисленными трихомами.

**Заключение.** Метод растровой электронной микроскопии впервые использован для изучения морфолого-анатомических признаков цветков каштана конского. Уточнено строение основных диагностически значимых структур данного ЛРС. Определена морфология поверхности эпидермиса лепестков венчика и чашечки, трихом, пыльцевых нитей, пыльников и пыльцевых зерен цветков.

**Ключевые слова:** цветки каштана конского, *Aesculus hippocastanum* L., электронная растровая микроскопия, морфологические и микродиагностические признаки сырья

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

**Вклад авторов.** А. Д. Дунилин проводил заготовку и пробоподготовку сырья к выполнению исследования, им обнаружены морфологические признаки цветков каштана конского с применением растрового электронного микроскопа, а также обозначены все рисунки, отражающие основные результаты работы. Совместно с О. В. Тринеевой написал текст статьи. О. В. Тринеева консультировала по полученным результатам, писала разделы «Заключение» и «Результаты и обсуждение».

**Для цитирования:** Дунилин А.Д., Тринеева О.В. Оценка подлинности цветков каштана конского (*Aesculus hippocastanum* L.) методом растровой электронной микроскопии. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2025;14(1):245–253. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-1-1753>

## Assessment of the authenticity of horse chestnut (*Aesculus hippocastanum* L.) flowers by scanning electron microscopy

Alexander D. Dunilin, Olga V. Trineeva✉

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

✉ **Corresponding author:** Olga V. Trineeva. **E-mail:** [trineevaov@mail.ru](mailto:trineevaov@mail.ru)

**ORCID:** Alexander D. Dunilin – <https://orcid.org/0000-0001-6792-6877>;

Olga V. Trineeva – <https://orcid.org/0000-0002-1421-5067>.

**Received:** 19.02.2024

**Accepted:** 11.12.2024

**Published:** 13.12.2024

### Abstract

**Introduction.** Horse chestnut (*Aesculus hippocastanum* L.) is a plant widely used in official and folk medicine in many countries. Pharmacopoeia raw materials in the Russian Federation are only horse chestnut seeds. Flowers, due to the fraction of phenolic derivatives and triterpene saponins contained in them, are a promising medicinal plant raw material, presumably having a venotonizing and membrane-protective effect. To obtain medicinal herbal preparations based on horse chestnut flowers, it is required to have regulatory documentation containing a list of quality indicators, including a description of the signs of its authenticity (morphology and anatomy). Scanning electron microscopy is one of the advanced methods that have recently been increasingly used in medicine and pharmacognostic analysis. Unlike light microscopy, the method provides a three-dimensional spatial representation of diagnostically significant signs of medicinal plant raw materials.

**Aim.** The aim of the study was to study the morphology of the surface of horse chestnut flowers by scanning electron microscopy.

**Materials and methods.** The object of the study was dried whole flowers of horse chestnut (*Aesculus hippocastanum* L.), collected in the Voronezh region in 2023 at the beginning of flowering. The pieces of flowers were pre-sprayed with silicon on an automatic spraying unit Q150R ES (Quorum Technologies Ltd., Great Britain). Micrographs were obtained using the JSM-6510LV electron microscope (JEOL Ltd., Japan).

**Results and discussion.** The micrographs obtained during the analysis showed diagnostically significant features of the flower structure: the epidermal cells of the corolla petals are polygonal, irregularly shaped, some elongated with sinuous folds. Pollen grains can be collected in cluster-like clusters, located separately or found singly. The surface of the corolla petal is covered with numerous often twisting hairs having a rough-warped structure and a cone-shaped base with a clearly defined attachment point. The surface of the staminate filaments is striated, with longitudinal folds with single unicellular hairs. The anther has a folded shape, its surface is lined with scaly epidermal cells with rough and thickened walls. The surface of the calyx, including the pedicel, is also densely pubescent with numerous trichomes.

**Conclusion.** The scanning electron microscopy method was used for the first time to study the morphological and anatomical features of horse chestnut flowers. The structure of the main diagnostically significant structures of this LRS has been clarified. The morphology of the epidermis surface of the petals of the corolla and calyx, trichomes, pollen filaments, anthers and pollen grains of flowers has been determined. It has been established that carbon and oxygen are the predominant elements of the raw materials.

**Keywords:** horse chestnut flowers, *Aesculus hippocastanum* L., electron scanning microscopy, morphological and microdiagnostic signs of raw materials

**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.** Alexander D. Dunilin carried out the harvesting and sample preparation of raw materials for the study, he discovered morphological signs of horse chestnut flowers using a scanning electron microscope, and also marked all the drawings reflecting the main results of the work. Together with Olga V. Trineeva wrote the text of the article. Olga V. Trineeva consulted on the results obtained, wrote a conclusion and discussion of the results.

**For citation:** Dunilin A.D., Trineeva O.V. Assessment of the authenticity of horse chestnut (*Aesculus hippocastanum* L.) flowers by scanning electron microscopy. *Drug development & registration*. 2025;14(1):245–253. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-1-1753>

## ВВЕДЕНИЕ

Каштан конский (*Aesculus hippocastanum* L.) – растение, широко используемое в официальной и народной медицине многих стран. Сырье каштана конского, по данным литературы [1–6], обладает рядом фармакологических свойств, главным из которых в настоящее время принято считать его флеботоническое действие. Однако на данный момент на территории Российской Федерации в официальной медицине используются только семена каштана конского [7]. В связи с этим комплексное фармакогностическое изучение других морфологических частей данного растения является актуальным направлением исследований в рамках поиска новых источников биологически активных веществ (БАВ) природного происхождения. Из литературных источников известно, что цветки каштана конского являются перспективным лекарственным растительным сырьем (ЛРС) благодаря содержащейся в них совокупности многочисленных фенольных производных и тритерпеновых сапонинов, предположительно оказывающих комплексный венотонизирующий и мембранопротекторный эффект [8–10].

Для использования растительного сырья фармацевтическими производствами с целью получения лекарственных растительных препаратов (ЛРП) требуется наличие нормативной документации (НД), содержащей перечень показателей качества, в том числе описание признаков его подлинности (морфологии и анатомии). Одним из передовых методов, последнее время все чаще используемых в медицине и практике фармакогностического анализа, является растровая электронная микроскопия (РЭМ) [11–24]. Данный оптический метод позволяет изучать поверхность различных исследуемых образцов, в частности и ЛРС, включая встречающиеся на ней морфолого-анатомические структуры с высоким разрешением. В отличие от традиционной световой микроскопии метод дает возможность получить объемное пространственное представление о диагностически значимых признаках изучаемого ЛРС [25–26].

Однако стоит отметить, что в настоящее время данный метод не является фармакопейным в части анализа ЛРС, чаще всего РЭМ используется в различных наукоемких отраслях, металлургической промышленности и инженерии для оценки микроструктуры поверхности изделий [27–28]. На данный момент применение РЭМ в медицине и фармации используется для мониторинга поверхности некоторых лекарственных форм, анализа морфологических структур ЛРС или исследований структурных изменений в клетках и тканях организма [29–30]. В случае оценки подлинности ЛРС метод применим только для исследования цельного сырья и не позволяет выявить диагностически значимые признаки для измельченного и порошкового сырья, что следует отнести к его недостаткам.

**Целью исследования** являлось изучение особенностей морфологии поверхности цветков каштана конского методом растровой электронной микроскопии.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования служили высушенные цельные цветки каштана конского обыкновенного (*Aesculus hippocastanum* L.), собранные в Воронежской области в 2023 году в начале цветения. Сырье было высушено методом воздушно-теневого сушки. Для проведения исследования методом РЭМ кусочки цветков предварительно напыляли кремнием на автоматической напылительной установке Q150R ES (Quorum Technologies Ltd., Великобритания) для повышения проводимости. Микрофотографии получены на электронном микроскопе JSM-6510LV (JEOL Ltd., Япония). Обработка результатов проведена при помощи программного обеспечения ESPRIT 1.9. Исследования проведены с использованием приборной базы ЦКП научным оборудованием ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет».

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

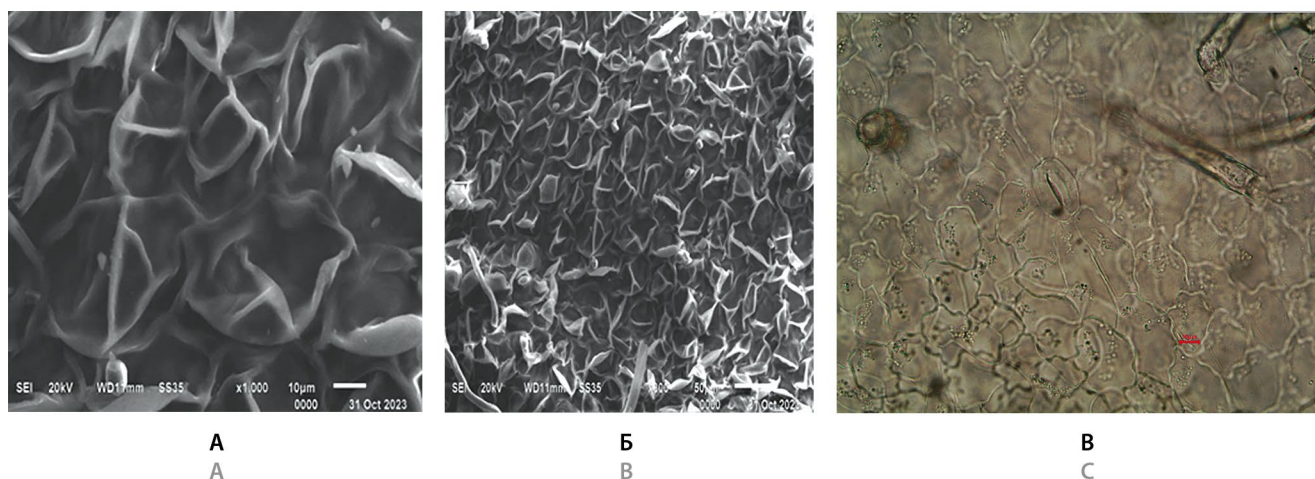
Для сравнения выявленных особенностей строения изучаемого сырья проводили сопоставление данных с фармакопейным методом идентификации ЛРС – световой микроскопией, примененной нами ранее [31]. Микрофотографии, полученные в ходе анализа, демонстрируют особенности морфологии поверхности цветков каштана конского в объемном изображении (рисунки 1–7).

Поверхность исследуемых образцов в результате высушивания приобрела специфический рельеф. Эпидермальные клетки лепестков венчика многоугольные, неправильной формы, некоторые вытянутые, с извилистыми складками. Клеточные стенки имеют утолщения (рисунок 1, А и Б). Пробоподготовка к проведению анализа методом световой микроскопии приводит к исчезновению морщинистого рельефа поверхности (рисунок 1, В).

На изучаемых образцах в большом количестве визуализируются пыльцевые зерна овальной формы с гладкой поверхностью, что не было идентифицировано при исследовании данного сырья фармакопейным методом световой микроскопии [31]. Пыльцевые зерна могут быть собраны в гроздеобразные скопления, располагаться разрозненно или встречаться поодиночке (рисунок 2, А–В).

Поверхность лепестка венчика покрыта многочисленными волосками, имеющими грубобородавчатую структуру и конусовидное основание с четко выраженным местом крепления (рисунок 3, А и Б). Волоски имеют различную длину, наиболее крупные и извилистые располагаются по краю лепестка венчика (рисунок 4, А). Трихомы на поверхности ле-



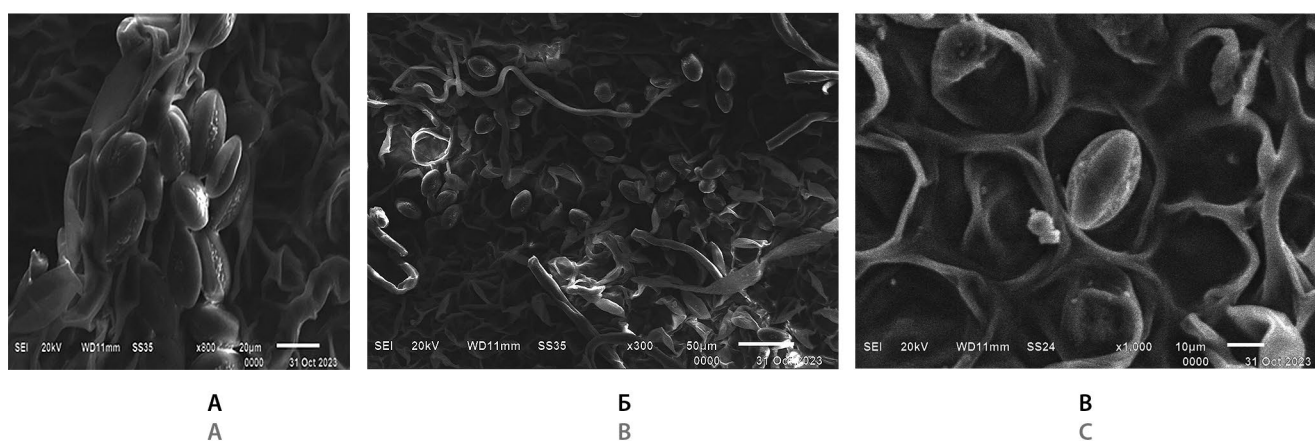


**Рисунок 1.** Фрагмент эпидермиса венчика цветка каштана конского.

**РЭМ:** эпидермальные клетки венчика цветка каштана конского, А – (ув.  $\times 1000$ ); Б – (ув.  $\times 300$ ); В – световая микроскопия (ув.  $\times 400$ )

**Figure 1.** Fragment of the epidermis of the corolla of the horse chestnut flower.

**REM:** epidermal cells of the corolla of the horse chestnut flower, А – (zoom  $\times 1000$ ); В – (zoom  $\times 300$ ); С – light microscopy (zoom  $\times 400$ )



**Рисунок 2.** Пыльцевые зерна.

**А** – сгруппированные пыльцевые зерна и эпидермальные клетки цветка конского каштана (ув.  $\times 800$ ); **Б** – разрозненно расположенные пыльцевые зерна цветка конского каштана (ув.  $\times 300$ ); **В** – единично расположенное пыльцевое зерно (ув.  $\times 1000$ )

**Figure 2.** Pollen grains.

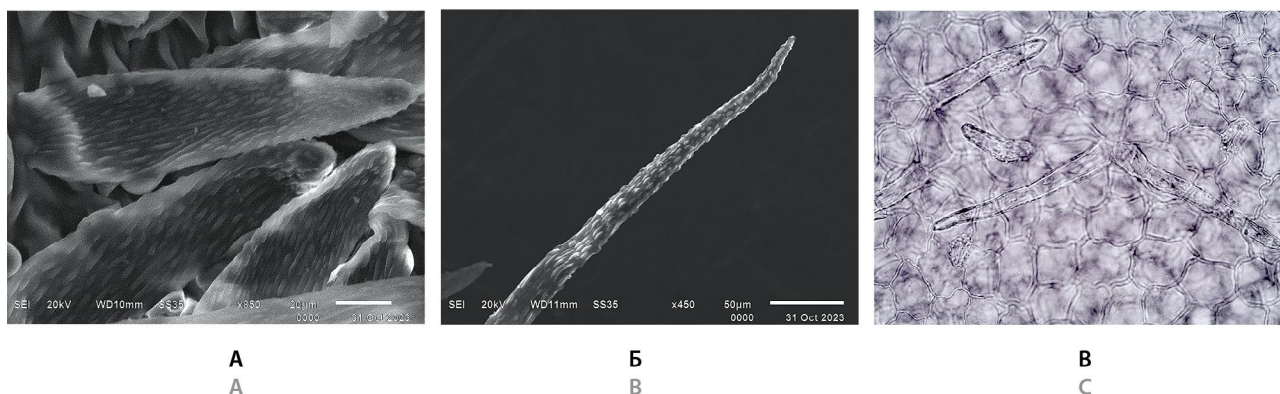
**А** – Grouped pollen grains and epidermal cells of horse chestnut flower (zoom  $\times 800$ ); **Б** – Scattered pollen grains of horse chestnut flower (zoom  $\times 300$ ); **С** – Single pollen grain (zoom  $\times 1000$ )

пестка часто перекручиваются, переплетаются между собой и могут обламываться (рисунок 4, Б). РЭМ с применением увеличения в 800 и более раз позволяет визуализировать шероховатую поверхность трихом данного сырья.

В результате изучения тычиночных нитей были отмечены характерные особенности поверхности: эпидермальные клетки не дифференцированы, поверхность тычиночных нитей бороздчатая, с продольными

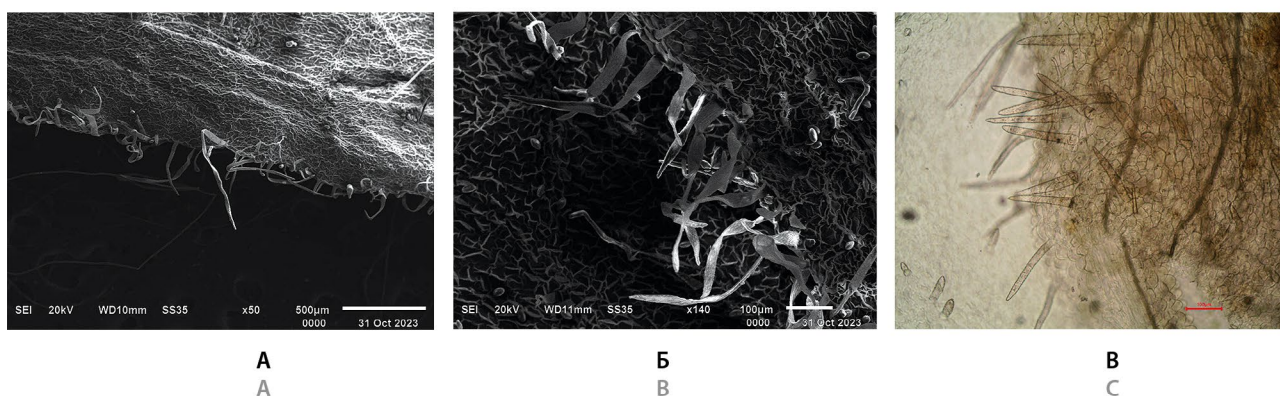
складками, что более четко можно увидеть на микрофотографии, полученной методом РЭМ (рисунок 5, А). На поверхности встречаются единичные одноклеточные волоски с грубобородавчатой структурой (рисунок 5).

Также в данной работе впервые были изучены морфологические особенности поверхности пыльника цветков каштана конского. Пыльник обладает складчатой формой, его поверхность выстилают чешуйча-



**Рисунок 3.** Грубобородавчатые волоски поверхности лепестка венчика цветка каштана конского.  
РЭМ, А – (ув.  $\times 850$ ); Б – (ув.  $\times 450$ ); В – световая микроскопия (ув.  $\times 400$ )

**Figure 3.** Coarse warty hairs on the surface of the petal of the corolla of the horse chestnut flower.  
REM, A – (zoom  $\times 850$ ); B – (zoom  $\times 450$ ); C – light microscopy (zoom  $\times 400$ )



**Рисунок 4.** Краевые волоски лепестка венчика цветка каштана конского.

РЭМ, А – (ув.  $\times 50$ ); Б – переплетенные волоски лепестка венчика каштана конского (ув.  $\times 140$ ); В – световая микроскопия (ув.  $\times 100$ )

**Figure 4.** Border hairs of the corolla petal of the horse chestnut flower.

REM, A – (zoom  $\times 50$ ); B – Intertwined hairs of the corolla petal of the horse chestnut (zoom  $\times 140$ ); C – light microscopy (zoom  $\times 100$ )

тые эпидермальные клетки с грубыми и утолщенными стенками. На поверхности пыльника визуализируются многочисленные пыльцевые зерна овальной формы с характерным вытянутым углублением в центральной части (рисунок 6, А и Б).

Поверхность чашечки, включая цветоножку, также густо опушена многочисленными трихомами (рисунок 7). Сплошное покрытие эпидермиса волосками затрудняет визуализацию иных диагностических характеристик данной структуры цветка, например размера и формы клеток, методом РЭМ.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

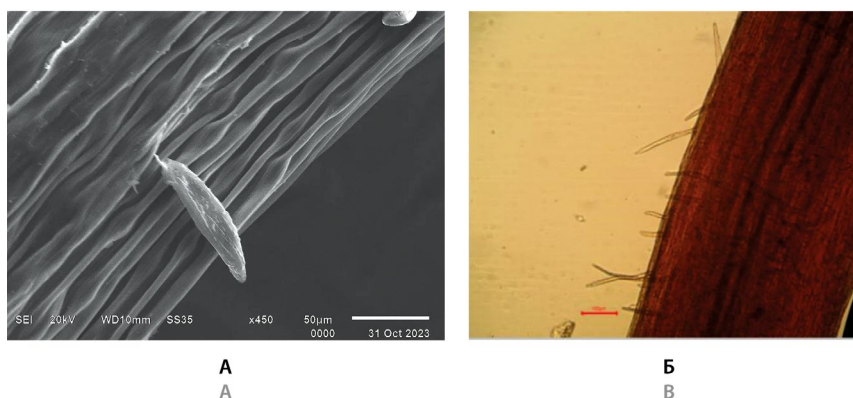
Метод растровой электронной микроскопии впервые использован для изучения морфолого-анатомических признаков цветков каштана конского. Уточ-

нено строение основных диагностически значимых структур данного ЛРС. Определена морфология поверхности эпидермиса лепестков венчика и чашечки, трихом, пыльцевых нитей, пыльников и пыльцевых зерен цветков. Полученные сведения дополняют и дают представление об объемном характере данных, полученных при исследовании цветков каштана конского фармакопейным методом световой микроскопии.

## ЛИТЕРАТУРА

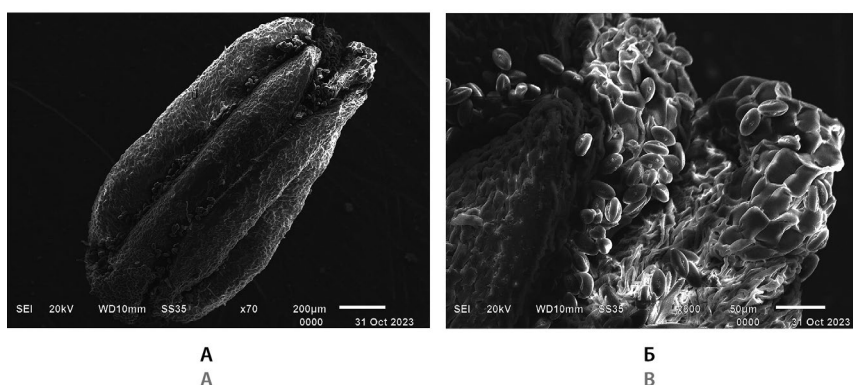
1. Bielarska A. M., Jasek J. W., Kazimierzczak R., Hallmann E. Red Horse Chestnut and Horse Chestnut Flowers and Leaves: A Potential and Powerful Source of Polyphenols with High Antioxidant Capacity. *Molecules*. 2022;27(7):2279. DOI: 10.3390/molecules27072279.





**Рисунок 5.** Бороздчатость поверхности тычиночных нитей цветка каштана конского.  
РЭМ, А – (ув.  $\times 450$ ); Б – световая микроскопия (ув.  $\times 100$ )

**Figure 5.** Grooves on the surface of the staminate thread of the horse chestnut flower.  
REM, A – (zoom  $\times 450$ ); B – light microscopy (zoom  $\times 100$ )

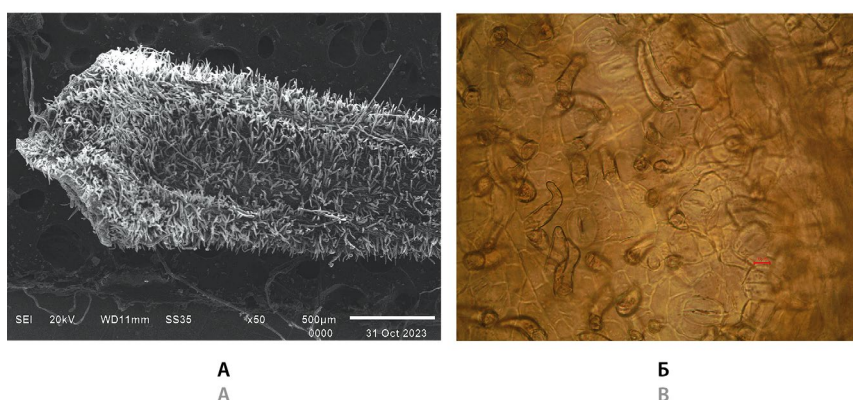


**Рисунок 6.** Морфология поверхности пыльника цветка каштана конского:

А – полноразмерный пыльник цветка каштана конского (ув.  $\times 70$ ); Б – чешуйчатые клетки пыльника и пыльцевые зерна (ув.  $\times 300$ )

**Figure 6.** Morphology of the anther surface of the horse chestnut flower:

А – full-size anther of the horse chestnut flower (zoom  $\times 70$ ); Б – scaly anther cells and pollen grains (zoom  $\times 300$ )



**Рисунок 7.** Морфология поверхности цветоножки цветка каштана конского.

РЭМ, А – (ув.  $\times 50$ ); Б – световая микроскопия (ув.  $\times 400$ )

**Figure 7.** Morphology of the pedicel surface of the horse chestnut flower.

REM, A – (zoom  $\times 50$ ); B – light microscopy (zoom  $\times 400$ )

2. Zhang Z., Li S., Lian X.-Y. An Overview of Genus *Aesculus* L.: Ethnobotany, Phytochemistry, and Pharmacological Activities. *Pharmaceutical Crops*. 2010;1:24–51. DOI: 10.2174/2210290601001010024.
3. Pittler M. H., Ernst E. Horse chestnut seed extract for chronic venous insufficiency. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2012;11(11):CD003230. DOI: 10.1002/14651858.CD003230.pub4.
4. Mojžišová G., Mojžiš J., Pilátová M., Varinská L., Ivanová L., Strojný L., Richnavský J. Antiproliferative and antiangiogenic properties of horse chestnut extract. *Phytotherapy Research*. 2013;(2):159–65. DOI: 10.1002/ptr.4688.
5. Methlie C. B., Schjøtt J. Hestekastanje – naturlegemiddel mot venøs insuffisiens *Tidsskrift for Den norske legeförening*. 2009;129(5):420–422. (In Norwegian) DOI: 10.4045/tidsskr.09.33871.
6. Salinas F. M., Vázquez L., Gentilini M. V., O'Donohoe A., Regueira E., Nabaes Jodar M. S., Viegas M., Michelini F. M., Hermida G., Alché L. E., Bueno C. A. *Aesculus hippocastanum* L. seed extract shows virucidal and antiviral activities against respiratory syncytial virus (RSV) and reduces lung inflammation in vivo. *Antiviral Research*. 2019;164:1–11. DOI: 10.1016/j.antiviral.2019.01.018.
7. Занина И. А., Дунилин А. Д., Чистякова А. С., Евсиков Ф. Д. Анализ рынка лекарственных препаратов, содержащих сырье каштана конского. *Вопросы обеспечения качества лекарственных средств*. 2023;1(39):37–42.
8. Idris S., Mishra A., Khushtar M. Phytochemical, ethanomedicinal and pharmacological applications of escin from *Aesculus hippocastanum* L. towards future medicine. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*. 2020;31(5):20190115. DOI: 10.1515/jbcpp-2019-0115.
9. Ottillinger B., Greeske K. Rational therapy of chronic venous insufficiency – chances and limits of the therapeutic use of horse-chestnut seeds extract. *BMC Cardiovascular Disorders*. 2001;1:5. DOI: 10.1186/1471-2261-1-5.
10. Guillaume M., Padioleau F. Veinotonic effect, vascular protection, antiinflammatory and free radical scavenging properties of horse chestnut extract. *Arzneimittelforschung*. 1994;44(1):25–35.
11. Камалова Ю. Б. Разработка алгоритма распознавания изображений зерен пыльцы, полученных с помощью растрового электронного микроскопа, и статистический анализ их информативных параметров. *Вестник ИжГТУ имени М. Т. Калашникова*. 2014;2(62):115–117.
12. Nguyen J. N. T., Harbison A. M. Scanning Electron Microscopy Sample Preparation and Imaging. *Methods in Molecular Biology*. 2017;1606:71–84. DOI: 10.1007/978-1-4939-6990-6\_5.
13. Гудкова А. А., Чистякова А. С., Синьская Д. А., Сливкин А. И., Болгов А. С., Болгова М. А. Растровая электронная микроскопия в анализе видов рода *Persicaria* Mill. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2022;11(1):99–105. DOI: 10.33380/2305-2066-2022-11-1-99-105.
14. Ковалева Н. А., Тринеева О. В. Применение растровой электронной микроскопии для изучения морфолого-анатомических признаков облепихи крушиновидной листьев. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2023;12(2):79–86. DOI: 10.33380/2305-2066-2023-12-2-79-86.
15. Mazzara E., Torresi J., Fico G., Papini A., Kulbaka N., Dall'Acqua S., Sut S., Garzoli S., Mustafa A. M., Cappellacci L., Fiorini D., Maggi F., Giuliani C., Petrelli R. A Comprehensive Phytochemical Analysis of Terpenes, Polyphenols and Cannabinoids, and Micromorphological Characterization of 9 Commercial Varieties of *Cannabis sativa* L. *Plants*. 2022;11(7):891. DOI: 10.3390/plants11070891.
16. Manassov N., Samy M. N., Datkhayev U., Avula B., Adams S. J., Katragunta K., Raman V., Khan I. A., Ross S. A. Ultrastructural, Energy-Dispersive X-ray Spectroscopy, Chemical Study and LC-DAD-QToF Chemical Characterization of *Cetraria islandica* (L.) Ach. *Molecules*. 2023;28(11):4493. DOI: 10.3390/molecules28114493.
17. Ramos G. Q., Cotta E. A., da Fonseca Filho H. D. Studies on the ultrastructure in *Anacardium occidentale* L. leaves from Amazon in northern Brazil by scanning microscopy. *Scanning*. 2016;38(4):329–335. DOI: 10.1002/sca.21274.
18. Kedar K. A., Chaudhari S. R., Rao A. S. Dataset on leaf surface and elemental study of four species of Bignoniaceae family by SEM-EDAX. *Data in Brief*. 2018;17:1188–1195. DOI: 10.1016/j.dib.2018.02.037.
19. Abilkassymova A., Kozykeyeva R., Aldana-Mejía J. A., Adams S. J., Datkhayev U., Turgumbayeva A., Orynbasarova K., Saroja S. G., Khan I. A., Ross S. A. Phytochemical and Micro-Morphological Characterization of *Atraphaxis pyrifolia* Bunge Growing in the Republic of Kazakhstan. *Molecules*. 2024;29(4):833. DOI: 10.3390/molecules29040833.
20. Ahmad I., Hikmawan B. D., Maharani D. F., Nisrina N., Arianti A. E., Mun'im A. Natural Deep Eutectic Solvent based Ultrasound-assisted extraction: A green approach for extraction of sulfhydryl and mimosine from *Leucaena leucocephala* (Lam) de Wit seeds. *Heliyon*. 2023;9(10):e20480. DOI: 10.1016/j.heliyon.2023.e20480.
21. Zhang Z., Lu L., Liu Y., Qing L. Comparing and authenticating on anatomical aspects of *Abrus cantoniensis* and *Abrus mollis* by microscopy. *Pharmacognosy Research*. 2015;7(2):148–155. DOI: 10.4103/0974-8490.150526.
22. Yue Y., Qiu Z.-D., Qu X.-Y., Deng A.-P., Yuan Y., Huang L.-Q., Lai C.-J.-S. Discoursing on Soxhlet extraction of ginseng using association analysis and scanning electron microscopy. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 2018;8(5):312–317. DOI: 10.1016/j.jppha.2018.08.003.
23. Munir A., Youssef F. S., Ishtiaq S., Kamran S. H., Sirwi A., Ahmed S. A., Ashour M. L., Elhady S. S. *Malva parviflora* Leaves Mucilage: An Eco-Friendly and Sustainable Biopolymer with Antioxidant Properties. *Polymers*. 2021;13(23):4251. DOI: 10.3390/polym13234251.
24. Kanne H., Pandurang Burte N., Prasanna V., Gujjula R. Extraction and elemental analysis of *Coleus forskohlii* extract. *Pharmacognosy Research*. 2015;7(3):237–241. DOI: 10.4103/0974-8490.157966.
25. Franks R. G. Scanning electron microscopy analysis of floral development. *Methods in Molecular Biology*. 2014;1110:263–273. DOI: 10.1007/978-1-4614-9408-9\_13.
26. Chwil M., Weryszko-Chmielewska E., Sulborska A., Michorńska M. Micromorphology of trichomes in the flowers of the horse chestnut *Aesculus hippocastanum* L. *Acta Agrobotanica*. 2013;66(4):45–54. DOI: 10.5586/aa.2013.050.
27. Fischer E. R., Hansen B. T., Nair V., Hoyt F. H., Dorward D. W. Scanning electron microscopy. *Current Protocols in Microbiology*. 2012;25:2B.2.1–2B.2.47. DOI: 10.1002/9780471729259.mc02b02s25.

28. Matsuda K., Ikeno S., Müllerová I., Frank L. The potential of the scanning low energy electron microscopy for the examination of aluminum based alloys and composites. *Journal of Electron Microscopy.* 2005;54(2):109–117. DOI: 10.1093/jmicro/dfi030.
29. Nomura E., Sujino T., Hosoe N., Yoshimatsu Y., Tanemoto S., Takabayashi K., Mutaguchi M., Shimoda M., Naganuma M., Ogata H., Kanai T. Characteristics of the Mucosal Surface on Scanning Electron Microscopy in Patients with Remitting Ulcerative Colitis. *Digestive Diseases and Sciences.* 2021;66(9):3141–3148. DOI: 10.1007/s10620-020-06609-4.
30. Наумов Н. М. Растровая электронная микроскопия капсулированного полигуанидина в пектине. В сб: Научное обеспечение агропромышленного производства. Материалы Международной научно-практической конференции. 20–21 февраля 2018. Курск; 2018. С. 43–47.
31. Чистякова А. С., Сорокина А. А., Дунилин А. Д., Гудкова А. А., Болгов А. С. Оценка подлинности каштана конского обыкновенного цветков методами микроскопического анализа. *Фармация.* 2021;70(7):32–36. DOI: 10.29296/25419218-2021-07-05.

## REFERENCES

1. Bielarska A. M., Jasek J. W., Kazmierczak 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.
2. Zhang Z., Li S., Lian X.-Y. An Overview of Genus *Aesculus* L.: Ethnobotany, Phytochemistry, and Pharmacological Activities. *Pharmaceutical Crops.* 2010;1:24–51. DOI: 10.2174/2210290601001010024.
3. Pittler M. H., Ernst E. Horse chestnut seed extract for chronic venous insufficiency. *Cochrane Database of Systematic Reviews.* 2012;11(11):CD003230. DOI: 10.1002/14651858.CD003230.pub4.
4. Mojžišová G., Mojžiš J., Pilátová M., Varinská L., Ivanová L., Strojný L., Richnavský J. Antiproliferative and antiangiogenic properties of horse chestnut extract. *Phytotherapy Research.* 2013;(2):159–65. DOI: 10.1002/ptr.4688.
5. Methlie C. B., Schjøtt J. Hestekastanje – naturlegemiddel mot venøs insuffisiens *Tidsskrift for Den norske legeförening.* 2009;129(5):420–422. (In Norwegian) DOI: 10.4045/tidsskr.09.33871.
6. Salinas F. M., Vázquez L., Gentilini M. V., O'Donohoe A., Regueira E., Nabaes Jodar M. S., Viegas M., Michelini F. M., Hermida G., Alché L. E., Bueno C. A. *Aesculus hippocastanum* L. seed extract shows virucidal and antiviral activities against respiratory syncytial virus (RSV) and reduces lung inflammation in vivo. *Antiviral Research.* 2019;164:1–11. DOI: 10.1016/j.antiviral.2019.01.018.
7. Zanina I. A., Dunikin A. D., Chistyakova A. S., Evsikov F. D. Analysis of the market of medicines containing raw materials of horse chestnut. *Voprosy obespecheniya kachestva lekarstvennykh sredstv.* 2023;1(39):37–42. (In Russ.)
8. Idris S., Mishra A., Khushtar M. Phytochemical, ethanomedicinal and pharmacological applications of escin from *Aesculus hippocastanum* L. towards future medicine. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology.* 2020;31(5):20190115. DOI: 10.1515/jbcpp-2019-0115.
9. Ottillinger B., Greeske K. Rational therapy of chronic venous insufficiency – chances and limits of the therapeutic use of horse-chestnut seeds extract. *BMC Cardiovascular Disorders.* 2001;1:5. DOI: 10.1186/1471-2261-1-5.
10. Guillaume M., Padioleau F. Veinotonic effect, vascular protection, antiinflammatory and free radical scavenging properties of horse chestnut extract. *Arzneimittelforschung.* 1994;44(1):25–35.
11. Kamalova Yu. B. Development of an algorithm for recognizing images of pollen grains obtained using a scanning electron microscope and statistical analysis of their informative parameters. *Vestnik IzhGTU imeni M. T. Kalashnikova.* 2014;2(62):115–117. (In Russ.)
12. Nguyen J. N. T., Harbison A. M. Scanning Electron Microscopy Sample Preparation and Imaging. *Methods in Molecular Biology.* 2017;1606:71–84. DOI: 10.1007/978-1-4939-6990-6\_5.
13. Gudkova A. A., Chistyakova A. S., Sinetskaya D. A., Slivkin A. I., Bolgov A. S., Bolgova M. A. Scanning Electron Microscopy in the Analysis of Species of the Genus *Persicaria* Mill. *Drug development & registration.* 2022;11(1):99–105. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2022-11-1-99-105.
14. Kovaleva N. A., Trineeva O. V. Application of Scanning Electron Microscopy to Study Morphological and Anatomical Features of Sea Buckthorn Leaves. *Drug development & registration.* 2023;12(2):79–86. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2023-12-2-79-86.
15. Mazzara E., Torresi J., Fico G., Papini A., Kulbaka N., Dall'Acqua S., Sut S., Garzoli S., Mustafa A. M., Cappellacci L., Fiorini D., Maggi F., Giuliani C., Petrelli R. A Comprehensive Phytochemical Analysis of Terpenes, Polyphenols and Cannabinoids, and Micromorphological Characterization of 9 Commercial Varieties of *Cannabis sativa* L. *Plants.* 2022;11(7):891. DOI: 10.3390/plants11070891.
16. Manassov N., Samy M. N., Datkhayev U., Avula B., Adams S. J., Katragunta K., Raman V., Khan I. A., Ross S. A. Ultrastructural, Energy-Dispersive X-ray Spectroscopy, Chemical Study and LC-DAD-QToF Chemical Characterization of *Cetraria islandica* (L.) Ach. *Molecules.* 2023;28(11):4493. DOI: 10.3390/molecules28114493.
17. Ramos G. Q., Cotta E. A., da Fonseca Filho H. D. Studies on the ultrastructure in *Anacardium occidentale* L. leaves from Amazon in northern Brazil by scanning microscopy. *Scanning.* 2016;38(4):329–335. DOI: 10.1002/sca.21274.
18. Kedar K. A., Chaudhari S. R., Rao A. S. Dataset on leaf surface and elemental study of four species of Bignoniaceae family by SEM-EDAX. *Data in Brief.* 2018;17:1188–1195. DOI: 10.1016/j.dib.2018.02.037.
19. Abilkassymova A., Kozykeyeva R., Aldana-Mejía J. A., Adams S. J., Datkhayev U., Turgumbayeva A., Orynbasarova K., Saroja S. G., Khan I. A., Ross S. A. Phytochemical and Micro-Morphological Characterization of *Atraphaxis pyrifolia* Bunge Growing in the Republic of Kazakhstan. *Molecules.* 2024;29(4):833. DOI: 10.3390/molecules29040833.
20. Ahmad I., Hikmawan B. D., Maharani D. F., Nisrina N., Ariefanti A. E., Mun'im A. Natural Deep Eutectic Solvent based Ultrasound-assisted extraction: A green approach for extraction of sulfhydryl and mimosine from *Leucaena leucocephala* (Lam) de Wit seeds. *Heliyon.* 2023;9(10):e20480. DOI: 10.1016/j.heliyon.2023.e20480.



21. Zhang Z., Lu L., Liu Y., Qing L. Comparing and authenticating on anatomical aspects of *Abrus cantoniensis* and *Abrus mollis* by microscopy. *Pharmacognosy Research*. 2015;7(2):148–155. DOI: 10.4103/0974-8490.150526.
22. Yue Y., Qiu Z.-D., Qu X.-Y., Deng A.-P., Yuan Y., Huang L.-Q., Lai C.-J.-S. Discouraging on Soxhlet extraction of ginseng using association analysis and scanning electron microscopy. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 2018;8(5):312–317. DOI: 10.1016/j.jpha.2018.08.003.
23. Munir A., Youssef F. S., Ishtiaq S., Kamran S. H., Sirwi A., Ahmed S. A., Ashour M. L., Elhady S. S. *Malva parviflora* Leaves Mucilage: An Eco-Friendly and Sustainable Biopolymer with Antioxidant Properties. *Polymers*. 2021;13(23):4251. DOI: 10.3390/polym13234251.
24. Kanne H., Pandurang Burte N., Prasanna V., Gujjula R. Extraction and elemental analysis of *Coleus forskohlii* extract. *Pharmacognosy Research*. 2015;7(3):237–241. DOI: 10.4103/0974-8490.157966.
25. Franks R. G. Scanning electron microscopy analysis of floral development. *Methods in Molecular Biology*. 2014;1110:263–273. DOI: 10.1007/978-1-4614-9408-9\_13.
26. Chwil M., Weryszko-Chmielewska E., Sulborska A., Michońska M. Micromorphology of trichomes in the flowers of the horse chestnut *Aesculus hippocastanum* L. *Acta Agrobotanica*. 2013;66(4):45–54. DOI: 10.5586/aa.2013.050.
27. Fischer E. R., Hansen B. T., Nair V., Hoyt F. H., Dorward D. W. Scanning electron microscopy. *Current Protocols in Microbiology*. 2012;25:2B.2.1–2B.2.47. DOI: 10.1002/9780471729259.mc02b02s25.
28. Matsuda K., Ikeno S., Müllerová I., Frank L. The potential of the scanning low energy electron microscopy for the examination of aluminum based alloys and composites. *Journal of Electron Microscopy*. 2005;54(2):109–117. DOI: 10.1093/jmicro/dfi030.
29. Nomura E., Sujino T., Hosoe N., Yoshimatsu Y., Tanemoto S., Takabayashi K., Mutaguchi M., Shimoda M., Naganuma M., Ogata H., Kanai T. Characteristics of the Mucosal Surface on Scanning Electron Microscopy in Patients with Remitting Ulcerative Colitis. *Digestive Diseases and Sciences*. 2021;66(9):3141–3148. DOI: 10.1007/s10620-020-06609-4.
30. Naumov N. M. Scanning electron microscopy of encapsulated polyguanidine in pectin. In: Scientific support of agro-industrial production. Materials of the International Scientific and practical Conference. 20–21 February, 2018. Kursk; 2018. P. 43–47. (In Russ.)
31. Chistyakova A. S., Sorokina A. A., Dunilin A. D., Gudkova A. A., Bolgov A. S. Assessment of the identity of horse chestnut (*Aesculus hippocastanum* L.) flowers by microscopic analysis methods. *Pharmacy*. 2021;70(7):32–36. (In Russ.) DOI: 10.29296/25419218-2021-07-05.