

## ИЗУЧЕНИЕ И ЯМР-АНАЛИЗ СУХОГО ОЧИЩЕННОГО ЭКСТРАКТА КАШТАНА КОНСКОГО ОБЫКНОВЕННОГО (*AESCULUS HIPPOCASTANUM* L.)

### В.И. Шейченко

к.ф.-м.н., вед. науч. сотрудник, отдел стандартизации и сертификации,  
Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений (Москва)  
E-mail: vilarnii.sheychenko@mail.ru

### А.Ф. Азаркова

к.фарм.н., вед. науч. сотрудник, отдел фитохимии,  
Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений (Москва)

### А.И. Мешков

ст. науч. сотрудник, отдел фитохимии,  
Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений (Москва)

### В.А. Тимошина

лаборант, отдел фитохимии,  
Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений (Москва)

### О.П. Шейченко

к.х.н., зам. руководителя Центра химии и фармацевтической технологии,  
Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений (Москва)

### Е.В. Ферубко

к.м.н., зав. отделом экспериментальной и клинической фармакологии,  
Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений (Москва)

### Е.Н. Курманова

науч. сотрудник, отдел экспериментальной и клинической фармакологии,  
Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений (Москва)

Разработан способ получения сухого очищенного экстракта (СОЭ) семян каштана конского. Методом  $^1\text{H}$  ЯМР-спектроскопии определено содержание суммы тритерпеновых гликозидов в СОЭ с использованием стандартного образца эсцина.

**Ключевые слова:** семена каштана конского обыкновенного, сухой очищенный экстракт, сумма тритерпеновых гликозидов, ЯМР-спектроскопия, количественное определение, противовоспалительное и ангиопротекторное действие.

Во Всероссийском научно-исследовательском институте лекарственных и ароматических растений (ФГБНУ ВИЛАР) проведены исследования по технологии получения сухого очищенного экстракта (СОЭ) семян каштана конского обыкновенного (*Aesculus hippocastanum* L.) семейства конскокаштановые (Hippocastanaceae) [1].

Согласно литературным данным, в семенах каштана конского обыкновенного найдены тритерпеновые гликозиды (ТГ), которые являются преобладающей группой биологически активных соединений, а также флавоноиды и кумарины [2, 3]. Флавоноиды представлены би- и триозидами кверцетина и кемпферола.

Из 25 флавоноидов, обнаруженных в семенах каштана конского, выделены следующие соединения: кверцетин-4'-диглюкозид, кемпферол-3-4'-

диглюкозид, кемпферол-3-глюкоксилотриозид, кверцетин-3-ксилоглюкозид, кемпферол-3-глюкорамнотриозид, кверцетин-3-ксилоглюкозид, кемпферол-3-глюкорамнобиозид и кверцетин-3-глюкобиозид. Содержание суммы флавоноидов в семенах достигает 0,5 %.

Ранее учеными из семян каштана конского выделено и идентифицировано около 30 индивидуальных соединений, которые объединяют под общим названием «эсцин» [4].

В настоящее время установлено, что структура эсцина представляет собой сложный комплекс олиокситритерпеновых гликозидов, этерифицированных карбоновыми кислотами [2–4], среди которых основными являются четыре соединения: эсцин Ia и Ib, изоэсцин Ia и Ib, структурные формулы которых представлены на рис. 1.

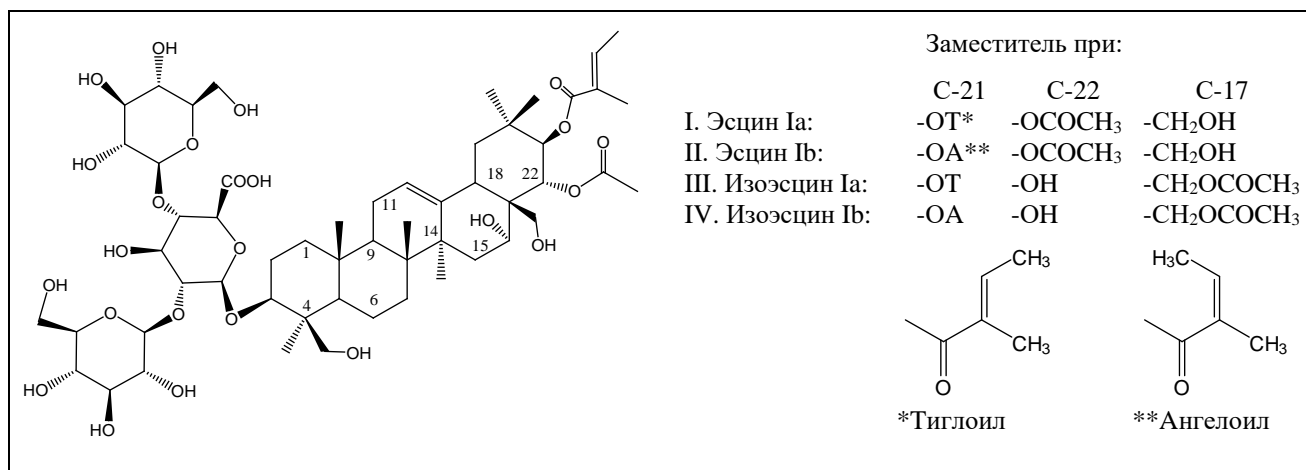


Рис. 1. Преобладающие компоненты в субстанции СОЭ каштана конского обыкновенного

Семена каштана конского содержат 3–10% эсцина, 0,9% дубильных веществ, 49,5% крахмала, 35–40% сахарозы и 6–8% жирного масла с преобладанием в его составе жирных кислот (олеиновой, линолевой и пальметиновой). Кроме того, в семенах каштана обнаружены стерины, кумарины (фраксин и эскулин), аминокислоты, белки и пуриновые основания (аденин, аденозин, гуанин, мочевая кислота), витамины группы В, а также Е, С, К. Найдены макроэлементы, мг/г: К – 12,0, Са – 0,5, Mg – 0,9, Fe – 0,01, а также микроэлементы, мкг/г: Mn – 0,02, Cu – 0,12, Zn – 0,08, Cr – 0,002, Ва – 0,74, Se – 7,5, Ni – 0,02, Рb – 0,01, I – 0,09, В – 2,0. Семена кумулируют Se [3–6].

На основе экстрактов каштана конского выпускаются препараты «Анавенол», «Венитан», «Веноплант», «Веностезин», «Флавозид», «Эскузан», «Эссавен-гель» и другие [2–4, 6, 7], генином которых является тритерпен β-амиринового типа.

Определение действующих веществ в сухих экстрактах проводится с использованием физико-химических методов исследования, таких как высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ). Чаще всего в методиках ВЭЖХ в качестве стандарта используют либо сумму 14 пиков эсцина, либо определяют из четырех основных только эсцин Ia, также находят сумму всех четырех. Ранее использовались методы потенциометрического титрования 0,02 н. раствором едкого натра, спектрофотометрического определения окрашенного комплекса эсцина с хлоридом железа в кислой среде при длинах волн 605 и 540 нм, денситометрической тонкослойной хроматографии [8–11]. Часто при пробоподготовке используют щелочной гидролиз [12–16].

Цель исследования – получение сухого очищенного экстракта из семян каштана конского обыкновенного и количественное определение в нем суммы тритерпеновых гликозидов методом ЯМР-спектроскопии.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В качестве исходного сырья использовались семена каштана конского обыкновенного, собранные на опытном участке Ботанического сада ФГБНУ ВИЛАР в фазу созревания в 2013 г.

Объектом исследования служил СОЭ каштана конского обыкновенного. Метод исследования – ЯМР-спектроскопия.

Спектры получены на ЯМР-спектрометре GEMINI 200; рабочая частота – 200 МГц. Навеску около 0,01 г растворяли в 0,6 мл спирта метилового – D<sub>4</sub> (3,30 м.д.), фильтровали и переносили в ампулу для снятия спектров. Время регистрации одного спектра (параметр AT) – 2 с без релаксационной задержки, число накоплений (NT) – 512. Параметры для снятия спектров COSY взяты из пакета стандартных программ. Время релаксационной задержки – 0,2 с, параметры NI=128, NT=64. Все спектры получены и математически обработаны при одних и тех же значениях параметров.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Сухой очищенный экстракт каштана конского представляет собой аморфный порошок светлорусого цвета со специфическим запахом. Он легко растворяется в воде, образуя прозрачные растворы красновато-бурого цвета; малорастворим в 96%-ном этиловом спирте; практически не растворим в

диэтиловом эфире и хлороформе. Состав СОЭ каштана конского был изучен с целью выявить присутствие различных соединений с помощью качественных реакций, тонкослойной хроматографии (ТСХ) и ЯМР-спектроскопии. В результате были обнаружены тритерпеновые и флавоноидные гликозиды, дубильные вещества, сахара и в небольшом количестве белки и аминокислоты. Доминирующий класс соединений – ТГ.

Сухой очищенный экстракт каштана конского оказывает дозозависимый противоотечный эффект, подавляет развитие экспериментального перитонита, уменьшая образование количества брюшного экссудата; оказывает капилляроукрепляющее действие, снижая проницаемость капилляров в очаге локального воспаления кожи. Установлено, что СОЭ обладает анальгетическими свойствами, повышает порог болевой чувствительности в ранние сроки после введения, уменьшает количество ноцицептивных ответов типа «корчи». На основании проведенных экспериментов можно говорить о том, что СОЭ каштана конского перспективен для разработки на его основе лекарственного средства для профилактики и лечения заболеваний, связанных с сосудистыми нарушениями, в том числе хронической венозной недостаточности. Противовоспалительное и ангиопротекторное действие большинства известных фитопрепаратов обусловлено суммой ТГ.

Для контроля качества СОЭ каштана конского разработан метод анализа суммы ТГ на основе

ЯМР-спектроскопии. Были исследованы четыре опытно-промышленные серии СОЭ каштана конского, полученные в условиях производственно-экспериментального цеха ФГБНУ ВИЛАР.

**ЯМР-анализ СОЭ каштана конского.** Для анализа (подлинность, примеси, соотношение количеств эсцина и примесей, количественное определение) использован метод  $^1\text{H}$  ЯМР (одномерная и двумерная спектроскопия). Приведем описание одномерного  $^1\text{H}$  ЯМР-спектра эсцина.

В отдельных областях спектра эсцина (рис. 2), который является суммой ЯМР-спектров всех эсцинов (тритерпеновых гликозидов), проявляются следующие фрагменты молекул. Протоны генинов, в геминальном положении к которым нет атома кислорода, дают сигналы в области спектра 0,5–2,2 м.д. Сигнал в области 2,4–2,7 м.д. относится к двум аллильным протонам (при С-11 и С-17). Протоны генина, в геминальном положении к которым находится атом кислорода, а также гликозидные протоны дают сигналы в области 3–5 м.д. От 5 до 6 м.д. в спектре расположены сигналы протонов генина, в геминальном положении к которым находятся ацильные остатки (ацетильные, ангелоильные, тиглоильные).

Интенсивный сигнал при 5,4 м.д. относится к протону генина при двойной связи (H-12). Этот сигнал присутствует во всех спектрах тритерпенов  $\beta$ -амиринового типа. Протоны при двойной связи остатков ангеликовой и тиглиновой кислот дают сигналы при 6,1 и 6,8 м.д. соответственно.

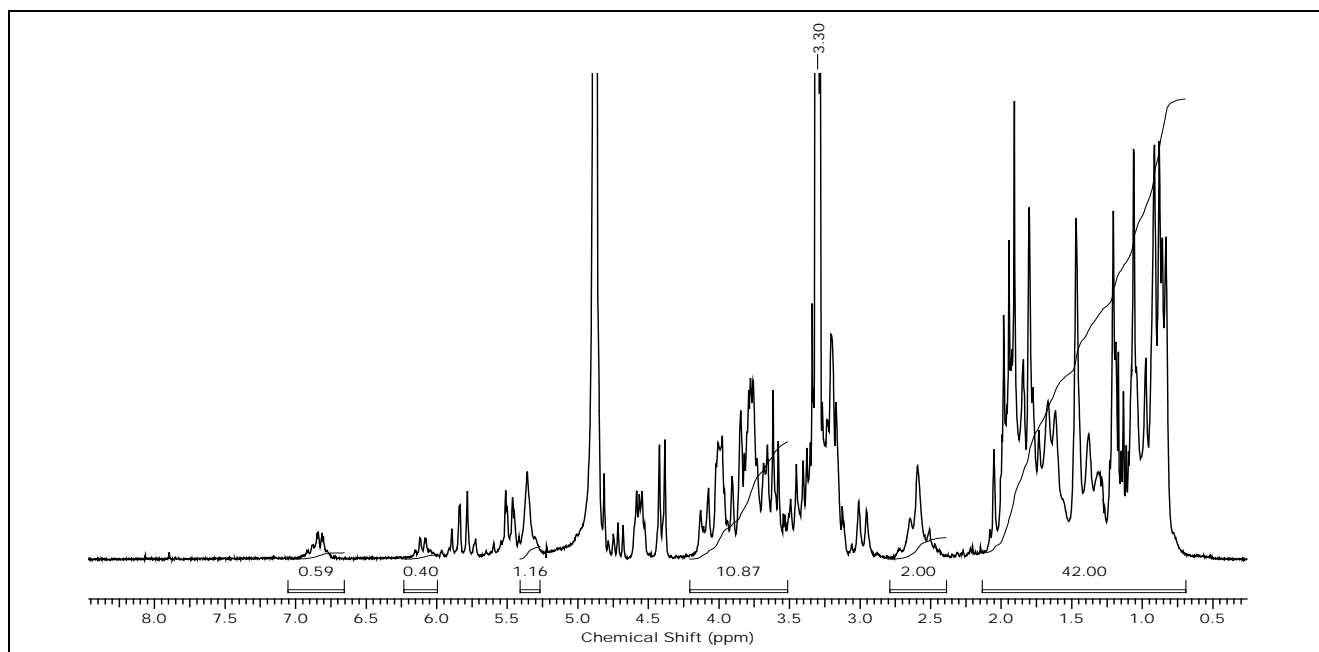


Рис. 2. Спектр  $^1\text{H}$  ЯМР- стандартного образца эсцина

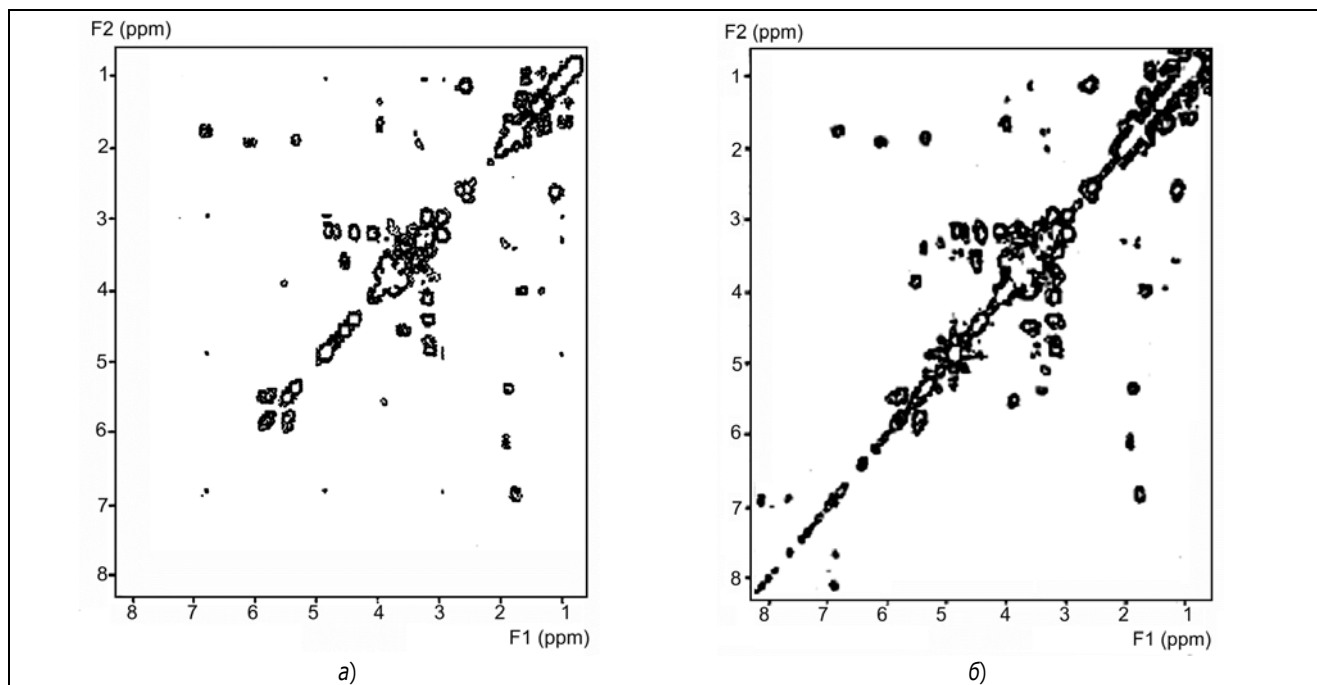


Рис. 3. Спектры  $^1\text{H}$ , $^1\text{H}$  COSY: а – СО эсцина; б – СОЭ каштана конского, образец № 1

Таблица 1. Положение интенсивных кросс-пиков в ЯМР-спектре  $^1\text{H}$ , $^1\text{H}$  COSY раствора эсцина в  $\text{CD}_3\text{OD}$

Ось	Координаты кросс-пиков, м.д.													
F1	5,5	3,9	1,8	1,95	1,9	3,6	3,1	3,2	3,2	1,7	1,98	3,0	1,1	0,9
F2	5,8	5,5	6,8	6,1	5,3	4,55	4,8	4,4	4,1	3,95	3,3	3,2	2,6	1,6

**Двумерные спектры  $^1\text{H}$ , $^1\text{H}$  COSY. Подлинность.** В [17] показано, что для экстрактов спектры  $^1\text{H}$ , $^1\text{H}$  ЯМР COSY дают характерный набор значений кросс-пиков (КП).

На рис. 3,а приведен двумерный спектр  $^1\text{H}$ , $^1\text{H}$  COSY эсцина – стандартного образца (СО), на рис. 3,б – спектр СОЭ каштана конского (образец № 1). В спектре  $^1\text{H}$ , $^1\text{H}$  COSY присутствуют все КП, что и в эсцине, и дополнительно интенсивный КП 3,8/5,5 м.д., а также КП слабой интенсивности в области 6,8–8,2 м.д., относящиеся к фенольным соединениям. В спектрах  $^1\text{H}$ , $^1\text{H}$  COSY трех других образцов СОЭ каштана конского также хорошо видны КП, относящиеся к эсцину. Таким образом, двумерные спектры  $^1\text{H}$ , $^1\text{H}$  COSY являются характеристичными и могут быть использованы для установления подлинности СОЭ каштана конского.

Положение наиболее интенсивных КП СО эсцина приведены в табл. 1. Показанные в таблице КП обусловлены взаимодействием протонов генина – пентациклического тритерпена типа  $\beta$ -амирина. Кросс-пик 1,1/2,6 относится к взаимо-

действию протона Н-18 и одного из протонов метиленовой группы при С-11 с вицинальными, аллильными и гомоаллильными протонами; КП 1,95/6,1; 1,8/6,8; 5,5/5,8; 1,9/5,3 относятся к взаимодействию протонов в положениях 21, 22, 17 и 12 с вицинальными; КП 1,9/5,3 относится к взаимодействию протона Н-12 с другими и должен присутствовать в спектрах  $^1\text{H}$ , $^1\text{H}$  COSY всех тритерпенов со скелетом  $\beta$ -амирина. Интенсивные КП в средней области спектра  $^1\text{H}$ , $^1\text{H}$  COSY относятся к взаимодействию протонов углеводного фрагмента молекулы эсцина.

**Примеси в СОЭ.** Основные примеси – это жирные масла (преимущественно триглицериды), сахара и используемые при производстве экстракта органические растворители. Жирные масла дают сигналы при 1,31 м.д. (дублет) и при 2,25 м.д. (триплет проявляется в отдельной области спектра, рис. 4). Сигнал сахарозы Н-1 глюкозного фрагмента проявляется при 5,45 м.д. (в спектре экстракта перекрывается с сигналами эсцина, в частности, с интенсивным сигналом протона при

двойной связи генина). Минорными компонентами являются флавоноиды и кумарины (сигналы в области 7–8 м.д.), которые хорошо проявляются в одномерном спектре.

Сигналы органических растворителей (из-за перекрывания их сигналов) и целевого продукта нельзя выделить непосредственно из спектра. Для определения положения в спектре исследуемых сигналов (учитывая, что время релаксации больших молекул намного меньше, чем у маленьких) применили двухимпульсную последовательность (180° импульс – релаксационная задержка – 90° импульс), используемую для определения времени релаксации T<sub>1</sub> протонов. На рис. 4 приведены два спектра: один – обычный спектр, другой – полученный в двухимпульсном режиме. Большая разница во времени ядерной релаксации, например, бутанола (молярная масса – 74 г/моль) по сравнению с эсцином (молярная масса – 1131 г/моль) при релаксационной задержке 0,7 с позволяет инвертировать сигналы растворителя и сигналы других маленьких молекул, почти не затрагивая интенсивность сигналов эсцина. Из рис. 4 следует, что триплет при 5,55 м.д. принадлежит бутанолу. Вниз также направлены другие сигналы бутанола (0,95;

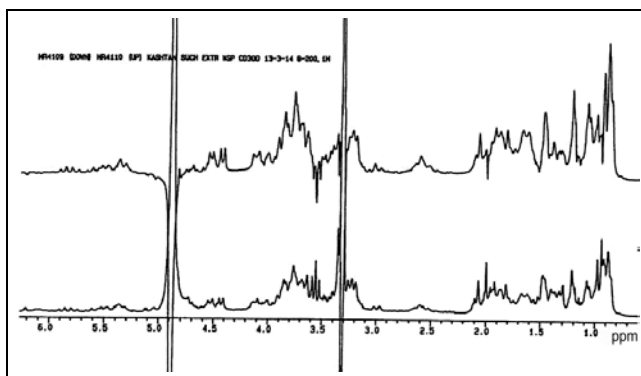


Рис. 4. Спектры <sup>1</sup>H ЯМР СОЭ каштана конского с бутанолом обычный (внизу), двухимпульсный с задержкой 0,7 с между 180° и 90° импульсами (вверху)

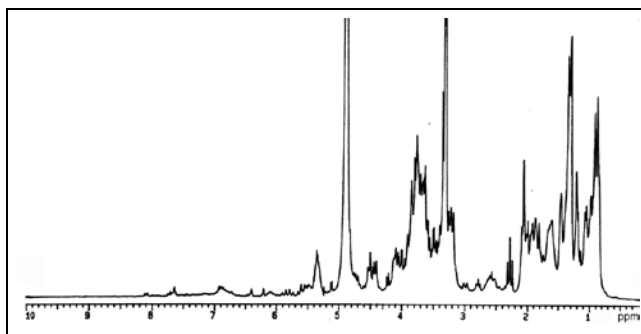


Рис. 5. Спектр <sup>1</sup>H ЯМР СОЭ каштана конского, в котором присутствует жирное масло

1,15 и 1,45 м.д.). Направленный вниз сигнал при 2,00 м.д. относится к ацетону.

Спектры образцов (№№ 1–4) СОЭ каштана конского, полученных по усовершенствованной технологии, не содержат сигналов жирных масел, а также органических растворителей.

Идентификационные сигналы следующие: триплет при 2,25 м.д. (протоны метиленовой группы рядом с карбонилем) и интенсивный сигнал в виде дублета при 1,31 м.д. (метиленовые группы фрагмента – (СН<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-СН<sub>3</sub>).

#### Соотношение количеств эсцина и сахаров.

Присутствие сахаров и фенольных соединений, содержащих сахара, приводит к увеличению интенсивности сигналов в средней области спектра. В СО эсцина соотношение интенсивностей протонов генина в геминальном положении, к которым нет атома кислорода (область 0,5–2,2 м.д.), и протонов сахарной области (3,5–4,2 м.д.) равно 3,8. В СОЭ это отношение существенно меньше и не превосходит значения 2,8. Величина интеграла от протонов сахаров СОЭ может быть найдена путем вычитания интеграла гликозидных протонов СО эсцина из общего значения интеграла в области спектра 3,5–4,2 м.д. экстрактов. Для определения соотношения количеств эсцина и сахаров необходимо найти величину протонной единицы (п.е.) СО эсцина и п.е. сахаров. В молекулах доминирующих эсцинов в области 0,5–2,2 м.д. дают сигналы 42 протона и, следовательно, п.е. может быть найдена делением значения интеграла в этой области на 42. Если в спектре эсцина установить значение интеграла в этой области, равное 42 (одно значение интеграла задается произвольно), то значение п.е. эсцина будет равно единице.

При пересчете на примесь (сахарозу) определенное значение интеграла в области 3,5–4,2 м.д. должно быть разделено на 11 (число протонов сахарозы при атомах углерода, дающих сигналы в этой области, что следует из спектра раствора сахарозы в метаноле). Два протона Н-2 и Н-4 глюкозного фрагмента сахарозы дают сигналы вне этой области (смещены в более сильное поле). Относительное содержание сахаров (масс %) в пересчете на сахарозу в СОЭ каштана конского определяется по формуле, преобразованной из приведенной в [18] (табл. 2):

$$X(\text{масс \%})_{\text{сах}} = 100 / (1 + I'_{\text{эсц}} / 0,3 \cdot I'_{\text{сах}}),$$

где I'<sub>эсц</sub> – нормированное значение интеграла сигналов протонов эсцина; I'<sub>сах</sub> – нормированное зна-

чение интеграла сигналов протонов сахарозы;  $(1131,3 \text{ г/моль})$ ;  $M_{\text{сах}}$  – молярная масса сахарозы  $0,30 = M_{\text{сах}}/M_{\text{эсц}}$ ;  $M_{\text{эсц}}$  – молярная масса эсцина  $(342,3 \text{ г/моль})$ .

**Таблица 2. Относительное содержание сахаров (в пересчете на сахарозу) в образцах СОЭ каштана конского**

Образец	Протонная единица сахарозы	$\Gamma_{\text{эсц}} / (0,3 \cdot \Gamma_{\text{сах}})$	Содержание сахаров, %
№ 1	$(28,0-10,87)/11 = 1,56$	$1/(1,56 \cdot 0,3) = 2,13$	31,9
№ 2	$(33,90-10,87)/11 = 2,09$	$1/(2,09 \cdot 0,3) = 1,59$	38,6
№ 3	$(23,26-10,87)/11 = 1,13$	$1/(1,13 \cdot 0,3) = 2,95$	25,3
№ 4	$(25,52-10,87)/11 = 1,33$	$1/(1,33 \cdot 0,3) = 2,50$	28,5

**Количественное определение СОЭ каштана конского.** Количественное определение СОЭ (образцы №№ 1–4) проводилось методом внешнего стандарта. В качестве стандарта использован СО эсцина. Полагая, что в интегральную интенсивность в области 0,5–2,2 м.д. вносят только протоны генина ТГ, сравнивались интегральные интенсивности сигналов протонов СОЭ и эсцина. Параметры получения и обработки спектра для стандарта и СОЭ одинаковые. Значение параметра сигнал/шум для наиболее интенсивного сигнала не ниже значения 200. Одинаковая ориентация ампулы относительно приемной катушки в различных образцах достигалась использованием шаблона, фиксирующего положение дна ампулы относительно ротора турбинки. Все ампулы, в которых приготавливались растворы, – калиброванные, при вместимости ампулы 0,6 мл высота столбика раствора – 4,5 см. Три измерения интеграла для одного и того же раствора (ампула каждый раз извлекалась и вставлялась в ротор турбинки) дали следующие значения: 171,2; 175,4; 176,1. Таким образом, разница между крайними значениями интегралов не превосходит 3%.

Расчеты проводились по формуле

$$X(\%) = I_{\text{соэ}}/I_{\text{эсц}},$$

где  $I_{\text{соэ}}$  – значение интеграла СОЭ в области спектра 0,5–2,2 м.д.;  $I_{\text{эсц}}$  – значение интеграла СО эсцина в области спектра 0,5–2,2 м.д.

Результаты количественного определения приведены в табл. 3. Из таблицы следует, что содержание эсцина в образцах, определяемое методом ЯМР, находится в интервале 52,6–58,3%.

**Таблица 3. Содержание эсцина в образцах СОЭ каштана конского**

Образец	Интеграл	Навеска, мг	Содержание, %
СО эсцина	168,2	5,4	–
№ 1	185,8	10,9	54,7
№ 2	189,2	10,4	58,3
№ 3	171,1	10,4	54,0
№4	174,2	10,6	52,6

## ВЫВОДЫ

1. Разработан способ получения СОЭ семян каштана конского обыкновенного, наработаны и исследованы опытные серии готового продукта, обладающего противовоспалительным и ангиопротекторным действием.
2. Методом ЯМР-спектроскопии установлено наличие в исследуемом СОЭ суммы ТГ, сахарозы и фенольных соединений.
3. Показано, что спектры образцов, полученных по усовершенствованной технологии, не содержат сигналов жирных масел и органических растворителей.
4. Методом ЯМР проведено определение подлинности, соотношения количеств эсцина и сахаров, а также содержания эсцина в СОЭ каштана конского обыкновенного.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Постюк Н.А., Маркарян А.А., Даргаева Т.Д., Сокольская Т.А. Изучение стадии экстрагирования при получении сухого экстракта каштана конского // Фармация. 2012. № 4. С. 32–33.

2. *Киселева Т.Л.* Конский каштан обыкновенный // Медицинская помощь. 1995. № 2. С. 54–57.
3. *Vogel G.* *Aesculus hippocastanum* L. – Die Roßcastanie // Phytotherapie. 1989. № 3. P. 102–106.
4. *Chen J., Li W., Yang B., Guo X., Sen-Chun Lee F., Wang X.* Determination of four major saponins in the seeds of *Aesculus chinensis* Bunge using accelerated solvent extraction followed by high-performance liquid chromatography and electrospray-time of flight mass spectrometry // *Analytica Chimica Acta*. 2007. № 596. P. 273–280.
5. Атлас лекарственных растений России / Под общ. ред. акад. РАН и РАСХН проф. *В.А. Быкова*. М., 2006. С. 136–138.
6. *Гончарова Т.А.* Энциклопедия лекарственных растений: В 2-х томах. Т. 1: [А-Р]. М.: Изд. дом «МСП». 1997. 559 с.
7. Патент RU 2569353. Фармацевтическая субстанция соли аминокислоты L-лизина и эсцина. / *Кравчук Ж.Н., Блонский А.В., Сур С.В., Никитина В.Н., Колодий И.П., Кувайсков Ю.Г., Ткачук Ю.Ю., Кушир Н.А., Гарцылов Д.В.*
8. *Neuwald F. und Overlach K.* IR-Spektrographie und Photometrie des Aescins // *Archiv der Pharmazie*. 1960. 293/65. № 8. P. 753–758.
9. *Жукович Е.Н., Шарикова Л.А., Прибыткова Т.Ф., Бокарева С.Ю., Слеueva Е.К.* Стандартизация густого экстракта каштана конского // *Фармация*. 2005. № 2. С. 12–14.
10. DAB. German Pharmacopoeia. 1999.
11. *Koritnik S., Milic J., Samardic Z.* Formulation and evaluation of topical semisolid preparations with horse chestnut seeds extract // *Proceedings of Congress Phytopharm*. 2003 «Actual problems of creation of new medicinal preparations of natural origin». St.-Petersburg. 2003. С. 111–115.
12. *Шовковский А.В., Шейн А.Т.* Исследование состава биологически активного природного вещества эсцин // *Провизор*. 1999. № 12.
13. *Apers S., Naessens T., Pieters L., Vlietinck A.* Densitometric thin-layer chromatographic determination of aescin in a herbal medicinal product containing *Aesculus* and *Vitis* dry extracts // *Journal of Chromatography A*. 2006. № 1112. P. 165–170.
14. Chinese pharmacopoeia. 2005
15. *Wagner et al.* Roßkastaniensamen – HPLC-Analyse // *Deutsche Apotheker Zeitung*. 1985. № 30. P. 1515–1518.
16. *Zhang Zh., Li Sh., Zhang Sh., Gorenstein D.* Triterpenoid saponins from the fruits of *Aesculus pavia* // *Phytochemistry* 2006. № 67. P. 784–794.
17. Заводская лаборатория. Диагностика материалов. 2006. Т. 72. № 8. С. 15–23.
18. ГФХШ. ОФС.1.2.1.1.0007.15.

Поступила 5 октября 2016 г.

## THE STUDY STUDY AND NMR-ANALYSIS OF HORSE CHESTNUT REFINED DRY EXTRACT (*AESCULUS HIPPOCASTANUM* L.)

© Authors, 2017

### V.I. Sheichenko

Ph.D. (Phys.-Math.), Leading Research Scientist, Standardization and Certification Department, All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants (Moscow)  
E-mail: vilarnii.sheychenko@mail.ru

### A.F. Azarkova

Ph.D. (Pharm.), Leading Research Scientist, Department of Phytochemistry, All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants (Moscow)

### A.I. Meshkov

Senior Research Scientist, Department of Phytochemistry, All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants (Moscow)

### V.A. Timoshina

Assistant, Department of Phytochemistry, All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants (Moscow)

### O.P. Sheichenko

Ph.D. (Chem.), Deputy Head of Center for Chemistry and Pharmaceutical Technology, All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants (Moscow)

### E.V. Ferubko

Ph.D. (Med.), Research Scientist, Head of the Department of Experimental and Clinical Pharmacology, All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants (Moscow)

### E.N. Kurmanova

Research Scientist, Department of Experimental and Clinical Pharmacology, All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants (Moscow)

The studies were carried out by the technology of producing ESR of the horse chestnut common (*Aesculus hippocastanum* L.) seeds of the Horsechest family - Hippocastanaceae. A method for obtaining ESR has been developed, and a series of prototypes have been developed. The qualitative composition of the substances included in the ESR is established. The content of the sum of TG in ESR using the standard escin sample was determined by <sup>1</sup>H NMR spectroscopy. The pharmacological study of the extract under the study on the models of acute and chronic inflammation, analgesia and vascular permeability showed that it has anti-inflammatory and angioprotective action. As a raw material, horse chestnut seeds were used, collected on the experimental site of the Botanical Garden of

the FGBNU VILAR in the maturation phase in 2013. The spectra were obtained on a GEMINI 200 NMR spectrometer. The operating frequency was 200 MHz. A sample of about 0.01 g was dissolved in 0.6 ml. Methyl alcohol - D4 (3.30 ppm), filtered and transferred to an ampoule to remove spectra. The registration time of one spectrum (parameter AT) is -2 sec. Without a relaxation delay, the amount of accumulation (NT) 512. The parameters for removing the spectra of COSY are taken from a package of the standard programs. The relaxation delay time is 0.2 s, the parameters NI = 128, NT = 64. All spectra are obtained and mathematically processed for the same values of the parameters.

**Key words:** *the seeds of the common horse-chestnut, dry purified extract, the amount of triterpene glycosides, NMR spectroscopy, quantitative determination, anti-inflammatory and angioprotective action.*

## References

1. Postoyuk N.A., Markaryan A.A., Dargayeva T.D., Sokolskaya T.A. Study of an extraction stage in the preparation of dry horsechestnut (*Aesculus hippocastanum* L.) extract // *Pharmacy*. 2012. № 4. P. 32–33.
2. Kiseleva T.L. *Konskij kashtan obyknovennyj* // *Medicinskaja pomoshh'*. 1995. № 2. S. 54–57.
3. Vogel G. *Aesculus hippocastanum* L. – *Die Roßcastanie* // *Phytotherapie*. 1989. № 3. P. 102–106.
4. Chen J., Li W., Yang B., Guo X., Sen-Chun Lee F., Wang X. Determination of four major saponins in the seeds of *Aesculus chinensis* Bunge using accelerated solvent extraction followed by high-performance liquid chromatography and electrospray-time of flight mass spectrometry // *Analytica Chimica Acta*. 2007. № 596. P. 273–280.
5. Atlas lekarstvennyh rastenij Rossii / Pod obshh. red. akad. RAMN i RASHN prof. V.A. Bykova. M.: 2006. S. 136–138.
6. Goncharova T.A. *Jenciklopedija lekarstvennyh rastenij: V 2-h tomah. T. 1: [A-R]*. M.: Izd. dom «MSP». 1997. 559 s.
7. Patent RU 2569353. *Farmaceuticheskaja substancija soli aminokisloty l-lizina i jescina*. / Kravchuk Zh.N., Blonskij A.V., Sur S.V., Nikitina V.N., Kolodij I.P., Kuvajskov Ju.G., Tkachuk Ju.Ju., Kushnir N.A., Garcylov D.V.
8. Neuwald F. und Overlach K. *IR-Spektrographie und Photometrie des Aescins* // *Archiv der Pharmazie*. 1960. 293/65. № 8. P. 753–758.
9. Zhukovich E.N., Sharikova L.A., Pribytkova T.F., Bokareva S.Ju., Slueva E.K. Standardization of thick extract from horse chestnut (*Aesculus hippocastanum*) // *Pharmacy*. 2005. № 2. P. 12–14.
10. DAB. *German Pharmacopoeia*. 1999.
11. Koritnik S., Milic J., Samardzic Z. Formulation and evaluation of topical semisolid preparations with horse chestnut seeds extract // *Proceedings of Congress Phytopharm*. 2003 «Actual problems of creation of new medicinal preparations of natural origin». St.-Petersburg. 2003. C. 111–115.
12. Shovkovyj A.V., Shein A.T. *Isslodovanie sostava biologicheskij aktivnogo prirodnoho veshhestva jescin* // *Provizor*. 1999. № 12.
13. Apers S., Naessens T., Pieters L., Vlietinck A. Densitometric thin-layer chromatographic determination of aescin in a herbal medicinal product containing *Aesculus* and *Vitis* dry extracts // *Journal of Chromatography A*. 2006. № 1112. P. 165–170.
14. *Chinese pharmacopoeia*. 2005
15. Wagner et al. *Roßkastaniensamen – HPLC-Analyse* // *Deutsche Apotheker Zeitung*. 1985. № 30. P. 1515–1518.
16. Zhang Zh., Li Sh., Zhang Sh., Gorenstein D. Triterpenoid saponins from the fruits of *Aesculus pavia* // *Phytochemistry* 2006. № 67. P. 784–794.
17. *Zavodskaja laboratorija. Diagnostika materialov*. 2006. T. 72. № 8. S. 15–23.
18. GFHIII. OFS.1.2.1.1.0007.15.



Федеральное государственное бюджетное научное учреждение  
**«Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений»**

приглашает к сотрудничеству  
 фармпроизводителей и сельхозпредприятия  
 для совместного продвижения наших научных разработок.  
 Мы предлагаем лекарственные фитопрепараты к производству  
 и агротехнологии лекарственных и ароматических культур  
 для выращивания в различных регионах России

Тел. контакта: 8(495)388-55-09; 8(495)388-61-09; 8(495)712-10-45

Факс: 8(495)712-09-18

e-mail: vilarnii.ru; www.vilarnii.ru