

СОДЕРЖАНИЕ ФИТОСТЕРИНОВ В ЦВЕТКАХ КАШТАНА КОНСКОГО И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗРАБОТКИ ПРЕПАРАТОВ НА ИХ ОСНОВЕ

А.Д. Дунилин¹, О.В. Тринеева¹, Е.А. Платонова², Э.М. Магеррамова²

¹ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет»

²ФГБОУ ВО «Петрозаводский государственный университет»

Поступила в редакцию 14.09.2024 г.

Аннотация. Каштан конский обыкновенный (*Aesculus hippocastanum* L.) – широко распространенное на территории европейской части Российской Федерации растение. Цветки каштана конского являются перспективным источником биологически активных веществ (БАВ) различного характера. Однако, фракция липофильных БАВ данного вида лекарственного растительного сырья (ЛРС), остается малоизученной в отношении состава и фармакологических свойств. Цель работы – определение содержания фитостеринов в цветках каштана конского с прогностической *in silico*-оценкой перспективных видов фармакологической активности отдельных представителей данной фракции БАВ, для последующей разработки лекарственных растительных препаратов на их основе определенного спектра действия. Объектом исследования служили высушенные цветки каштана конского обыкновенного, заготовленные в Ленинградской, Московской, Воронежской, Волгоградской областях, Ставропольском крае и Петрозаводском городском округе во время цветения в 2023 году. В результате исследования растительного сырья методом ГХ/МС был идентифицирован гамма-ситостерол, как представитель группы растительных стеринов. Количественное содержание суммы фитостеринов в пересчете на эргостерин выполняли методом спектрофотометрии в соответствии с известной методикой, основанной на взаимодействии стеринов с концентрированной серной кислотой при аналитической длине волны 328 нм. Содержание фитостеринов в зависимости от региона варьировало от 7,06% до 12,97%. Преобладающим компонентом в сумме по положению аналитического максимума являлся эргостерин. В зависимости от видовой принадлежности растения, его возраста, климатических и антропогенных факторов состав и количественное содержание стеринов существенно изменяется. Результаты предварительного исследования видов фармакологической активности *in silico* показали, что эргостерин и гамма-ситостерол в компонентном составе фракции стеринов цветков каштана конского, имеют высокую вероятность проявления гепатопротекторной, антигиперхолестеринемической и гипوليлипидемической активностей. Результаты работы позволяют рассматривать цветки каштана конского в качестве перспективного сырья для разработки лекарственных растительных препаратов (ЛРП) для комплексной терапии целевой группы патологий сердечно-сосудистой и гепатобилиарной систем.

Ключевые слова: цветки каштана конского, фитостерины, газовая хроматография с масс-детектором, *in silico*, *pass-online*, эргостерин, гамма-ситостерол

Стерины относятся к обширной группе стероидных спиртов, являющихся неотъемлемой частью как животных, так и растительных клеток. Повышенное содержание общего холестерина (ХС) и ХС, входящего в состав атерогенных липопротеинов низкой плотности, увеличивает риск развития ишемической болезни сердца и cerebrovasкулярных заболеваний периферических артерий, обусловленных атеротромбозом. В на-

стоящее время одним из передовых методов терапии данных нозологий является использование растительных стеринов и станолов. Согласно литературным данным клинического исследования, использование лекарственного растительного сырья (ЛРС), содержащего данные группы биологически активных веществ (БАВ) пациентами с гиперхолестеринемией приводило к снижению уровня ХС в сыворотке крови примерно на 10% [1-3]. Кроме того, фитостерины, являясь компонентом клеточных мембран, оказывают гепато-

протекторное действие. Известно, что различные заболевания печени также способствует развитию не только сердечно-сосудистых заболеваний (в первую очередь артериальной гипертензии) и нарушений липидного обмена, но и гиперурикемии и гипергаммониемии, а также комплексу расстройств желудочно-кишечного тракта [4-7].

Фитостерины или растительные стероиды являются одними из главных компонентов клеточных мембран растений, а также входят в состав общих липидов растительных масел [8,9]. В зависимости от видовой принадлежности растения, его возраста, климатических и антропогенных факторов состав и количественное содержание стероидов в растительной клетке существенно изменяется. Это может быть связано с их функцией в растительной клетке. Так, по данным литературы повышенное содержание стероидов в клеточных мембранах влияет на свойства растительных тканей, такие как морозоустойчивость, степень адаптации растений к неблагоприятным условиям среды, засухоустойчивость. Особенно ярко выражена зависимость содержания стероидного компонента от неблагоприятных температур у организмов-экстремофилов, таких как мхи и лишайники. Стресс-индуцированное накопление данной группы БАВ свидетельствует о их участии в формировании адаптационных механизмов физиологической устойчивости растений к неблагоприятным факторам внешней среды [10, 11].

Каштан конский (*Aesculus hippocastanum* L.) растение рода Конский каштан (*Aesculus* L.), семейства Конскокаштановые (*Hippocastanaceae* A.Rich.) с давних времен известен как источник лекарственного растительного сырья. В официальной и народной медицине многих стран различные части растения широко используются в качестве терапевтического средства при заболеваниях сердечно-сосудистой системы и геморроя за счет своего компонентного состава, включающего обширную группу полифенолов и сапонинов. Фармакопейным сырьем на данный момент являются семена каштана конского, в народной медицине используют также цветки, листья, кору, почки и коробочки каштана [12,13]. Цветки данного растения характеризуются уникальным комплексом флавоноидов [14-17], оказывающих венозотонизирующее и капилляропротекторное действие. Однако, фракция липофильных БАВ данного вида ЛРС, остается малоизученной в отношении состава и фармакологических свойств. В связи с чем, цветки каштана могут рассматриваться, как потенциальное сырье для поиска целевых соединений, открывающих дополнительные воз-

можности и показания к применению сырья и ЛРС на его основе.

Целью работы являлось определение содержания фитостероидов в цветках каштана конского с прогностической *in silico*-оценкой перспективных видов фармакологической активности отдельных представителей данной липофильной фракции БАВ, для последующей целенаправленной разработки лекарственных растительных препаратов на их основе определенного спектра действия.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Объектом исследования служили высушенные воздушно-теньевым методом цветки каштана конского обыкновенного, заготовленные в Петрозаводском городском округе, Ленинградской, Московской, Воронежской, Волгоградской областях и Ставропольском крае во время цветения в 2023 году. Выбор регионов заготовки сырья был обусловлен, во-первых, традиционным естественным ареалом культивирования данного растения, а во-вторых, необходимостью оценки влияния совокупности природных факторов окружающей среды на накопление фитостероидов в цветках каштана.

Количественное определение содержания суммы фитостероидов в ЛРС проводили в соответствии с известной спектрофотометрической методикой, основанной на взаимодействии стероидов с концентрированной серной кислотой при аналитической длине волны 328 нм в пересчете на эргостерин [18].

Газохроматографический анализ для идентификации отдельных представителей фракции фитостероидов в цветках каштана конского проводили на хромато-масс-спектрометрическом комплексе Agilent Technologies 7890B GC System с масс-селективным детектором Agilent Technologies 5977A MSD (Германия). Температура узла ввода пробы – 310 °С, аналитического интерфейса – 290 °С. Разделение проводили на капиллярной колонке HP-5ms UI с неподвижной фазой (5% фенил)-метилполисилоксан (30 м × 0.250 мм × 0.25 μм). Скорость потока газа носителя – 1 мл/мин. Объем вводимой пробы – 0.5 мкл, деление потока 40 : 1, температурный режим: 40 °С – изотерма 18 мин, нагрев 5 °С/мин до 220 °С, затем нагрев со скоростью 10 °С/мин до 310 °С, далее изотерма. Регистрацию сигнала проводили по полному ионному току (TIC) в диапазоне масс 29–700 m/z. Идентификацию компонентов проводили с помощью библиотеки масс-спектров NIST20. Процент совпадения с базой для идентифицированных компонентов составлял более

80%. При совпадении на 70% и менее компоненты считались неидентифицированными. Количественное содержание компонентов выделенных фракций осуществляли методом внутренней нормализации. Извлечения из исследуемого сырья проводили по методике ГФ РФ XV изд. ОФС.1.5.3.0005 «Определение содержания экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» (методика 1) с применением спирта 96% этилового в качестве экстрагента. Следует отметить, что в работе при анализе состава экстракта осуществлялось прямое введение образца в хроматограф без пробоподготовки и дериватизации, поэтому следует считать, что проанализировать удалось только те компоненты экстракта, что являются летучими в условиях анализа (что составляет от 5 до 15% введенной пробы). Исследование проводили с использованием парка оборудования ЦКП ФГБОУ ВО ВГУ Министерства высшего образования и науки России.

Статистическую обработку результатов эксперимента проводили в соответствии с ОФС.1.1.0013 «Статистическая обработка результатов физических, физико-химических и химических испытаний» [19]. После интерпретации масс-спектров, с помощью интернет-ресурса PASS-online (<https://www.way2drug.com/PassOnline/>, дата обращения 04.07.2024), проводили прогностическую оценку видов фармакологической активности, а также токсических эффектов выявленных БАВ. При изучении каждого вида активности оценивали вероятность наличия ($P_a > 0,7$) и отсутствия (P_i) ее проявления [20].

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В результате исследования спиртового экстракта цветков каштана конского (на примере ЛРС, заготовленного на территории Воронежской области) методом ГХ/МС был идентифицирован гамма-ситостерол (рис. 1а), как представитель группы растительных стероидов. Масс-спектр гамма-ситостерола представлен на рис. 1б.

Количественное содержание суммы фитостеринов в пересчете на эргостерин (рис. 2) в цветках каштана конского различных регионов произрастания выполняли в соответствии с известной спектрофотометрической методикой определения, описанной для подземных органов крапивы двудомной [18, 21].

Выбор фитостерина, на который следует вести пересчет в сумме, обосновывался наличием максимума при длине волны 328 ± 3 нм на спектре спиртового извлечения из цветков каштана

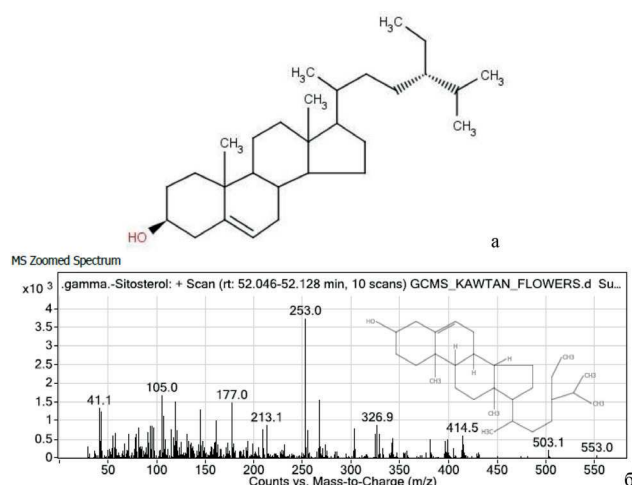


Рис. 1. Гамма-ситостерол цветков каштана конского: а - структурная формула гамма-ситостерола; б - вид масс-спектра идентифицированного гамма-ситостерола

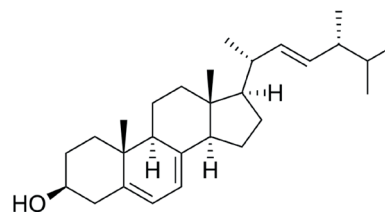


Рис. 2. Структурная формула эргостерина

конского после нагревания его с конц. кислотой серной (рис. 3), характерного для эргостерина по данным литературы [22, 23].

Анализируя полученные результаты, следует отметить вариабельность содержания стероидов в сырье, в зависимости от регионов произрастания (таблица 1).

Таблица 1
Содержание суммы стероидов в цветках каштана конского различных регионов произрастания, в пересчете на эргостерин и абсолютно сухое сырье, %

№ п/п	Регион произрастания	Сумма стероидов, %
1	Петрозаводский городской округ	$12,97 \pm 0,52$
2	Ленинградская область	$11,31 \pm 0,45$
3	Московская область	$10,94 \pm 0,44$
4	Воронежская область	$9,39 \pm 0,37$
5	Волгоградская область	$11,99 \pm 0,48$
6	Ставропольский край	$7,06 \pm 0,28$

Содержание фитостеринов в зависимости от региона варьировало от 7,06% до 12,97%. Наибольшее содержание стероидов в пересчете на эргостерин показали цветки, заготовленные в Петрозаводском городском округе (12,97%). Далее по мере перемещения от северных к южным районам заготовки

наблюдалось снижение содержания данной группы БАВ в сырье. Исключением из данной тенденции стало сырье, заготовленное в Волгоградской области (зона степи с резко континентальным климатом и ветрами). Полученные данные могут объясняться неблагоприятными климатическими условиями произрастания растения в регионах с холодным и континентальным климатом, исходя из данных о том, что стеринны в растительных организмах являются факторами противодействия стрессовым условиям окружающей среды.

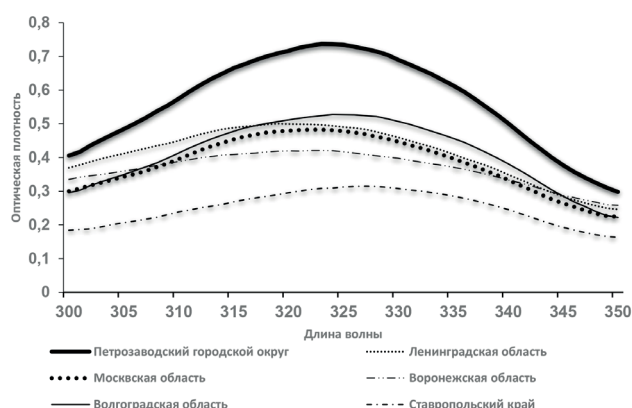


Рис. 3. Вид спектра поглощения продуктов взаимодействия спиртового извлечения из цветков каштана конского с концентрированной кислотой серной после нагревания

В результате расчета метрологических характеристик использованной методики (на примере цветков каштана конского, произрастающих на территории Петрозаводского городского округа) установлено, что средняя относительная ошибка с доверительной вероятностью 95% составляет около 4%, т.е. находится в пределах случайной ошибки (таблица 2).

Одним из перспективных направлений развития фармакогностических исследований различных видов ЛРС является обоснование возможности дальнейшей разработки лекарственных растительных препаратов (ЛРП) на его основе. В частности, из представленных выше данных следует, что цветки каштана конского показали возможность использования в качестве источника фитостероидной фракции БАВ. Для возможной дальнейшей оценки видов фармакологической активности на этапе доклиниче-

ских исследований извлечений из цветков каштана конского обыкновенного, провели предварительный *in silico* анализ прогноза биологической активности идентифицированных в сырье фитостероидов в рамках целевой группы патологий (патологии сердечно-сосудистой и гепатобилиарной системы). Результаты представлены в таблице 3.

Группа растительных стероидов (гамма-ситостерол и эргостерин) в компонентном составе цветков каштана конского на этапе предварительных скрининговых *in silico* исследований показала терапевтический потенциал. Данные БАВ обладают с высокой вероятностью проявления гепатопротекторной, антигиперхолестеринемической и гиполлипидемической активностями. Причем оба соединения схожи по активности в качестве антагониста холестерина, однако гепатопротекторным эффектом обладает только гамма-ситостерол. Следует отметить, что для ЛРС целевой считается не всегда преобладающая по количественному содержанию группа БАВ, но определяющая спектр показаний к применению ЛРП, полученных на его основе. Эти данные обуславливают актуальность целенаправленного изучения профиля фитостероидов цветков каштана конского. Метод *in-silico* позволяет более точно определять направленность будущих доклинических исследований извлечений из ЛРС и разработок новых ЛРП для лечения и профилактики заболеваний сердечно-сосудистой системы и печени.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При анализе спиртовых извлечений из цветков каштана конского методом ГХ/МС было обнаружено наличие в компонентном составе липофильной фракции сырья растительного стерина – гамма-ситостерола. Методом спектрофотометрии установлено содержание в сырье суммы фитостероидов, которое, в зависимости от региона произрастания, варьировало от 7,06% до 12,97%. Преобладающим компонентом в сумме по положению аналитического максимума являлся эргостерин. Проведено *in-silico* прогнозирование видов фармакологической активности основных идентифицированных фитостероидов цветков каштана, что способствует более точно определять направленность будущих доклинических исследований извлечений из

Таблица 2

Метрологическая характеристика результатов количественного определения суммы стероидов в пересчете на эргостерин в цветках каштана конского ($P = 95\%$; $n = 4$)

Х _{ср}	S ²	S	S _{хср}	ΔX	ΔX _{ср}	ε, %	ε _{ср} , %
12,3643	0,09561	0,30921	0,15461	0,98329	0,49166	7,95	3,98

Таблица 3

Результаты *in silico* прогноза видов фармакологической активности гамма-ситостерола и эргостерина цветков каштана конского с использованием платформы *pass-online*

Гамма-ситостерол					
Фармакологические эффекты			Токсические эффекты		
Pa	Pi	Вид активности	Pa	Pi	Вид активности
0,960	0,002	Антигиперхолестеринемический	0,928	0,008	Нарушение сна
0,957	0,001	Антагонист холестерина	0,890	0,005	Эмбриотоксичен
0,831	0,003	Химиопрофилактический препарат	0,876	0,010	Нарушение репродуктивной функции
0,814	0,004	Гепатопротекторная активность	0,864	0,013	Сонливость
0,778	0,001	Ингибитор синтеза холестерина	0,827	0,009	Нефротоксичен
0,796	0,019	Противоотечное средство	0,781	0,023	Головная боль
0,762	0,005	Противозудное средство	0,784	0,028	Токсичный для желудочно-кишечного тракта
0,759	0,005	Дерматологическое средство	0,743	0,033	Тошнота
0,762	0,009	Иммунодепрессант	0,721	0,034	Головокружение
0,718	0,005	Лечение заболеваний костей	-	-	-
0,744	0,037	Защищает слизистую оболочку	-	-	-
0,708	0,006	Лечение заболеваний предстательной железы	-	-	-
0,706	0,005	Противоостеопоротическое средство	-	-	-
Эргостерин					
0,951	0,001	Антагонист холестерина	0,928	0,008	Нарушение сна
0,926	0,003	Антигиперхолестеринемический препарат	0,924	0,007	Сонливость
0,860	0,005	Гиполипемический	0,895	0,010	Головокружение
0,848	0,003	Химиопрофилактический	0,874	0,005	Нефротоксический
0,827	0,013	Противоотечный	0,868	0,011	Головная боль
0,786	0,006	Иммунодепрессант	0,857	0,006	Брадикардия
0,713	0,003	Регулятор уровня кальция	0,799	0,012	Астма
0,704	0,025	Противоопухолевый	0,795	0,013	Эмбриотоксический

ЛРС. Результаты работы позволяют рассматривать цветки каштана конского в качестве потенциально-го источника таких липофильных соединений как стерины, которые в совокупности с флавоноидами и сапонинами данного сырья, могут быть использованы в комплексной терапии заболеваний сосудов, связанных со снижением их тонуса и повышением проницаемости сосудистой стенки, что приводит к отложению холестерина в местах их повреждения, при нарушении метаболизма последнего.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Перова, Н.В., Хучиева М.А. Растительные стерины и станола в профилактике болезней системы кровообращения // Эффективная фармако-терапия. – 2011. – № 12. – С. 64-69.
2. Padro T. Dietary $\omega 3$ Fatty Acids and Phytosterols in the Modulation of the HDL Lipidome: A Longitudinal Crossover Clinical Study / T. Padro, A. López-Yerena, A. Pérez, G. Vilahur, L. Badimon // Nutrients. – 2023. – Vol. 15. – № 16. – P. 3637.
3. Howell T.J. Phytosterols partially explain differences in cholesterol metabolism caused by corn or olive oil feeding / T.J. Howell, D.E. MacDougall, P.J. Jones // J Lipid Res. – 1998. – Vol. 39. – № 4. – P. 892-900.
4. Тринеева О.В., Ковалева Н.А. Исследование состава биологически активных веществ об- лепихи крушиновидной (*Hippophae rhamnoides* L.) листьев методом ГХ-МС // Химия раститель- ного сырья. – 2023. – № 4. – С. 219-229.
5. Frasinariu O. The Role of Phytosterols in Nonalcoholic Fatty Liver Disease / O. Frasinariu, R. Serban, L. M. Trandafir, I. Miron, M. Starcea, I. Vasiliu, A. Alisi, O. R. Temneanu // Nutrients. – 2022. – Vol. 14. – № 11. – P. 2187.
6. Gylling H. Phytosterols, Phytostanols, and Lipoprotein Metabolism / H. Gylling, P. Simonen // Nutrients. – 2015. – Vol. 7. – № 9. – P. 7965-77.
7. Tapiero H. Phytosterols in the prevention of human pathologies / H. Tapiero, D.M. Townsend, K.D. Tew // Biomed Pharmacother. – 2003. – Vol. 57. – № 8. – P. 321-5.
8. Пугачева О. В., Тринеева О. В., Сливкин А. И. Исследование состава листьев аронии Мичури- на методом газовой хромато-масс-спектрометрии // Вестник Воронежского государственного универси- тета. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2024. – № 1. – С. 112-122.
9. Смирнова А.Н., Швыдкий В.О., Шишки- на Л.Н. Физико-химические свойства и состав

липидов цветков календулы и плодов облепихи // Химическая физика. – 2021. – Т. 40, № 7. – С. 43-48.

10. Валитова Ю.Н. Стилмастерин – стрессовый стерин растительных организмов / Ю.Н. Валитова, В.Р. Хабибрахманова, В.М. Бабаев [и др.] // Рецепторы и внутриклеточная сигнализация : Сборник статей Международной конференции, Пушкино, 22–26 мая 2023 года / Под редакцией А.В. Бережнова, В.П. Зинченко. Том 2. – Серпухов: Типография Пятый Формат, 2023. – С. 636-644.

11. Девятловская, А.Н., Журавлева Л.Н. Содержание стероидов в тканях берёзы повислой и тополя // Вестник КрасГАУ. – 2013. – № 10(85). – С. 139-144.

12. Белов, П.В. Фармакогностическое исследование каштана конского обыкновенного (*Aesculus hippocastanum* L.) как перспективного источника биологически активных веществ. Диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук / Белов Павел Викторович, 2020. – 164 с.

13. Саушкина, А.С. Фитохимическое исследование листьев и цветков каштана конского обыкновенного / А.С. Саушкина, Л.Н. Савченко, Т.Т. Лихота // III Гаммермановские чтения: Сборник научных трудов научно-методической конференции, Санкт-Петербург, 31 января – 03 2017 года – Санкт-Петербург: Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 2017. – С. 110-113.

14. Owczarek A. Bioactivity Potential of *Aesculus hippocastanum* L. Flower: Phytochemical Profile, Antiradical Capacity and Protective Effects on Human Plasma Components under Oxidative/Nitrative Stress In Vitro / A. Owczarek, J. Kołodziejczyk-Czepas, P. Marczyk, J. Siwek, K. Wąsowicz, M. A. Olszewska // Pharmaceuticals (Basel). – 2021. – Vol. 14. - № 12. – P. 1301.

15. Bielarska A.M. Red Horse Chestnut and Horse Chestnut Flowers and Leaves: A Potential and Powerful Source of Polyphenols with High Antioxidant Capacity. / A.M. Bielarska, J.W. Jasek, R. Kazimierzczak, E. Hallmann // Molecules. – 2022. – Vol. 27. - № 7. – P. 2279.

16. Дунилин, А.Д. Изучение флавоноидов цветков каштана конского обыкновенного / А.Д.

Дунилин, А.С. Чистякова // 90 лет – от растения до лекарственного препарата: достижения и перспективы : Сборник материалов юбилейной международной научной конференции, Москва, 10 – 11 июня 2021 года. – Москва: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений», 2021. – С. 196-200.

17. Дунилин, А.Д. Качественный анализ флавоноидов и сапонинов цветков каштана конского / А.Д. Дунилин, А.С. Болгов // Лучшая научно-инновационная работа 2021: Сборник статей II Международного научно-исследовательского конкурса, Петрозаводск, 14 сентября 2021 года. – Петрозаводск: Международный центр научного партнерства «Новая Наука», 2021. – С. 192-196.

18. Патент № 2599014 С1 Российская Федерация, МПК G01N 33/98, G01N 21/31. Способ количественного определения стероидов в корневищах с корнями крапивы двудомной: № 2015136340/15 : заявл. 26.08.2015: опубл. 10.10.2016 / В.А. Куркин, О.Е. Правдивцева, Э.А. Балагозян; заявитель федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России).

19. Государственная фармакопея Российской Федерации. 15-е изд. Москва. – 2023. – Т. 1. Режим доступа: <http://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/> (дата обращения: 12.05.2024).

20. Way2Drug. Режим доступа: <https://www.way2drug.com/PassOnline/> (дата обращения: 04.07.2024)

21. Балагозян, Э.А., Куркин В.А., Правдивцева О.Е. Определение стероидов в корневищах с корнями крапивы двудомной // Фармация. – 2016. – Т. 65. – № 2. – С. 18-22.

22. Балагозян, Э.А., Куркин В.А., Правдивцева О.Е. Содержание стероидов в сырье крапивы двудомной // Химия растительного сырья. – 2016. – № 2. – С. 67-71.

23. Балагозян, Э.А., Правдивцева О.Е., Куркин В.А. Фармакогностическое изучение корневищ с корнями крапивы двудомной как перспективного вида лекарственного растительного // Сеченовский вестник. – 2016. – № S1. – С. 37.

Воронежский государственный университет
Дунилин Александр Денисович, аспирант кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии

E-mail: ad.dunilin@gmail.com

*Тринева Ольга Валерьевна, д.фарм.н., и.о. заведующего кафедрой фармацевтической химии и фармакогнозии

E-mail: trineevaov@mail.ru

Петрозаводский государственный университет
Платонова Елена Анатольевна, кандидат биологических наук, начальник отдела интродукции растений Ботанического сада

E-mail: meles@sampo.ru

Магеррамова Эльвира Магеррам кызы, ведущий специалист отдела интродукции растений Ботанического сада

E-mail: magerramova-elvira@mail.ru

Voronezh State University
Dunilin Alexander D., Postgraduate student of the Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy

E-mail: ad.dunilin@gmail.com

*Trineeva Olga V., PhD., DSci., Full Professor, Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy

E-mail: trineevaov@mail.ru

Petrozavodsk State University
Platonova Elena A., PhD., head of the plant introduction department of the Botanical garden

E-mail: meles@sampo.ru

Magerramova Elvira M., leading specialist of the plant introduction department of the Botanical garden

E-mail: magerramova-elvira@mail.ru

THE CONTENT OF PHYTOSTEROLS IN HORSE CHESTNUT FLOWERS AND PROSPECTS FOR THE DEVELOPMENT OF DRUGS BASED ON THEM

A.D. Dunilin¹, O.V. Trineeva¹, E.A. Platonova², E.M. Magerramova²

¹Voronezh State University

²Petrozavodsk State University

Abstract. The common horse chestnut (*Aesculus hippocastanum* L.) is a plant widespread in the European part of the Russian Federation. Horse chestnut flowers are a promising source of biologically active substances (BAS) of various types. However, the fraction of lipophilic BAS of this type of medicinal plant material (MPM) remains poorly studied in terms of composition and pharmacological properties. The aim of the work is to determine the content of phytosterols in horse chestnut flowers with a prognostic *in silico* assessment of promising types of pharmacological activity of individual representatives of this fraction of BAS, for the subsequent development of herbal medicines based on them with a certain spectrum of action. The object of the study was dried flowers of common horse chestnut, harvested in the Leningrad, Moscow, Voronezh, Volgograd regions, Stavropol Territory and Petrozavodsk urban district during flowering in 2023. As a result of the study of plant raw materials by GC/MS, gamma-sitosterol was identified as a representative of the group of plant sterols. The quantitative content of the sum of phytosterols in terms of ergosterol was performed by spectrophotometry in accordance with a well-known technique based on the interaction of sterols with concentrated sulfuric acid at an analytical wavelength of 328 nm. The content of phytosterols varied from 7.06% to 12.97% depending on the region. The predominant component in the sum according to the position of the analytical maximum was ergosterol. Depending on the species of the plant, its age, climatic and anthropogenic factors, the composition and quantitative content of sterols varies significantly. The results of the preliminary study of the types of pharmacological activity *in silico* showed that ergosterol and gamma-sitosterol in the component composition of the fraction of horse chestnut flowers sterols have a high probability of exhibiting hepatoprotective, antihypercholesterolemic and hypolipidemic activities. The results of the work allow us to consider horse chestnut flowers as a promising raw material for the development of medicinal herbal preparations (MHP) for the complex therapy of the target group of pathologies of the cardiovascular and hepatobiliary systems.

Keywords: horse chestnut flowers, phytosterols, gas chromatography with mass detector, *in silico*, pass-online, ergosterol, gamma-sitosterol

REFERENCES

1. Perova, N.V., Huchieva M.A. Plant sterols and stanols in the prevention of diseases of the circulatory system // *Effective pharmacotherapy*. – 2011. – № 12. – P. 64-69.
2. Padro T. Dietary ω 3 Fatty Acids and Phytosterols in the Modulation of the HDL Lipidome: A Longitudinal Crossover Clinical Study / T. Padro, A. López-Yerena, A. Pérez, G. Vilahur, L. Badimon // *Nutrients*. – 2023. – Vol.15. – № 16. – P. 3637.
3. Howell T.J. Phytosterols partially explain differences in cholesterol metabolism caused by corn or olive oil feeding / T.J. Howell, D.E. MacDougall, P.J. Jones // *J Lipid Res*. – 1998. – Vol. 39. – № 4. – P. 892-900.
4. Trineeva O.V., Kovaleva N.A. Investigation of the composition of biologically active substances of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) leaves by GC-MS method // *Chemistry of plant raw materials*. – 2023. – № 4. – P. 219-229.
5. Frasinariu O. The Role of Phytosterols in Nonalcoholic Fatty Liver Disease / O. Frasinariu, R. Serban, L.M. Trandafir, I. Miron, M. Starcea, I. Vasiliu, A. Alisi, O. R. Temneanu // *Nutrients*. – 2022. – Vol. 14. – № 11. – P. 2187.
6. Gylling H. Phytosterols, Phytostanols, and Lipoprotein Metabolism / H. Gylling, P. Simonen // *Nutrients*. – 2015. – Vol. 7. – № 9. – P. 7965-77.
7. Tapiero H. Phytosterols in the prevention of human pathologies / H. Tapiero, D.M. Townsend, K.D. Tew // *Biomed Pharmacother*. – 2003. – Vol. 57. – № 8. – P. 321-5.
8. Pugacheva O.V., Trineeva O.V., Slivkin A.I. Investigation of the composition of the leaves of aronia Michurin by gas chromatography-mass spectrometry // *Bulletin of the Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy*. – 2024. – № 1. – P. 112-122.
9. Smirnova A.N., Shvydkij V.O., Shishkina L.N. Physico-chemical properties and composition of lipids of calendula flowers and sea buckthorn fruits // *Chemical Physics*. – 2021. – T. 40, № 7. – P. 43-48.
10. Valitova Ju.N. Stigmasterin – stressovyj sterin rastitel'nyh organizmov / Ju. N. Valitova, V. R. Habibrahmanova, V. M. Babaev [i dr.] // *Receptory i vnutrikletochnaja signalizacija : Sbornik statej Mezhdunarodnoj konferencii, Pushhino, 22–26 maja 2023 goda / Pod redakciej A.V. Berezhnova, V.P. Zinchenko. Tom 2. – Serpuhov: Tipografija Pjatyj Format, 2023. – P. 636-644.*
11. Devjatlovskaja, A. N., Zhuravleva L. N. The content of sterols in the tissues of hanging birch and poplar // *Bulletin of KrasGAU*. – 2013. – № 10(85). – P. 139-144.
12. Belov, P.V. Farmakognosticheskoe issledovanie kashtana konskogo obyknovennogo (*Aesculus hippocastanum* L.) kak perspektivnogo istochnika biologicheski aktivnyh veshhestv. Dissertacija na soiskanie uchenoj stepeni kandidata farmaceuticheskikh nauk / Belov Pavel Viktorovich, 2020. – 164 p.
13. Saushkina, A.S. Fitohimicheskoe issledovanie list'ev i cvetkov kashtana konskogo obyknovennogo / A.S. Saushkina, L.N. Savchenko, T.T. Lihota // *III Gammermanovskie chtenija : Sbornik nauchnyh trudov nauchno-metodicheskoy konferencii, Sankt-Peterburg, 31 janvarja–032017goda.–Sankt-Peterburg:Gosudarstvennoe bjudzhetnoe obrazovatel'noe uchrezhdenie vysshego professional'nogo obrazovaniya «Sankt-Peterburgskaja gosudarstvennaja himiko-farmaceuticheskaja akademija» Ministerstva zdravoohraneniya Rossijskoj Federacii, 2017. – P. 110-113.*
14. Owczarek A. Bioactivity Potential of *Aesculus hippocastanum* L. Flower: Phytochemical Profile, Antiradical Capacity and Protective Effects on Human Plasma Components under Oxidative/Nitrative Stress In Vitro / A. Owczarek, J. Kołodziejczyk-Czepas, P. Marczuk, J. Siwek, K. Wąsowicz, M. A. Olszewska // *Pharmaceuticals (Basel)*. – 2021. – Vol. 14. - № 12. – P. 1301.
15. Bielarska A.M. Red Horse Chestnut and Horse Chestnut Flowers and Leaves: A Potential and Powerful Source of Polyphenols with High Antioxidant Capacity. / A.M. Bielarska, J.W. Jasek, R. Kazimierzczak, E. Hallmann // *Molecules*. – 2022. – Vol. 27. - № 7. – P. 2279.
16. Dunilin, A.D. Izuchenie flavonoidov cvetkov kashtana konskogo obyknovennogo / A.D. Dunilin, A.S. Chistjakova // *90 let – ot rastenija do lekarstvennogo preparata: dostizhenija i perspektivy: Sbornik materialov jubilejnoy mezhdunarodnoj nauchnoj konferencii, Moskva, 10 – 11 ijunja 2021 goda. – Moskva: Federal'noe gosudarstvennoe bjudzhetnoe nauchnoe uchrezhdenie «Vserossijskij nauchno-issledovatel'skij institut lekarstvennyh i aromaticeskikh rastenij», 2021. – P. 196-200.*
17. Dunilin, A.D. Kachestvennyj analiz flavonoidov i saponinov cvetkov kashtana konskogo / A.D. Dunilin, A.S. Bolgov // *Luchshaja nauchno-innovacionnaja rabota 2021: Sbornik statej II Mezhdunarodnogo nauchno-issledovatel'skogo konkursa, Petrozavodsk, 14 sentjabrja 2021 goda. – Petrozavodsk: Mezhdunarodnyj centr nauchnogo partnerstva «Novaja Nauka», 2021. – P. 192-196.*

18. Patent № 2599014 C1 Rossijskaja Federacija, MPK G01N 33/98, G01N 21/31. Sposob kolichestvennogo opredelenija sterinov v kornevishhah s kornjami krapivy dvudomnoj: № 2015136340/15:zajavl.26.08.2015:opubl.10.10.2016 / V. A. Kurkin, O. E. Pravdivceva, Je. A. Balagozjan ; zajavitel' federal'noe gosudarstvennoe bjudzhetnoe obrazovatel'noe uchrezhdenie vysshego obrazovanija «Samarskij gosudarstvennyj medicinskij universitet» Ministerstva zdravoohraneniya Rossijskoj Federacii (FGBOU VO SamGMU Minzdrava Rossii).

19. Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiiskoi Federatsii. The State Pharmacopoeia of the Russian Federation. ed. 15. Moscow. – 2023. – V. 1. (in Russian). Avialable at: <http://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/> (accessed 12 May 2024).

20. Way2Drug (in Russian). Avialable at: <https://www.way2drug.com/PassOnline/> (accessed: 04 July 2024)

21. Balagozjan, Je.A., Kurkin V.A., Pravdivceva O.E. Determination of sterols in rhizomes with roots of dioecious nettle // Pharmacy. – 2016. – Vol. 65. – № 2. – P. 18-22.

22. Balagozjan, Je.A., Kurkin V.A., Pravdivceva O.E. The content of sterols in the raw materials of dioecious nettle // Chemistry of vegetable raw materials. – 2016. – № 2. – P. 67-71.

23. Balagozjan, Je.A., Pravdivceva O.E., Kurkin V.A. Pharmacognostic study of rhizomes with roots of dioecious nettle as a promising type of medicinal plant // Sechenovsky vestnik. – 2016. – № S1. – P. 37.