

УДК 615.19

3.4.2 Фармацевтическая химия, фармакогнозия

DOI: 10.37903/vsgma.2024.3.28 EDN: SIEJEE

РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФЛАВОНОИДОВ В ЦВЕТКАХ КАШТАНА КОНСКОГО РАЗЛИЧНЫХ РЕГИОНОВ ПРОИЗРАСТАНИЯ© Дунилин А.Д.¹, Тринева О.В.¹, Ковалева Т.Ю.²¹Воронежский государственный университет, 394006, Россия, Воронеж, Университетская пл., 1.²Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России» (Сеченовский университет), 119991, Россия, Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2*Резюме*

Цель. Разработка и валидация методики определения флавоноидов в цветках каштана конского различных регионов произрастания.

Методика. Сумму флавоноидов в лекарственном растительном сырье, заготовленном в Ленинградской, Московской, Воронежской, Волгоградской областях и Ставропольском крае во время цветения в 2023 г. определяли с помощью методики для данного вида сырья, разработанной ранее, на основе метода количественного определения флавоноидов в цветках бузины черной (*Sambucus nigra L.*) ГФ РФ XIV ФС.2.5.0008.15. Выбор регионов заготовки сырья был обусловлен, во-первых, традиционным естественным ареалом культивирования данного растения (рис. 1), во-вторых, необходимостью оценки влияния совокупности природных факторов окружающей среды на накопление флавоноидов в цветках.

Результаты. Содержание флавоноидов в зависимости от региона варьировало от 3,30 до 4,55%. Наибольшее содержание флавоноидов в пересчете на рутин показали цветки, заготовленные в Ставропольском крае (4,55%), что может быть связано с самым благоприятным сочетанием климатических условий региона. Валидация, как завершающий этап разработанной методики, была проведена на примере сырья, заготовленного в Воронежской области. Были определены такие показатели как специфичность методики, линейность и предел обнаружения, правильность методики, прецизионность методики на этапе сходимости.

Заключение. В результате исследования установлена валидность разработанной методики количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин в цветках каштана конского. Полученные результаты валидации позволяют рекомендовать методику для количественного определения флавоноидов в цветках каштана конского. Определена вариабельность накопления данной группы БАВ в сырье (от 3,30 до 4,55%) в зависимости от совокупности эколого-географических факторов региона произрастания. Рекомендован унифицированный критерий оценки качества данного сырья для будущего проекта ФС «Цветки каштана конского обыкновенного» по показателю «Количественное определение» суммы флавоноидов в пересчете на рутин не менее 2%.

Ключевые слова: цветки каштана конского, количественное определение флавоноидов, валидация методики

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF A METHODOLOGY FOR THE DETERMINATION OF FLAVONOIDS IN HORSE CHESTNUT FLOWERS OF VARIOUS GROWING REGIONSDunilin A.D.¹, Trineva O.V.¹, Kovaleva T.Yu.²¹Voronezh State University, 1, Universitetskaya Pl., 394006, Voronezh, Russia²I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), 8-2, Trubetskaya St., 2119991, Moscow, Russia*Abstract*

Objective. Development and validation of a methodology for the determination of flavonoids in horse chestnut flowers of various growing regions.

Methods. The amount of flavonoids in medicinal plant raw materials harvested in the Leningrad, Moscow, Voronezh, Volgograd regions and Stavropol territory during flowering in 2023 was determined using a technique for this type of raw material developed earlier, based on the method of quantitative

determination of flavonoids in the flowers of black elderberry (*Sambucus nigra* L.) GF RF XIV FS.2.5.0008.15. The choice of regions for harvesting raw materials was determined, firstly, by the traditional natural area of cultivation of this plant (Fig. 1), secondly, the need to assess the influence of a combination of natural environmental factors on the accumulation of flavonoids in flowers.

Results. The content of flavonoids varied from 3.30 to 4.55% depending on the region. The highest content of flavonoids in terms of rutin was shown by flowers harvested in the Stavropol Territory (4.55%), which may be due to the most favorable combination of climatic conditions in the region. Validation, as the final stage of the developed methodology, was carried out using the example of raw materials harvested in the Voronezh region. Such indicators as specificity of the technique, linearity and limit of detection, correctness of the technique, precision of the technique at the convergence stage were determined.

Conclusion. As a result of the study, the validity of the developed methodology for quantifying the amount of flavonoids in terms of rutin in horse chestnut flowers was established. The obtained validation results allow us to recommend a technique for the quantitative determination of flavonoids in horse chestnut flowers. The variability of accumulation of this group of BAS in raw materials (from 3.30 to 4.55%) was determined depending on the combination of ecological and geographical factors of the growing region. A unified criterion for evaluating the quality of this raw material is recommended for the future FS project "Horse chestnut flowers" according to the indicator "Quantitative determination" of the amount of flavonoids in terms of rutin of at least 2%.

Keywords: horse chestnut flowers, quantitative determination of flavonoids, validation of the technique

Введение

Флавоноиды – обширная группа полифенольных антиоксидантов, являющихся вторичными метаболитами, встречающимися преимущественно в надземной части растений [17,26-28]. Данная группа химических соединений оказывает благотворное влияние на организм человека, в частности укрепляя стенки капилляров. Данное свойство важно при лечении заболеваний вен, связанных с увеличением проницаемости их стенки [14,22,23,25].

Каштан конский (*Aesculus hippocastanum* L.) растение рода Конский каштан (*Aesculus* L.), семейства Конскокаштановые (*Hippocastanaceae* A.Rich.) является перспективным лекарственным растительным сырьем (ЛРС), широко используемом при различных сосудистых заболеваниях в официальной и народной медицине многих стран [1]. Фармакопейным сырьем на данный момент являются семена каштана конского, в народной медицине используют также цветки, листья, кору, почки и коробочки каштана [15,16,21,24]. Согласно литературным данным известно, что в цветках каштана конского содержатся флавоноиды, а также другие группы биологически активных веществ (БАВ). Нормативная документация на данный вид сырья в настоящее время не разработана. Следовательно, при комплексном изучении фитохимического состава цветков актуальным следует считать исследование состава флавоноидов и разработку методик их идентификации и количественного определения для последующего включения в проект ФС на данное растительное сырье.

Целью работы являлась разработка и валидация методики определения флавоноидов в цветках каштана конского различных регионов произрастания.

Методика

Объектом исследования служили высушенные воздушно-теневым методом цветки каштана конского обыкновенного, заготовленные в Петрозаводском городском округе, Ленинградской, Московской, Воронежской, Волгоградской областях и Ставропольском крае во время цветения в 2023 г. Выбор регионов заготовки сырья был обусловлен, во-первых, традиционным естественным ареалом культивирования данного растения (рис. 1), во-вторых, необходимостью оценки влияния совокупности природных факторов окружающей среды на накопление флавоноидов в цветках. Обобщенные данные о характеристике природных условий в изучаемых регионах заготовки цветков каштана конского за последние 30 лет (на примере Европейской части РФ) приведены в табл. 1. В работе использованы данные официальных сайтов [2,6-13,18,20].



Рис. 1. Природный ареал культивирования каштана конского обыкновенного на территории РФ [19]

Таблица 2. Характеристика природных условий в изучаемых регионах заготовки цветков каштана конского

№	Климатический фактор	Регион заготовки					
		Петрозаводский городской округ	Ленинградская обл.	Московская обл.	Воронежская обл.	Волгоградская обл.	Ставропольский край
1	Среднегодовое количество осадков, мм в год	756	667,7	669	518	363	767
2	Тип почв	Подзолы иллювиально-железистые и иллювиально-гумусовые без разделения (подзолы иллювиально-мало- и многогумусовые)	Подзолы глеевые торфянистые и торфяные преимущественно иллювиально-гумусовые	Дерново-подзолистые преимущественно мелко- и неглубоко подзолистые	Черноземы обыкновенные	Черноземы южные	Черноземы южные и обыкновенные мицелярно-карбонатные (черноземы глубокие карбонатные)
3	Среднегодовая температура, °С	3,8	6,3	5,8	10	12	9,9
4	Количество солнечных дней	63	85	105	138	158	140
5	Климатический пояс	Умеренный					
6	Тип климата	Атлантико-континентальный		Умеренно континентальный		Континентальный	Умеренно континентальный
7	Средняя температура января, °С	-8,7	-7,9	-9	-10	-7	-3,5
8	Средняя температура июля, °С	+18,1	+17,5	+18,3	+20	+24	+22,4

Для определения суммы флавоноидов адаптировали известную фармакопейную методику их количественного анализа методом дифференциальной спектрофотометрии [3]. Измерение оптической плотности проводили на спектрофотометре СФ-2000 (ОКБ «Спектр», СПб, Россия). Валидация методики проведена в соответствии с ОФС «Валидация аналитических методик» ГФ

РФ XV издания [3]. Статистическая обработка результатов проведена в Microsoft Excel 2016. Озвучивание сырья при проведении экстракции проводили на ультразвуковой бане «Град 40-35» (Россия).

Обсуждение результатов исследования

Вид спектров поглощения извлечений из цветков относительно растворов сравнения демонстрировал наличие выраженного пологого максимума в диапазоне 407 ± 2 нм, что свидетельствовало о возможности использования стандартного образца рутина для проведения пересчета суммы флавоноидов (рис. 2 а и б).

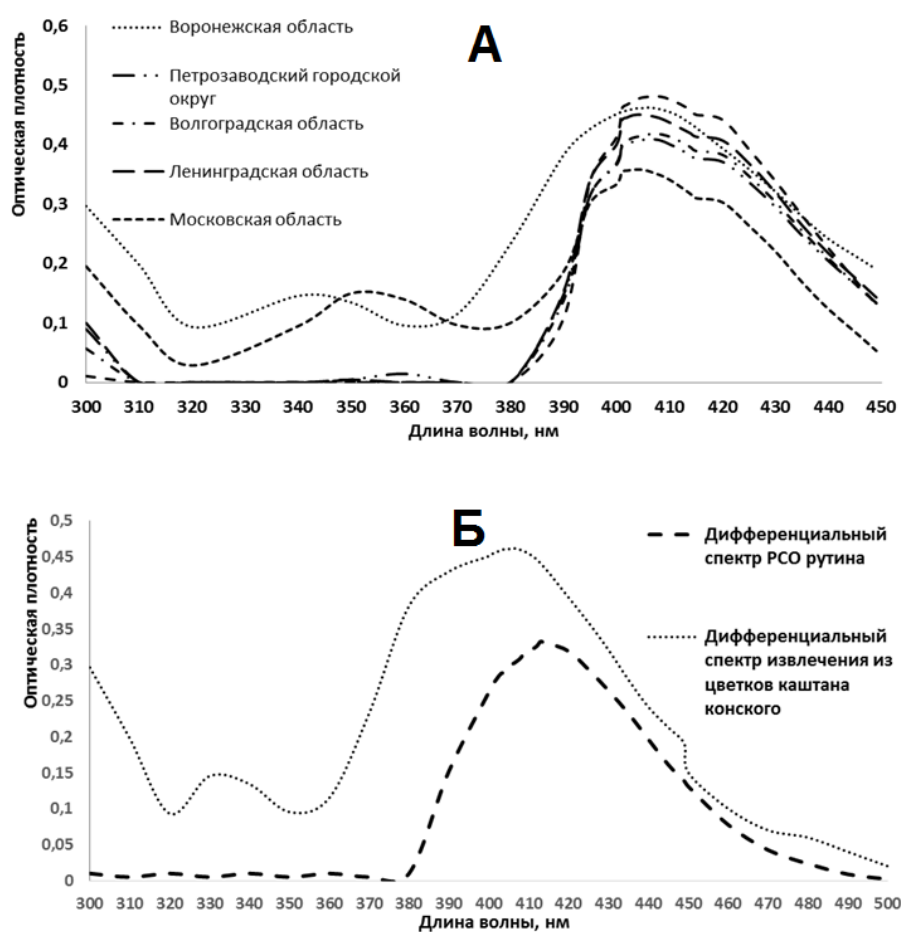


Рис. 2. Вид дифференциальных спектров поглощения: А – спектр поглощения комплекса флавоноидов с алюминием цветков каштана конского различных регионов произрастания; Б – спектр поглощения комплекса РСО рутина с алюминием

В предыдущих исследованиях нами были подобраны оптимальные условия извлечения суммы флавоноидов из данного ЛРС [4,5] (на примере цветков, заготовленных от растения в Воронежской области) (табл. 2).

Учитывая, что изучение технологических параметров, позволяющих максимально полно извлекать биологически активные вещества из растительного сырья приобретает все большую актуальность, проведено также изучение влияния ультразвука (УЗ) на извлечение флавоноидов из цветков каштана конского. Извлечение БАВ из цветков каштана проводили, нагревая точную навеску измельченных цветков каштана со спиртом этиловым на ультразвуковой бане при температуре 45°C и частотой 50 Гц, с обратным холодильником по выше описанным параметрам.

Таблица 2. Выбор оптимальных условий извлечения суммы флавоноидов из цветков каштана конского

Исследуемый параметр извлечения	Содержание суммы флавоноидов, %					
	Вода	Спирт этиловый				
Экстрагент		20%	40%	50%	70%	96%
	2,10±0,03	2,27±0,04	3,89±0,10	3,77±0,02	4,36±0,11	3,63±0,04
Сырье: экстрагент	Однократная 1:50	Однократная 1:100		Двукратная 1:50	Двукратная 1:100	
	3,51±0,1	2,8±0,08		3,65±0,11	4,51±0,14	
Время экстракции, мин.	30	60		90	120	
	3,71±0,07	4,40±0,09		4,00±0,08	3,48±0,07	
Временя созревания окраски	50 мин.					
Стабильность комплекса флавоноидов во времени	С 50 до 60 минуты после добавления комплексообразователя					
Оптимальное соотношение извлечения и алюминия хлорида 2%	1:1			1:2		
	4,53±0,1			4,78±0,11		
Подкисление раствором уксусной кислоты	С добавлением уксусной к-ты			Без добавления уксусной к-ты		
	3,37±0,11			4,46±0,13		

Результаты сравнительной оценки двух способов выделения флавоноидов из цветков приведены в табл. 3, из которой следует, что при использовании водяной бани (суммарно по исследуемым параметрам получения извлечения) количество извлекаемых флавоноидов в два раза выше, чем при использовании УЗ-экстракции.

Таблица 3. Сравнительная характеристика способов экстракции флавоноидов из цветков каштана конского

Параметр получения извлечения	УЗ-баня	Водяная баня	
Размер частиц			
	0,5 мм	3,74±0,12	3,60±0,11
	1,0 мм	2,30±0,07	5,23±0,016
2,0 мм	1,46±0,04	1,47±0,04	
Концентрация спирта			
	40%	2,37±0,07	3,40±0,11
	50%	1,85±0,05	4,37±0,14
70%	2,30±0,07	5,23±0,16	
Время экстракции			
	30 мин.	1,12±0,03	1,86±0,06
	60 мин.	2,30±0,07	5,23±0,16
120 мин.	1,27±0,04	1,79±0,05	

Методика количественного определения: Аналитическую навеску измельченной до порошкообразного состояния растительного сырья помещали в колбу конической формы (объем 100 мл), 1 грамм (точная навеска) заливали в соотношении 1:50 спиртом этиловым 70%. Экстракцию осуществляли в течение 30 минут на водяной бане с обратным холодильником. Для получения раствора А, извлечение охлаждали и фильтровали через бумажный фильтр «Белая лента» в мерную колбу на 100 мл. Сырье и фильтр возвращали в коническую колбу заливали в соотношении 1:50 спиртом этиловым 70% и повторяли экстракцию в течении 30 мин. охлаждали и фильтровали через бумажный фильтр «Белая лента» в ту же мерную колбу на 100 мл, при необходимости доводили объем спиртом этиловым 70% до метки (раствор А).

Рабочий раствор готовили в мерной колбе объемом 25 мл, куда помещали 1,0 мл раствора А, и 2,0 мл 2% раствора алюминия хлорида в 95% спирте этиловом, объем раствора доводили до метки 95% спиртом этиловым.

Раствор сравнения: 1,0 мл раствора А, доведенного 95% спиртом этиловым до метки в мерной колбе вместимостью 25,0 мл.

Оптическую плотность измеряли через 50 мин. после добавления алюминия хлорида в кювете с толщиной слоя 10 мм.

Параллельно измеряли оптическую плотность РСО рутина. В мерную колбу вместимостью 25 мл помещали 1,0 мл 0,05% раствора рутина, 2,0 мл 2% раствора алюминия хлорида в 95% спирте этиловом и доводили объем раствора 95% спиртом до метки. Раствор сравнения: в мерную колбу вместимостью 25 мл помещали 1,0 мл 0,05% РСО рутина и доводили объем раствора 95% спиртом до метки.

Приготовление РСО рутина и алюминия хлорида проводили в соответствии с НД [3]. Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин (X) в процентах в абсолютно сухом сырье вычисляли по формуле:

$$X = \frac{A \cdot a_0 \cdot 100 \cdot 1 \cdot 25 \cdot 100 \cdot 100}{A_0 \cdot a \cdot 100 \cdot 1 \cdot 25 \cdot (100 - W)}$$

где A – оптическая плотность испытуемого раствора после взаимодействия с AlCl₃; A₀ – оптическая плотность РСО рутина после взаимодействия с AlCl₃; a – масса сырья, г; a₀ – масса СО рутина, г; W – потеря в массе при высушивании, %.

С использованием разработанной методики было определено содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин при анализе цветков каштана конского различных регионов произрастания (табл. 4).

Таблица 4. Содержание суммы флавоноидов в цветках каштана конского различных регионов произрастания, в пересчете на рутин (%)

Регион произрастания	Сумма флавоноидов, %
Петрозаводский городской округ	3,41±0,11
Ленинградская область	4,46±0,14
Московская область	3,30±0,11
Воронежская область	3,30±0,11
Волгоградская область	3,53±0,11
Ставропольский край	4,55±0,15

Содержание флавоноидов в зависимости от региона варьировало от 3,30 до 4,55%. Наибольшее содержание флавоноидов в пересчете на рутин показали цветки, заготовленные в Ставропольском крае (4,55%), что может быть связано с самым благоприятным сочетанием климатических условий региона (табл. 1).

В результате расчета метрологических характеристик разработанной методики (на примере цветков каштана конского, произрастающих на территории Воронежской области) установлено, что относительная ошибка с доверительной вероятностью 95% составляет около 3%, т.е. находится в пределах случайной ошибки (табл. 5).

Таблица 5. Метрологическая характеристика методики количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин в цветках каштана конского (P=95 %; n=6)

X _{ср}	S ²	S	S _{хср}	ΔX	ΔX _{ср}	ε, %	ε _{ср} , %
3,29743	0,010377	0,10187	0,04159	0,26181	0,10688	7,94	3,24

Валидация, как завершающий этап разработанной методики, была проведена на примере сырья, заготовленного в Воронежской области. Принятое опорное значение 3,32×10⁻⁴ г/мл извлечения.

При установлении специфичности методики использовался метод добавок. К извлечению добавляли 0,5 мл 0,05% РСО рутина, что сопровождалось гиперхромным смещением максимума поглощения комплекса флавоноидов цветков каштана конского с алюминия хлоридом на дифференциальном спектре (рис. 3).

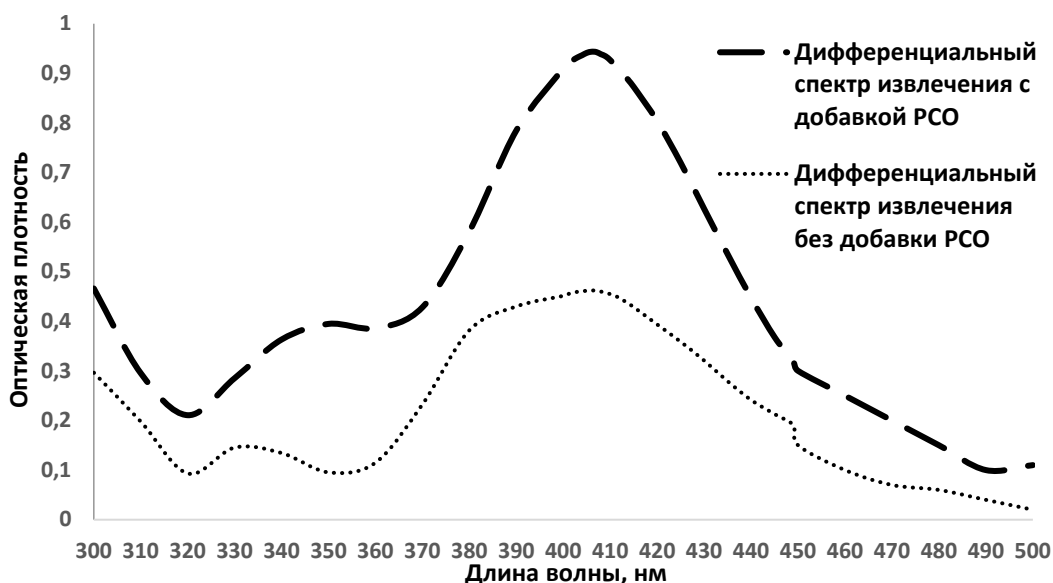


Рис. 3. Вид дифференциальных спектров поглощения комплексов алюминия с флавоноидами каштана конского при оценке специфичности методики

Для установления области линейности методики измеряли оптическую плотность 6 аликвот извлечения из цветков каштана конского обыкновенного в диапазоне от 70 до 130% от номинального значения, в результате чего была получена градуировочная зависимость (рис. 4).

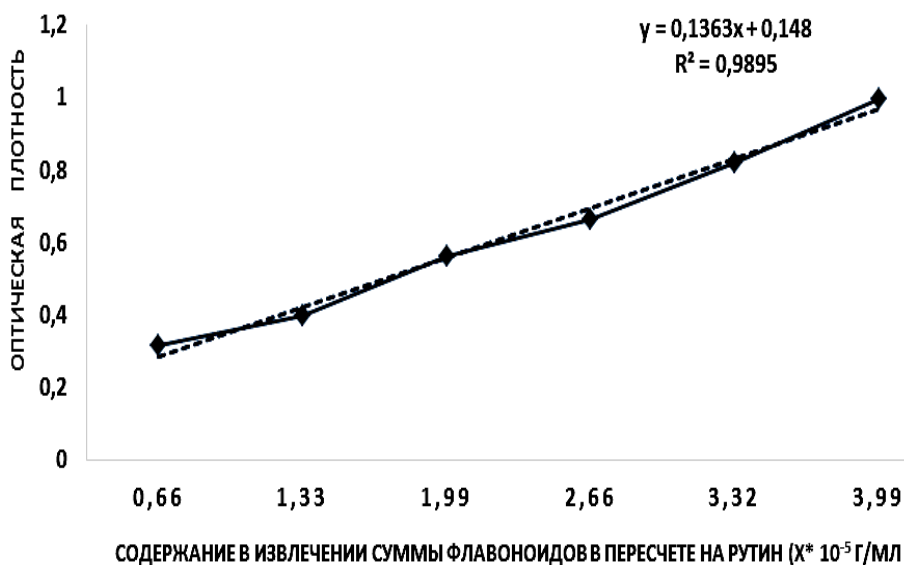


Рис. 4. Градуировочная зависимость величины оптической плотности от содержания суммы флавоноидов в пересчете на рутин в анализируемом растворе

При определении показателя предел обнаружения установлено, что наименьшее количество определяемого вещества в образце, которое может быть обнаружено по разработанной методике, составило $0,2 \times 10^{-5}$ г/мл.

Оценку правильности разработанной методики проводили методом «введено-найдено» на четырех уровнях концентраций в 3 повторностях каждый (табл. 6). Процент восстановления методики соответствовал требованиям к данному показателю ($100 \pm 5\%$).

Таблица 6. Определение правильности методики количественного определения суммы флавоноидов в цветках каштана конского

Было (принятое опорное значение) г суммы флавоноидов в извлечении	Добавлено РСО рутина, г	Ожидаемое содержание, г	Полученное содержание, г	% восстановления
0,0003323578	0,00035	0,0006823578	0,000702706	102,98
			0,000705882	103,45
			0,0006661420	97,62
	0,00025	0,0005823578	0,000553019	95,00
			0,000585186	100,50
			0,000587940	100,96
	0,0005	0,0008323578	0,000797561	95,82
			0,000786100	95,00
			0,000840623	100,99
	0,000625	0,0009823578	0,000110695	112,68
			0,001012886	103,11
			0,001072103	109,14
Средний % восстановления методики				101,44

Прецизионность методики на этапе сходимости выявляли на 6 параллельных определениях в одних условиях на одном и том же оборудовании одним и тем оператором за один рабочий день (табл. 7).

Таблица 7. Определение сходимости методики количественного определения флавоноидов в цветках каштана конского

Номер опыта	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин, %
1	3,27
2	3,32
3	3,18
4	3,19
5	3,40
6	3,42
Среднее значение (SD, %)	3,30
Относительное стандартное отклонение (RSD), %	3,09

Таким образом, в результате исследования установлена валидность разработанной методики количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин в цветках каштана конского (табл. 8).

Таблица 8. Валидационные характеристики методики количественного определения в цветках каштана конского обыкновенного суммы флавоноидов в пересчете на рутин

Характеристика	Значение
Правильность	R = 101,44%
Сходимость	RSD = 3,09%
Линейность	$y=0,1363x+0,148$, $R^2 = 0,9895$
Минимальное значение, %	3,18
Максимальное значение, %	3,42
Среднее значение, %	3,30
Значение доверительного интервала (P=95%), %	$3,30 \pm 0,10688$
Область линейности	$0,66-3,99 \times 10^{-5}$ г/мл извлечения
Предел обнаружения	$0,2 \times 10^{-5}$ г/мл извлечения

Заключение

Таким образом, разработана и валидирована методика количественного содержания суммы флавоноидов в пересчете на рутин в цветках каштана конского методом дифференциальной спектрофотометрии. Полученные результаты валидации позволяют рекомендовать методику для количественного определения флавоноидов в цветках каштана конского. Определена вариабельность накопления данной группы БАВ в сырье (от 3,30 до 4,55%) в зависимости от совокупности эколого-географических факторов региона произрастания. На основании проведенных исследований можно рекомендовать унифицированный критерий оценки качества данного сырья для будущего проекта ФС «Цветки каштана конского обыкновенного» по показателю «Количественное определение» суммы флавоноидов в пересчете на рутин не менее 2%.

Литература (references)

1. Белов П.В. Фармакогностическое исследование каштана конского обыкновенного (*Aesculus hippocastanum* L.) как перспективного источника биологически активных веществ: Дис. ... канд. фармацевт. наук. - Самара. – 2020. – 164 с. [Belov P.V. *Farmakognosticheskoe issledovanie kashтана konskogo obyknovennogo (Aesculus hippocastanum L.) kak perspektivnogo istochnika biologicheskii aktivnykh veshchestv (doctoral dis.)*. Pharmacognostic study of horse chestnut (*Aesculus hippocastanum* L.) as a promising source of biologically active substances (Doctoral Thesis). – Samara, 2020. – 164 p. (in Russian)]
2. Геоинформационная система «Метео измерения онлайн» – URL: https://thermo.karelia.ru/weather/w_precips.shtml [*Geoinformatsionnaya sistema «Meteo izmereniya onlain»*]. Geographic information system «Meteorological measurements online». - URL: https://thermo.karelia.ru/weather/w_precips.shtml (in Russian)]
3. Государственная фармакопея Российской Федерации XV издания. – URL: <https://femb.ru/record/pharmacopea15> [*Gosudarstvennaya Farmakopeya Rossiiskoi Federatsii XIV izdaniya*. State Pharmacopoeia of the Russian Federation XIV edition. – URL: <https://femb.ru/record/pharmacopea14> (in Russian)]
4. Дунилин А.Д., Чистякова А.С. Изучение флавоноидов цветков каштана конского обыкновенного // 90 лет - от растения до лекарственного препарата: достижения и перспективы : Сборник материалов юбилейной международной научной конференции, Москва, 10-11 июня 2021 года. – Москва, 2021. – С. 196-200. [Dunilin A.D., Chistyakova A.S. *Izuchenie flavonoidov tsvetkov kashтана konskogo obyknovennogo. 90 let - ot rasteniya do lekarstvennogo preparata: dostizheniya i perspektivy: Sbornik materialov yubileinoi mezhdunarodnoi nauchnoi konferentsii*. 90 years - from a plant to a medicinal product: achievements and prospects: Collection of materials of the jubilee international scientific conference, Moscow, June 10-11, 2021. – Moscow, 2021. – P. 196-200. (in Russian)]
5. Евсиков Ф.Д., Дунилин А.Д., Гудкова А.А. и др. Влияние ультразвука на извлечение БАВ из каштана цветков // Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Актуальные вопросы разработки и исследования новых лекарственных средств : Сборник трудов 8-й Международной научно-методической конференции, Воронеж, 31 марта – 02 апреля 2022 года / Под общей редакцией А.С. Беленовой, А.А. Гудковой. – Воронеж, 2022. – С. 213-219. [Evsikov F.D., Dunilin A.D., Gudkova A.A. i dr. *Vliyanie ul'trazvuka na izvlechenie BAV iz kashтана tsvetkov. Puti i formy sovershenstvovaniya farmatsevticheskogo obrazovaniya. Aktual'nye voprosy razrabotki i issledovaniya novykh lekarstvennykh sredstv: Sbornik trudov 8-i Mezhdunarodnoi nauchno-metodicheskoi konferentsii*. Ways and forms of improving pharmaceutical education. Topical issues of the development and research of new medicines: Proceedings of the 8th International Scientific and Methodological Conference, March 31 – April 02, Voronezh, 2022. – P. 213-219. (in Russian)]
6. Единый государственный реестр почвенных ресурсов России. – URL: <https://egrpr.esoil.ru/content/2poc.html> [*Edinyi gosudarstvennyi reestr pochvennykh resursov Rossii*. Unified State Register of Soil Resources of Russia URL: <https://egrpr.esoil.ru/content/2poc.html> (in Russian)].
7. Климатическое районирование. – URL: <https://nationalatlas.ru/tom2/146-150.html> [*Klimaticheskoe raionirovanie*. Climatic zoning. - URL: <https://nationalatlas.ru/tom2/146-150.html> (in Russian)] .
8. Климатические условия Волгоградской области. – URL: <https://hikersbay.com/climate-conditions/russia/volgograd/klimaticheskie-usloviya-v-volgograd.html?lang=ru> [*Klimaticheskie usloviya Volgogradskoi oblasti*. Climatic conditions of the Volgograd region. - URL: <https://hikersbay.com/climate-conditions/russia/volgograd/klimaticheskie-usloviya-v-volgograd.html?lang=ru> (in Russian)]
9. Климатические условия Воронежской области. – URL: <https://hikersbay.com/climate-conditions/russia/voronezh/klimaticheskie-usloviya-v-voronezh.html?lang=ru> [*Klimaticheskie usloviya*

- Voronezhskoi oblasti*. Climatic conditions of the Voronezh region. - URL: <https://hikersbay.com/climate-conditions/russia/voronezh/klimaticheskie-usloviya-v-voronezh.html?lang=ru> (in Russian)]
10. Климатические условия Московской области. – URL: <https://weatherarchive.ru/Pogoda/Moscow?ysclid=lu4cbzhrsb202423709> [*Klimaticheskie usloviya Moskovskoi oblasti*. Climatic conditions of the Moscow region. - URL: <https://weatherarchive.ru/Pogoda/Moscow?ysclid=lu4cbzhrsb202423709> (in Russian)]
 11. Климат республики Карелия. – URL: <https://ru.climate-data.org/азия/российская-федерация/республика-карелия/петрозаводск-393/> [*Klimat respubliki Kareliya*. Climate of the Republic of Karelia– URL: <https://ru.climate-data.org/азия/российская-федерация/республика-карелия/петрозаводск-393/> (in Russian)]
 12. Климат Ставропольского края. – URL: <https://ru.climate-data.org/азия/российская-федерация/стравропольский-край/страврополь-884/> [*Klimat Stavropol'skogo kraja*. Climate of the Stavropol Territory. - URL: <https://ru.climate-data.org/азия/российская-федерация/стравропольский-край/страврополь-884/> (in Russian)]
 13. Количество солнечных дней. – URL: <https://anyroad.ru/city/weather/sunnydays/санкт-петербург,ленинградская-область> [*Kolichestvo solnechnykh dnei*. Number of sunny days. - URL: <https://anyroad.ru/city/weather/sunnydays/санкт-петербург,ленинградская-область> (in Russian)]
 14. Кнорринг Г.Ю. Обоснование и эффективность комбинированной терапии хронических анальных трещин и геморроя // Амбулаторная хирургия. – 2022. – Т. 19, № 2. – С. 106-110. [Knorring G.Yu. *Ambulatornaya khirurgiya*. Outpatient surgery. – 2022. – V. 19, N2. – P. 106-110. (in Russian)]
 15. Куркин В.А., Белов П.В., Рыжов В.М. Количественное определение суммы флавоноидов в почках каштана конского обыкновенного // Химико-фармацевтический журнал. – 2019. – Т. 53, №2. – С. 47-51. [Kurkin V.A., Belov P.V., Ryzhov V.M. *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal*. Chemical and Pharmaceutical Journal. – 2019. – V. 53, N2. – P. 47-51. (in Russian)]
 16. Саушкина А.С., Савченко Л.Н., Лихота Т.Т. Фитохимическое исследование листьев и цветков каштана конского обыкновенного // III Гаммермановские чтения: Сборник научных трудов научно-методической конференции, Санкт-Петербург, 31 января – 03 февраля 2017 года. – Санкт-Петербург, 2017. – С. 110-113. [Saushkina A.S., Savchenko L.N., Likhota T.T. *Fitokhimicheskoe issledovanie list'ev i tsvetkov kashтана kоnskogo obyknovennogo*. III Gammermanovskie chteniya: Sbornik nauchnykh trudov nauchno-metodicheskoi konferentsii, Sankt-Peterburg, – Sankt-Peterburg, 2017. – P. 110-113. III Hammermann readings: Collection of scientific papers of the scientific and methodological conference, St. Petersburg, 2017. – St. Petersburg, 2017. – P. 110-113. (in Russian)]
 17. Тринеева О.В., Сливкин А.И., Сафонова Е.Ф. Состав метаболома крапивы двудомной, произрастающей на территории Центрального Черноземья (обзор) // Химия растительного сырья. – 2022. – № 2. – С. 5-18. [Trineeva O.V., Slivkin A.I., Safonova E.F. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*. Chemistry of plant raw material. – 2022. – N2. – P. 5-18. (in Russian)]
 18. ФГБУ «Северо-Западное управление по гидрометеорологии и мониторингу окружающей среды». – URL: www.meteo.nw.ru [FGBU «Severo-Zapadnoe upravlenie po gidrometeorologii i monitoringu okruzhayushchei sredy». FSBI «North-West Department for Hydrometeorology and Environmental Monitoring». - URL: www.meteo.nw.ru (in Russian)]
 19. Энциклопедия лекарственных растений. – URL: https://lektrava.ru/encyclopedia/kashtan-konskiy/?sphrase_id=181770 [*Entsiklopediya lekarstvennykh rastenii*. Encyclopedia of medicinal plants. - URL: https://lektrava.ru/encyclopedia/kashtan-konskiy/?sphrase_id=181770 (in Russian)]
 20. 365 по Цельсию. – URL: https://pogoda.365c.ru/russia/voronezh/po_mesyacam?ysclid=lu4dwlcn5803644606 [365 po Tsel'siyu. 365 Celsius - URL: https://pogoda.365c.ru/russia/voronezh/po_mesyacam?ysclid=lu4dwlcn5803644606 (in Russian)]
 21. Bielarska A.M., Jasek J.W., Kazimierzak R. et al. Red horse chestnut and horse chestnut flowers and leaves: a potential and powerful source of polyphenols with high antioxidant capacity // *Molecules*. – 2022. – V.27(7). – P. 2279.
 22. Ciumărnean L., Milaciu M.V., Runcan O. et al. The Effects of Flavonoids in Cardiovascular Diseases // *Molecules* – 2020. – V.25(18). – P. 4320.
 23. Grijalva-Guiza R.E., Jiménez-Garduño A.M., Hernández L.R. Potential benefits of flavonoids on the progression of atherosclerosis by their effect on vascular smooth muscle excitability // *Molecules*. – 2021. – V.26(12). – P. 3557.
 24. Owczarek A., Kołodziejczyk-Czepas J., Marczuk P. et al. Bioactivity potential of *Aesculus hippocastanum* L. flower: phytochemical profile, antiradical capacity and protective effects on human plasma components under oxidative/nitrative stress in vitro // *Pharmaceuticals (Basel)*. – 2021. – V.14(12). – P. 1301.
 25. Ramos R.T.M., Bezerra I.C.F., Ferreira M.R.A. et al. Spectrophotometric quantification of flavonoids in herbal material, crude extract, and fractions from leaves of *Eugenia uniflora* Linn. // *Pharmacognosy Research*. – 2017. – V.9(3). – P. 253-260.
 26. Saeed N., Khan M.R., Shabbir M. Antioxidant activity, total phenolic and total flavonoid contents of whole plant extracts *Torilis leptophylla* L. // *BMC Complement Altern Med*. – 2012. – V.12. – P. 221.

27. Sankhalkar S., Vernekar V. Quantitative and qualitative analysis of phenolic and flavonoid content in *Moringa oleifera* Lam and *Ocimum tenuiflorum* L. // Pharmacognosy Research. – 2016. – V.8(1). – P. 16-21.
28. Tungmunnithum D., Thongboonyou A., Pholboon A. et. al. Flavonoids and other phenolic compounds from medicinal plants for pharmaceutical and medical aspects: An overview // Medicines (Basel). – 2018. – V.5(3). – P. 93.

Информация об авторах

Дунилин Александр Денисович – аспирант 1-го года обучения кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет», инженер-химик. E-mail: ad.dunilin@gmail.com

Тринеева Ольга Валерьевна – доктор фармацевтических наук, профессор кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет». E-mail: trineevaov@mail.ru

Ковалева Татьяна Юрьевна – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармацевтического естествознания Института фармации им. А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России» (Сеченовский университет). E-mail: kovaleva_t_yu@staff.sechenov.r

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 07.05.2024

Принята к печати 20.09.2024