

Аминова Айшат Аминовна

**ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ СОЛЯНКИ ИБЕРИЙСКОЙ
ФЛОРЫ РЕСПУБЛИКИ ДАГЕСТАН**

14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук**

ПЕРМЬ – 2019

Работа выполнена в Пятигорском медико-фармацевтическом институте – филиале федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор фармацевтических наук, профессор **Денисенко Олег Наумович**

Официальные оппоненты:

Белоусов Михаил Валерьевич - доктор фармацевтических наук, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра фармацевтического анализа, заведующий кафедрой

Писарев Дмитрий Иванович - доктор фармацевтических наук, профессор, федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», кафедра общей химии, профессор кафедры

Ведущая организация:

федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Уфа

Защита состоится «26» февраля 2019 года в ____ часов на заседании диссертационного совета Д 208.068.02 при федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации (614990, г. Пермь, ул. Полевая, д. 2, тел. (342) 233-55-01).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке (614070, г. Пермь, ул. Крупской, 46) и на сайте (<http://www.pfa.ru>) федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Автореферат разослан «___»_____ 2019 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат химических наук

Замараева Татьяна Михайловна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. В настоящее время одним из актуальных и динамично развивающихся научных направлений является комплексное исследование галофитов – видов, характеризующихся высокой солеустойчивостью, способных нормально развиваться в жестких аридных условиях на сильнозасоленных почвах, давая при этом большую биомассу и урожайность семян. Галофиты представляют интерес как кормовые, масличные, лекарственные, декоративные виды, а также как энергоносители, компоненты технологии экологической реставрации и мелиорации деградированных пастбищных земель. Галофиты широко распространены во флоре Дагестана, в особенности в Приморской низменности. К числу ведущих галофильных семейств республики относится семейство маревые (*Chenopodiaceae* Vent.), основным в количественном отношении галофитным родом является род солянка (*Salsola* L.). Ряд видов рода солянка находят широкое применение в народной и официальной медицине. Извлечения из травы солянки холмовой используются для лечения заболеваний печени. Солянка Рихтера является сырьем для получения алкалоидов сальсолин и сальсолидин, которые использовали при гипертонической болезни и спазмах сосудов головного мозга. Исходя из принципа филогенетического родства, мы поставили задачу увеличить номенклатуру лекарственного растительного сырья, перспективного как источника биологически активных веществ антиоксидантного и гепатопротекторного действия за счет одного из видов рода солянки флоры Дагестана. Объектом исследования была определена солянка иберийская *Salsola iberica* (Sennen & Pau) Botsch. (Черепанов, 1973), она же *Salsola pestifer* A. Nelson. (Гроссгейм, 1945), она же *Salsola ruthenica* Pjin. (Флора СССР, 1934), она же *Salsola tragus* ssp. *iberica* Sennen & Pau (Флора Дагестана, 2009). Солянка иберийская, являющаяся перспективным в сырьевом отношении видом, в молодом состоянии до периода плодоношения используется в качестве топлива, иногда скашивается на зимний корм верблюдам, пригодна для силосования. Является источником поташа для изготовления мыла и золы для кустарной окраски шерсти. Исходя из широкого распространения солянки иберийской во флоре республики Дагестан, способности произрастать в жестких условиях окружающей среды, продуцируя большую биомассу, и активного использования близкородственных видов в медицинской практике, комплексное фармакогностическое исследование солянки иберийской для расширения ассортимента

отечественных гепатопротекторных растительных средств, представляет несомненный научный и практический интерес.

Степень разработанности темы. Наиболее изученными в нашей стране являются солянка Рихтера и солянка холмовая. Учеными во главе с А.П. Ореховым было обнаружено, что солянка Рихтера является источником алкалоидов сальсолин и сальсолидин, которые впоследствии применялись при гипертонии и стенокардии. Лохеин и салсоколлин, представляющие собой соответственно жидкий и сухой экстракт травы солянки холмовой, были предложены исследователями Сибирского государственного медицинского университета под руководством профессора А.С. Саратикова. Что касается солянки иберийской, то учеными итальянского Университета Калабрии было установлено, что выделенные из травы алкалоидные комплексы проявляют антихолинэстеразную и антиоксидантную активность, что дало авторам основание предложить экстракт для лечения болезни Альцгеймера. Также итальянскими исследователями доказана эффективность использования вида в качестве антигипертензивного средства. Фитохимических исследований солянки иберийской, произрастающей в нашей стране, ранее не проводилось.

Научная новизна заключается в том, что впервые проведены комплексные фармакогностические исследования малоизученного вида - солянки иберийской (с. иберийской) флоры Дагестана. Впервые изучен состав фенольных соединений, аминокислот, элементов травы и липидов семян, проведены нормативные исследования сырья и установлена острая токсичность и гепатопротекторное действие экстракта травы.

Практическая новизна работы состоит в том, что на основании комплекса полученных экспериментальных данных по составу биологически активных веществ и фармакологической активности с. иберийской предложено новое лекарственное растительное сырье для получения фитопрепаратов гепатопротекторного действия – трава с. иберийской. Результаты изучения семенной продуктивности и липидов семян позволили решить задачу рационального использования ресурсов сырья с. иберийской (трава и семена). Полученные при разработке нормативной документации показатели дали возможность установить нормативы качества на новое лекарственное растительное сырье, обеспечивающие его безопасность и эффективность. Материалы региональных ресурсных исследований вида дали возможность решить некоторые вопросы по обеспечению сырьевой базы при использовании природно-ресурсного потенциала

республики Дагестан и установить величины объема заготовок сырья. Результаты комплексного фармакогностического исследования вида легли в основу разработанных автором: проекта нормативного документа «Солянки иберийской трава», согласованного и апробированного научно-производственным объединением «Пульс» (Ставрополь, 2018 г.); «Инструкции по сбору и сушке», утвержденной ФГБОУ ВО «Дагестанский государственный медицинский университет» МЗ РФ (Махачкала, 2017 г.). Часть материалов работы включена в лекционный курс кафедры медицинской биологии и кафедры фармации ФГБОУ ВО «Дагестанский государственный медицинский университет» МЗ РФ (Махачкала, 2017 г.).

Цели и задачи. Целью диссертационной работы является проведение комплексных фармакогностических исследований с. иберийской для внедрения ее в практическую фармацию и медицину. Для реализации поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

1. Изучить химический состав травы с. иберийской;
2. Изучить состав липидов семян с. иберийской;
3. Провести ресурсную оценку природных популяций с. иберийской в Приморской низменности республики Дагестан;
4. Выявить основные диагностические признаки травы и семян;
5. Провести предварительные фармакологические исследования экстракта травы с. иберийской;
6. Установить нормативные показатели сырья и разработать нормативную документацию на траву солянки иберийской.

Методология и методы исследования. Методология фармакогностического исследования, включающая несколько блоков: информационно-исследовательский, фитохимический, стандартизационный, подразумевает научно обоснованную и целесообразно организованную последовательность действий. В работе использовались следующие методы исследований: химические, физико-химические (ГЖХ, УФ-спектрофотометрия, ВЭЖХ, жидкостная хроматография, масс-спектрометрия и др.) и фармакологические.

Положения, выносимые на защиту:

1. Результаты изучения химического состава травы и семян с. иберийской.

2. Результаты ресурсных исследований с. иберийской во флоре Приморской низменности республики Дагестан.

3. Результаты установления диагностических признаков травы.

4. Результаты предварительных фармакологических испытаний с. иберийской.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность полученных результатов достигается благодаря использованию современных химических, физико-химических и биологических методов, позволяющих получить воспроизводимые и однозначные результаты. Результаты измерений статистически обработаны с применением современных компьютерных программ (Microsoft Excel). Достоверность полученных данных также подтверждается апробацией используемых методик. Методика количественного определения дубильных веществ перманганатометрическим методом; перманганатометрическим методом в сочетании с осаждением дубильных веществ желатином и методика определения антиоксидантной активности методом амперометрии апробированы в условиях лаборатории фитохимии и медицинской ботаники Федерального государственного бюджетного учреждения науки Горный ботанический сад Дагестанского научного центра РАН (Махачкала, 2017 г.). Методика анализа фенольных соединений травы методом ВЭЖХ, методика определения состава жирных кислот семян методом ГЖХ апробированы в Ставропольском филиале ФГБУ «Информационно-методический центр по экспертизе, учету и анализу обращения средств медицинского применения» Росздравнадзора (Ставрополь, 2017 г.). Методики анализа, включенные в проект нормативного документа «Трава солянки иберийской», апробированы в ГУЗ «Республиканский центр контроля качества и сертификации лекарственных средств МЗ РСО-Алания» (Владикавказ, 2016 г.). Некоторые положения диссертационной работы доложены на XV Международной конференции «Биологическое разнообразие Кавказа и Юга России» (2013 г., Махачкала), Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 95-летию со дня рождения заслуженного деятеля науки РФ, профессора Д.А. Муравьевой (2017 г., Пятигорск).

Публикации по теме исследования. По материалам диссертации опубликовано 14 работ, в т.ч. 4 - в журналах, рекомендованных ВАК.

Личный вклад диссертанта состоит в поиске и анализе зарубежных и отечественных источников литературы, непосредственном участии во всех этапах

экспериментального процесса, получении исходных данных, их статистической обработке и интерпретации, анализе и обобщении полученных результатов, формулировке выводов и практических рекомендаций, оформлении диссертационной работы. Автор участвовал в научных конференциях, писал статьи для публикаций в научных журналах.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Основные положения диссертации соответствуют паспорту специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия. Область исследования и полученные результаты соответствуют пунктам 2, 5, 6 паспорта специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Объём и структура диссертации. Диссертационная работа изложена на 111 страницах машинописного текста, включает 15 таблиц и 26 рисунков. Список литературы представлен 113 источниками, в том числе 21 - иностранных авторов.

Во введении изложена актуальность темы, сформулированы цель и задачи исследования, обозначена новизна и практическая значимость проведённых исследований; описаны положения, выносимые на защиту.

В главе 1 дана систематика и экологические особенности семейства маревые, рассмотрены вопросы распространения видов рода *Salsola* L. на Северном Кавказе, в том числе в Дагестане; применения и химический состав некоторых представителей семейства маревые, а также современные представления о гепатопротекторной активности.

В главе 2 описаны объекты и методы исследования, используемые в работе.

Глава 3 посвящена ресурсным исследованиям с. иберийской в Приморской низменности республики Дагестан.

В главе 4 изложены результаты изучения биологически активных веществ травы и семян с. иберийской.

В главе 5 представлены данные морфолого-анатомических и нормативных исследований сырья.

Глава 6 содержит результаты предварительных фармакологических исследований извлечений из травы с. иберийской.

В Приложении представлены акты апробаций, акты внедрений, Инструкция по сбору и сушке, проект фармакопейной статьи на траву с. иберийской.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Объекты и методы исследования

Объектами исследования служили образцы травы и семян с. иберийской. Заготавливали траву в период цветения и созревания семян (начало-середина октября), срезая верхние цветущие не одревесневшие ветви длиной 15-30 см. Сбор и определение видовой принадлежности сырья осуществлялись в сотрудничестве с кафедрой ботаники Дагестанского Государственного Университета (канд. биол. наук, доцент кафедры Яровенко Е.В.) и кафедрой медицинской ботаники Дагестанского государственного медицинского университета (автор «Конспекта флоры Дагестана», канд. биол. наук, доцент кафедры; зав.лабораторией флоры и растительных ресурсов Горного ботанического сада Дагестанского научного центра РАН Муртазалиев Р.А.). Сбор сырья осуществляли в: поселке Турали (партия сырья № 1); поселке Черные камни (партия сырья № 2); поселке Новолакском (партия сырья № 3 и партия сырья № 4); поселке Сулак (Главный Сулак) (партия сырья № 5); поселках Манас и Манаскент (партия сырья № 6). Обрезанные ветви провяливали на солнце, затем сушили под навесами с хорошей вентиляцией, или в сушилках при температуре нагрева обезвоживаемого материала 30-40⁰С. В сухую погоду сушили сырье на открытом воздухе. Сушку считали законченной, когда трава не гнулась, а ломалась при сгибании.

Микропрепараты сырья изучали с помощью микроскопа Биомед-2 с фотонасадкой Digital Camera Electronic Eyepiece MD 300 (3.1 megapixels). Для обнаружения и количественного определения БАВ использовали качественные реакции, методы титриметрии, хроматографии, рентгенофлуоресценции, амперометрии. Для определения острой токсичности и гепатопротекторной активности применяли фармакологические методы.

Ресурсно-экологические исследования солянки иберийской

Ресурсные исследования с. иберийской проводили в 3 районах: прибрежная зона г. Каспийска и Махачкалы (Ленинский район г. Махачкала), прибрежная зона г. Махачкалы (база отдыха «Черные камни»), поселок Новолакский, район реки Сулак (таблица 1). Урожайность высушенной биомассы с. иберийской составила свыше 4,9 тонн с 1 Га. Наибольшая урожайность надземной части – около 8,7 тонн с 1 Га наблюдалась в прибрежной зоне г. Махачкалы. Для неистощительного ресурсного

использования величина объема ежегодных заготовок травы с. иберийской составила от 9,4 до 50,8 кг.

Таблица 1 – Урожайность зарослей и запасы сырья солянки иберийской

Ресурсные показатели	Ленинский район Махачкалы Площадь – 77,5 Га	прибрежная зона Махачкалы Площадь – 200,0 Га	поселок Новолакский Площадь – 612,2 Га
Урожайность, г/м ²	722±179	807±195	493±136
Биологический запас, кг	56.6	162.3	305.6
Эксплуатационный запас, кг	28.3	81.1	152.5
Величина возможных ежегодных заготовок, кг	9.4	27.05	50.8

Во всех обследованных районах растение склонно к образованию зарослей, реже встречается отдельными экземплярами. На участках представлены псаммофильные сообщества и, местами, полупустынная растительность, развиваемая на суглинистых почвах (василек песчаный, полынь таврическая, молочай Сегьеров и некоторые другие). На более закрепленных участках и в понижениях состав растительности меняется, проективное покрытие и видовое разнообразие увеличивается: сирения сидячецветковая, астрагал длинноцветковый, онома красильная и ряд других. В связи с близостью к населенным пунктам встречаются синантропные виды: свиной пальчатый, козелец кистистый, виды дурнишника и другие. Установлено, что с 1 Га площади можно собрать от 185 до 295 кг семян с. иберийской. При этом семена характеризуются высокой лабораторной всхожестью (более 83%), что косвенно указывает на возможность использования семенного размножения в случае введения вида в культуру.

Изучение биологически активных соединений с. иберийской

Согласно литературным данным, основным классом соединений, определяющим биологическую активность солянки холмовой, близкородственного вида солянки иберийской, являются полифенольные соединения, в связи с чем фитохимические исследования с. иберийской начали именно с этого класса соединений. Компонентный состав фенольных соединений определяли методом ВЭЖХ (таблица 2).

Таблица 2 - Состав фенольных соединений травы солянки иберийской

№	Время, мин	Площадь пика, mV×сек	Содержание (метод внутренней нормализации), %	Название соединения
2	4.677	27.50	0.11	Кофейная кислота
4	5.016	24.66	0.10	Хлорогеновая кислота
5	5.361	17702.05	71.01	Галловая кислота
6	6.653	152.07	0.61	Цикориевая кислота
7	6.975	1875.06	7.52	Катехин
10	10.25	126.14	0.51	Изоферуловая кислота
11	11.73	636.39	2.55	Кумарин
13	12.6	228.04	0.91	Эпигаллокатехингаллат
14	Неидентифицированные компоненты			

В траве с. иберийской при наличии доступных стандартов идентифицировано 9 веществ фенольной природы. Превалирующей в количественном отношении является галловая кислота (71% в сумме фенольных соединений).

Изучение дубильных веществ и флавоноидов. Флавоноиды и дубильные вещества относятся к ингибиторам процессов окисления и могут быть использованы в антиоксидантной терапии. Проведенные качественные реакции показали присутствие конденсированных дубильных веществ и флавоноидов в траве с. иберийской. Результаты количественного определения флавоноидов и дубильных веществ представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Результаты количественного определения суммы флавоноидов и дубильных веществ в траве солянки иберийской

Способ определения / группа БАВ	N	\bar{x} , %	S	S_x	P, %	T (p,f)	Δx	ϵ , %
дифференциальная спектрофотометрия (флавоноиды)	6	0.34	0.01	0.005	95	2.57	0.01	3.9
перманганатометрия (в пересчете на танин) (дубильные вещества)	6	0.57	0.02	0.008	95	2.57	0.02	3.4
перманганатометрия в сочетании с осаждением дубильных веществ желатином (дубильные вещества)	6	0.39	0.01	0.006	95	2.57	0.02	3.9

Количественное определение антиоксидантов. Концентрацию антиоксидантов определяли на приборе «Цвет Яуза». Наибольшее содержание антиоксидантов наблюдалось в извлечении, полученном с помощью 40% спирта этилового ($0,00387 \pm 0,0001$ мг/г в пересчете на кверцетин и $0,00241 \pm 0,0001$ мг/г в пересчете на кислоту галловую).

Изучение элементного состава. В траве с. иберийской обнаружено 15 элементов, в том числе 7 эссенциальных (Fe, Zn, Cu, Mn, Mo, Co, Cr) и 1 условно эссенциальный (Si) элемент. Трава с. иберийской не накапливает мышьяк, ртуть и кадмий; содержание свинца не превышает ПДК, установленных ГФ XIII (ОФС.1.5.3.0009.15).

Изучение аминокислотного состава. Результаты исследований (таблица 4) показали, что содержание аминокислот в траве с. иберийской составляет 3,64% от веса воздушно-сухого сырья.

Таблица 4 – Состав аминокислот травы солянки иберийской

Название аминокислоты	Результаты испытаний, % (от веса воздушно-сухого сырья)
Незаменимые аминокислоты	
Валин (Val)	0.188
Изолейцин (Ile)	0.154
Лейцин (Leu)	0.288
Лизин (Lys)	0.221
Метионин (Met)	0.085
Треонин (Thr)	0.195
Фенилаланин (Phe)	0.187
Частично заменимые аминокислоты	
Аргинин (Arg)	0.241
Гистидин (His)	0.106
Заменимые аминокислоты	
Серин (Ser)	0.235
Глютамининовая кислота (Glu)	0.563
Пролин (Pro)	0.210
Глицин (Gly)	0.276
Аланин (Ala)	0.227
Тирозин (Tyr)	0.087
Аспарагиновая кислота (Asp)	0.378
Суммарное содержание незаменимых аминокислот	1.318
Общее содержание аминокислот	3.641

Аминокислотный состав представлен 16 аминокислотами, в том числе 7 незаменимыми. Мажорными аминокислотами являются моноаминодикарбоновые – глютаминовая и аспарагиновая. Содержание незаменимых аминокислот составляет 36,2% от общей суммы аминокислот. Мажорными незаменимыми аминокислотами явились лейцин и лизин.

Исходя из литературных данных по практическому применению галофитов в качестве источника жирного масла, которое может утилизироваться в разных областях, нами было принято решение об изучении семян с. иберийской.

Изучение липидов семян. Предварительно количество липидов определяли в семенах с. иберийской с околоплодником и без него. Масличность семян (содержание нейтральных липидов (НЛ)) с околоплодником составила 12,2% (от навески сырья), без околоплодника – 20,1%; содержание полярных липидов соответственно 1,7% и 2,1%. Для изучения влияния околоплодника на состав и содержание ЖК, определяли состав ЖК нейтральных и полярных липидов с околоплодником и без него (таблица 5).

Таблица 5 - Состав жирных кислот нейтральных и полярных липидов с. иберийской (% от суммы ЖК)

Кислота	НЛ		ГЛ		ФЛ	
	I*	II**	I	II	I	II
Лауриновая (12:0)	0.03	-	-	2.58	-	-
Миристиновая (14:0)	0.38	0.54	1.87	2.63	1.86	2.17
Пентадекановая (15:0)	-	0.12	1.00	2.53	0.81	0.37
Пальмитиновая (16:0)	5.59	5.99	13.16	12.24	8.54	13.20
Пальмитолеиновая (16:1)	0.85	0.98	1.68	1.75	1.27	2.03
Гексадекадиеновая (16:2)	-	-	7.65	2.75	3.75	4.04
Маргариновая (17:0)	-	0.21	1.95	0.93	-	-
Стеариновая (18:0)	1.41	1.02	3.29	3.26	2.28	1.61
Олеиновая (18:1)	25.33	21.83	30.31	16.13	32.98	11.50
α -Линолевая (α -18:2)	57.69	59.84	20.93	23.72	18.07	44.89
γ -Линоленовая (γ -18:3)	6.28	8.56	1.23	0.33	0.79	6.3
α -Линоленовая (α -18:3)	1.09	-	8.14	7.32	2.22	2.13
Арахидиновая (20:0)	0.07	0.59	1.96	4.72	0.85	4.13
Гондоиновая (20:1)	0.33	0.1	-	4.26	0.59	-
Бегеновая (22:0)	0.49	0.12	-	7.1	-	0.43
Эруковая (22:1)	0.1	0.1	-	-	-	-
Трикозановая (23:0)	0.1	-	0.86	-	-	-
Лигноцериновая (24:0)	0.26	-	5.97	7.75	25.99	7.5
ΣНасыщенных	8.33	8.59	30.06	43.74	40.33	29.41
ΣНенасыщенных	91.67	91.41	69.94	56.26	59.67	70.89

*семена с околоплодником; ** семена без околоплодника

Основной по содержанию насыщенной кислотой во всех липидах является пальмитиновая (16:0), что характерно для высших растений. Мажорными ненасыщенными жирными кислотами являются: из моноеновых – олеиновая (18:0, до 32%), из полиеновых – α -линолевая (18:2, до 60%), γ -линоленовая (γ -18:3, до 8,5% в НЛ) кислоты. Составы жирных кислот НЛ образцов I и II практически не отличаются. В составе жирных кислот ГЛ и ФЛ обоих образцов нами идентифицирована гексадекадиеновая кислота 16:2, с наибольшим содержанием в ГЛ I (7.65%). НЛ семян без околоплодника разделили на классы (соответственно, % от суммы НЛ): сложные

эфиры стеролов – 5,5; триацилглицериды (ТАГ) – 82,2; свободные жирные кислоты – 2,8; диацилглицериды + стерины – 4,1; моноацилглицериды – 5,4. Основным классом НЛ являлись ТАГ, что характерно для растительных липидов зрелых семян. Состав жирных кислот классов НЛ семян без околоплодника представлен в таблице 6.

Таблица 6 - Состав жирных кислот ацилсодержащих классов нейтральных липидов семян с. иберийской (% от суммы жирных кислот)

Кислота	СЭС	ТАГ	СЖК	ДАГ	МАГ
12:0	-	0.38	2.20	0.48	1.0
14:0	7.59	-	6.36	2.99	4.46
15:0	4.81	-	5.90	6.15	25.36
16:0	17.69	5.89	12.23	7.67	17.33
16:1	2.69	0.87	3.00	1.38	2.32
16:2	6.94	-	7.93	2.37	7.53
17:0	3.28	0.13	2.74	0.22	0.53
18:0	4.4	0.49	5.58	1.79	4.13
18:1	22.28	27.37	10.40	21.16	12.9
α-18:2	25.70	54.08	23.20	45.72	16.79
γ -18:3	2.85	5.29	1.46	4.23	1.85
α -18:3	0.87	2.2	4.33	1.93	1.47
20:0	2.70	2.35	6.21	1.66	1.36
20:1	2.14	0.29	4.68	1.06	0.57
21:0	-	-	1.36	0.69	-
22:0	-	0.56	-	0.15	0.51
22:1	-	-	1.16	0.10	0.62
23:0	-	-	-	0.15	0.67
24:0	-	0.1	1.26	0.10	0.60
ΣНас.	40.47	9.9	43.84	22.05	55.95
ΣНенас.	59.53	90.1	56.16	77.95	44.05

Мажорными, как и в составе жирных кислот суммарных липидов, остаются пальмитиновая, олеиновая и линолевая кислоты. ТАГ - основной класс (82,2%) нейтральных липидов, по составу жирных кислот практически не отличается от такового суммарных НЛ. ТАГ содержат до 90% ненасыщенных жирных кислот, более половины которых приходится на долю ω -3 α -линолевой кислоты, и до 8% ω -6 γ -линоленовой кислоты. Полярные липиды делили на глико- и фосфолипиды, количество которых составило соответственно 0,5% и 1,6%. В составе фосфолипидов идентифицировали N-ацилфосфатидилэтанолами, фосфатидилэтаноламин, фосфатидилхолин, фосфатидилинозитол, фосфатидная кислота. Основным компонентом был фосфатидилхолин. Гликолипиды из-за незначительного содержания

идентифицировать не удалось. Липорастворимые компоненты, находящиеся в свободном и связанном виде, были представлены в основном стеринами. Методом ГХ-МС в них идентифицировали холестерол, кампестерол, стигмастерол, эргостенол, ситостерол, стигмастанол, стигмаст-7-ен-3-ол, стигмастерол и тритерпеновый спирт – бетулин. Наибольшим по содержанию был ситостерол. Таким образом, в соответствие с данными по семенной продуктивности (около 185 кг / Га) и учитывая масличность – 20%, с 1 Га можно получить около 37 кг жирного масла. С. иберийская может также служить перспективным источником полиненасыщенных жирных кислот и использоваться комплексно - трава и семена.

Морфолого-анатомическое исследование травы и семян

Известно, что для разработки нормативной документации на новое лекарственное растительное сырье необходимо установить диагностические признаки и нормативные показатели, определенные ГФ РФ.

Морфологические признаки сырья. Высушенное сырьё представляет собой смесь частично измельчённых и целых стеблей толщиной до 1,5 мм и длиной до 30 см, цветков и плодов различной степени развития. Стебли округлые, ветвистые. Листья очередные, мелкие, 2-5 мм длиной, толстоватые, сидячие, жесткие, сильно колючие. Цветки одиночные в колосовидном соцветии, листочки околоцветника голые, при плоде образуют пленчатые бесцветные или розовые или кожистые крылья или придатки в виде гребешковидных выступов, вместе с околоцветником в поперечнике 3-10 мм. Тычинки без придатков; рыльца длинные нитевидные, в 3-4 раза превышающие столбец; семя горизонтальное. Цвет стеблей от бледно-зеленого до красно-коричневого, на изломе от белого до желто-коричневого; листьев – от желто-зеленого до темно-зеленого; венчик цветков пленчатый, бесцветный или розовый. Запах слабый. Вкус водного извлечения слабый, солено-горький.

Микроскопические признаки сырья. Листовая пластинка амфистоматического типа; устьичные аппараты парацитного типа; друзы оксалата кальция и призматические кристаллы в паренхиме листа; колленхима верхней части стебля залегает только в области выступов и образует от 5 до 7 слоев клеток; проводящие пучки открытого коллатерального типа; межпучковый камбий, образует значительный слой лигнифицированной паренхимы, локализованной между проводящими пучками;

разница выраженности многогранной формы стебля нижней части от верхней; расположение цветков – только в пазухе листьев, цветки актиноморфные.

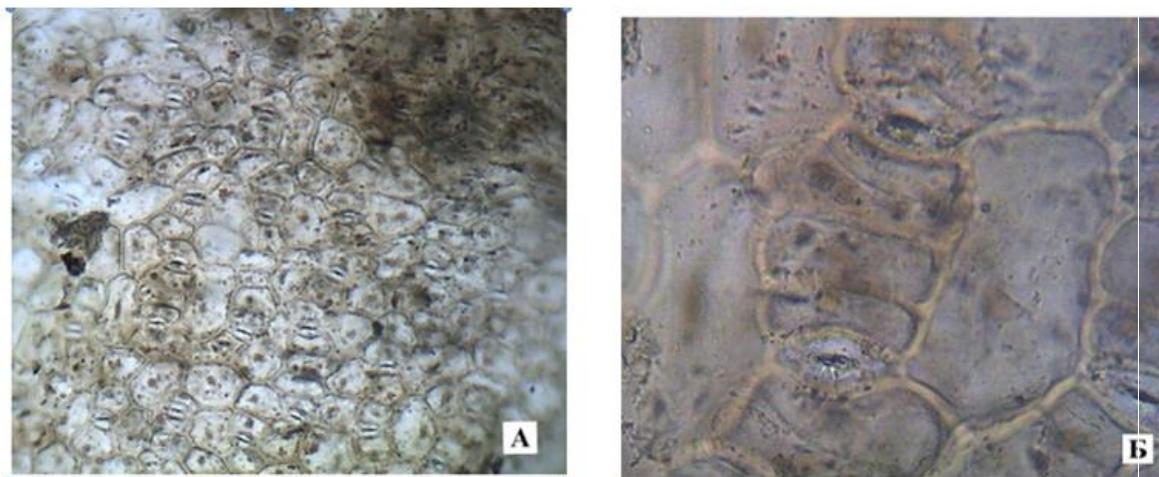


Рисунок 1 – Микрофотографии листовой пластинки: верхняя, нижняя эпидерма (устичный аппарат парацитного типа) (ув.об.х100,х400)

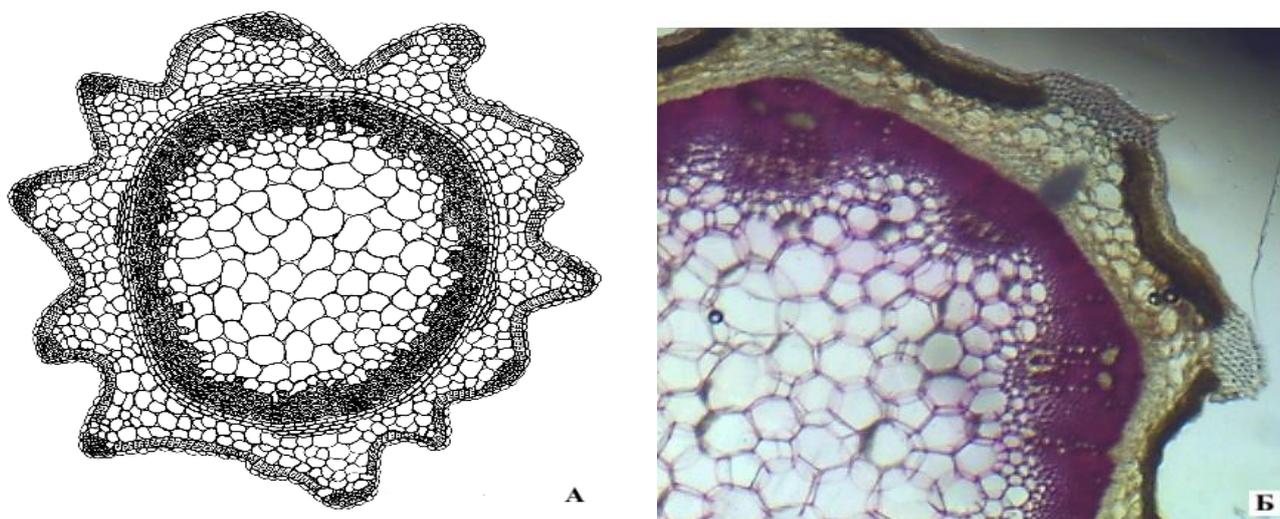


Рисунок 2 – Рисунок (А) и микрофотография (Б) поперечного среза стебля в верхней части (общий вид) (ув.об.х100,х400)

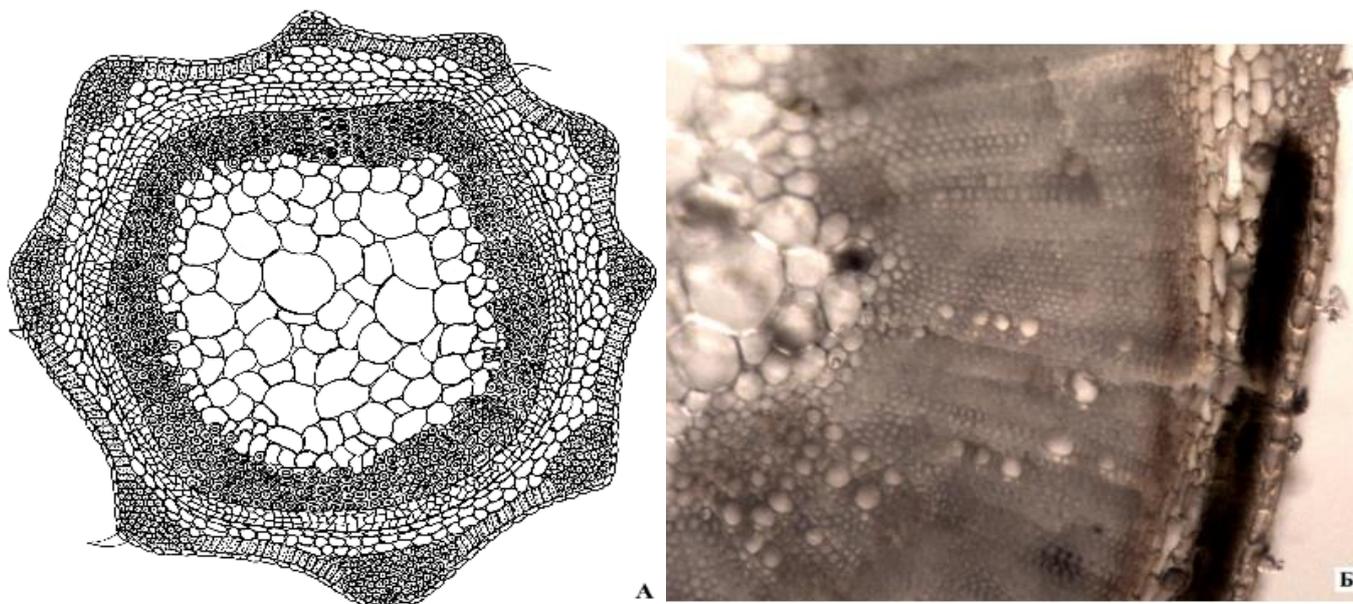


Рисунок 3 – Рисунок (А) и микрофотография (Б) поперечного среза стебля в нижней части (общий вид) (ув.об.х100,х400)

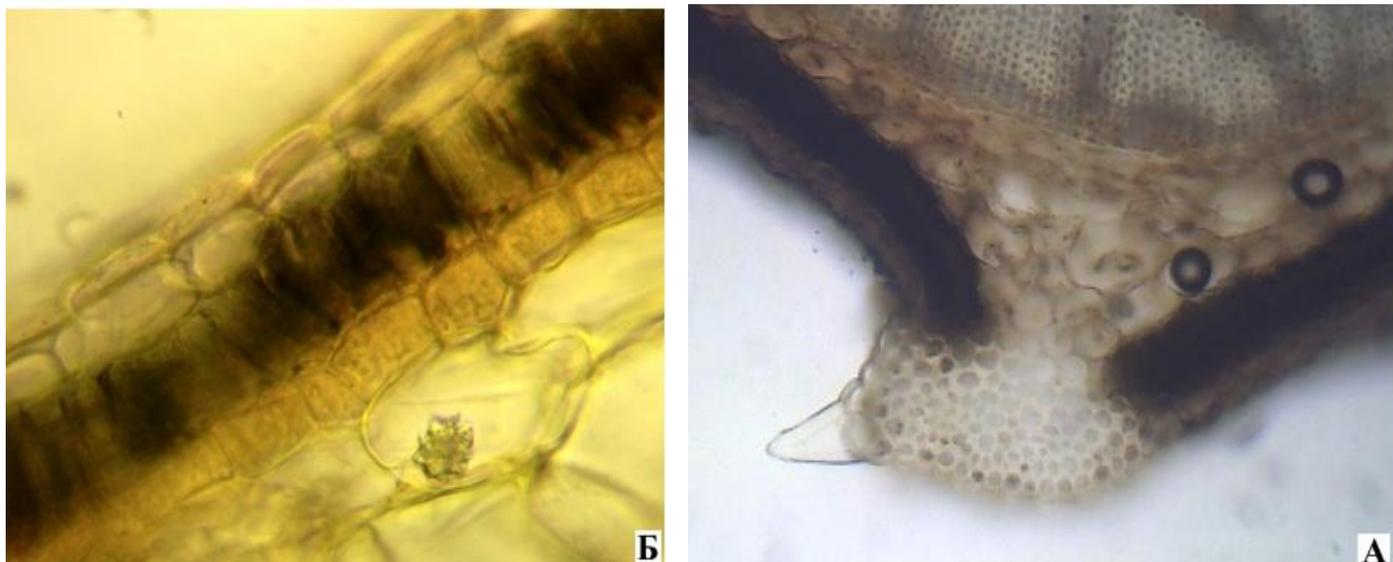


Рисунок 4 – Микрофотографии поперечного среза стебля в нижней части (А – участки поперечного среза стебля с указанием строения колленхимы и трихом; Б – фрагмент поперечного среза стебля с указанием ассимиляционной паренхимы и друзов оксалата кальция) (ув.об. х100,х400)

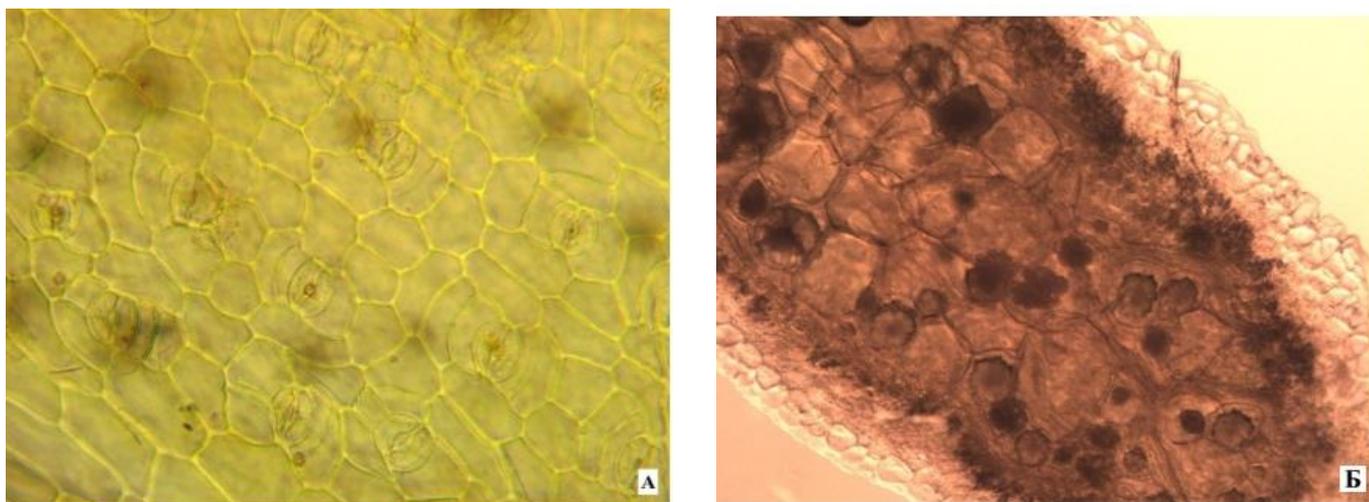


Рисунок 5 – Микрофотографии наличия кристаллических включений в тканях листа (А – эпидерма листа; Б – фрагмент поперечного среза листа с большим количеством друзов) (ув.об. x100,x400)

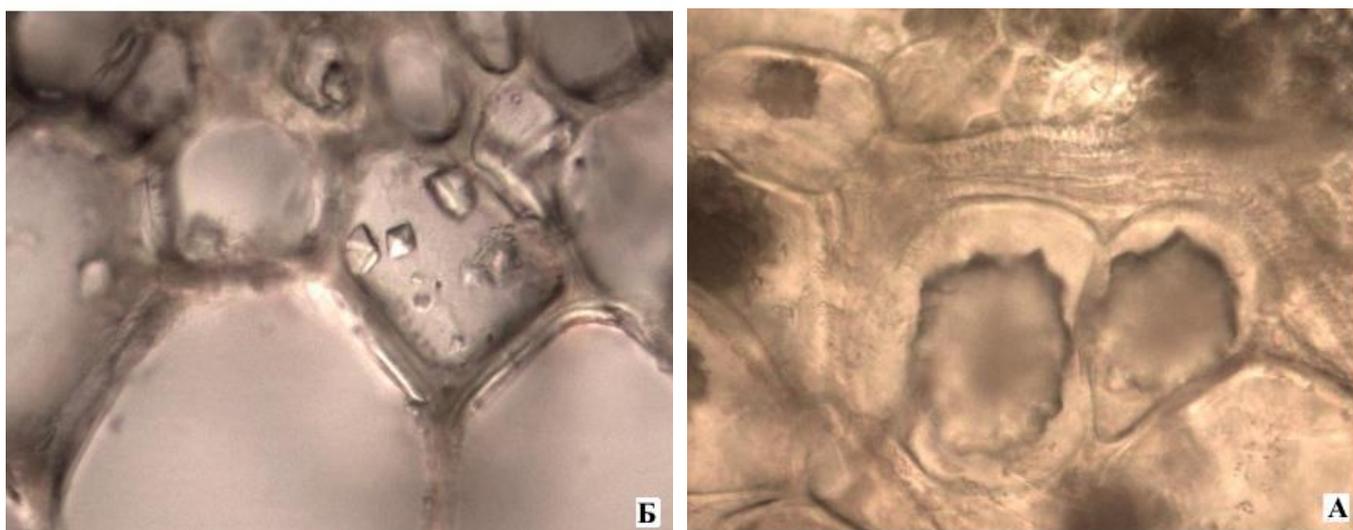


Рисунок 6 – Микрофотографии кристаллических включений (А – фрагмент поперечного среза стебля с указанием строения parenхимных клеток и друз оксалата кальция; Б – фрагмент поперечного среза листа в центральной зоне с указанием кристаллов оксалата кальция) (ув.об. x100,x400)



Рисунок 7 – Микрофотографии наличия кристаллических включений в эпидерме прицветных листьев (друзы оксалата кальция) (ув.об. x100,x400)

Нормативные испытания сырья

Испытания чистоты и доброкачественности сырья проводили в соответствии с требованиями ГФ XIII ОФС «Травы». Полученные данные легли в основу разработанного нами и апробированного НПО «Пульс» (Ставрополь) проекта нормативного документа «Солянки иберийской трава».

Фармакологические исследования

Для предварительных фармакологических испытаний получали жидкий экстракт травы с. иберийской методом вихревой экстракции с одновременным измельчением сырья в среде экстрагента (40% спирта этилового) на аппарате мель-экстрактор. Среднесмертельная доза экстракта составила $LD_{50} > 5000$ мг/кг, что позволило отнести его к практически нетоксичным веществам (классу IV). Спиртовой экстракт в дозе 5 мл/кг препятствует развитию синдромов цитолиза гепатоцитов и холестаза.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Итоги выполненной работы сводятся к следующим положениям:

1. Изучен химический состав травы с. иберийской. Установлено количественное содержание дубильных веществ ($0,57 \pm 0,02\%$ при определении перманганатометрически; $0,39 \pm 0,02\%$ при определении перманганатометрически в сочетании с осаждением дубильных веществ желатином). Определено количественное содержание флавоноидов ($0,34 \pm 0,01\%$). Методом ВЭЖХ идентифицировано 9 веществ фенольной природы (кофейная, хлорогеновая, галловая, цикориевая, изоферуловая кислоты; катехин,

кумарин, эпикатехин галлат, лютеолин-7-глюкозид). Превалирующей в количественном отношении явилась галловая кислота (71,01 % в сумме фенольных соединений). Установлен элементный состав. Основными в количественном отношении элементами являются магний (1182-1430 мг/кг), алюминий (875,8 – 862,5 мг/кг), железо (545,4 – 700,3 мг/кг), кремний (439,2 – 543,5 мг/кг) и марганец (117,3 – 127,3 мг/кг). Установлен состав и количественное содержание аминокислот. Выявлено, что содержание аминокислот составляет 3,64% от веса воздушно-сухого сырья. Аминокислотный состав представлен 16 аминокислотами, в том числе 7 незаменимыми (треонин, валин, метионин, изолейцин, лейцин, фенилаланин, лизин). Мажорными аминокислотами являются глутаминовая и аспарагиновая. Определено содержание антиоксидантов в извлечениях из травы. Выявлено, что наибольшее количество антиоксидантов содержится в извлечении, полученном с помощью 40% спирта этилового.

2. Проведен подробный анализ липидов семян *с. иберийской*. Содержание нейтральных липидов в семенах с околоплодником составило 12,2% (от навески сырья), без околоплодника – 20,1%; содержание полярных липидов соответственно 1,7% и 2,1%. Мажорными ненасыщенными жирными кислотами семян являются ω -3 α -линолевая, олеиновая и ω -6 γ -линоленовая. Идентифицировано 6 классов нейтральных липидов (соответственно, % от суммы нейтральных липидов): сложные эфиры стеролов – 5,5; триацилглицериды – 82,2; свободные жирные кислоты – 2,8; диацилглицериды + стерины – 4,1; моноацилглицериды – 5,4. Полярные липиды были разделены на гликолипиды и фосфолипиды. В составе фосфолипидов идентифицированы N-ацилфосфатидилэтаноламин, фосфатидилэтаноламин, фосфатидилхолин, фосфатидилинозитол, фосфатидная кислота; в составе липорастворимых компонентов - холестерол, кампестерол, стигмастерол, эргостенол, ситостерол, стигмастанол, стигмаст-7-ен-3-ол, стигмастерол и бетулин.

3. Осуществлена ресурсная оценка природных популяций *с. иберийской* и установлены основные места ее локализации в Приморской низменности Дагестана. Составлена карта-схема распространения вида во флоре Дагестана. Определен биологический, эксплуатационный запас и величина объема ежегодных заготовок сырья в 3 местах произрастания. Эксплуатационный запас травы *с. иберийской* с 1 Га составил свыше 15 тонн. Определена семенная урожайность *с. иберийской* в приведенных районах. Установлено, что с единицы площади в 1 Га можно собрать более 185 кг семян и лабораторная всхожесть семян составляет 83-90%.

4. Установлены морфологические и анатомические признаки сырья с. иберийской: листовая пластинка амфистоматического типа; устьичные аппараты парацитного типа; наличие друз оксалата кальция и призматических кристаллов в паренхиме листа; залегание колленхимы, образующей от 5 до 7 слоев клеток, в верхней части стебля только в области выступов; проводящие пучки открытого коллатерального типа; разница выраженности многогранной формы стебля нижней части от верхней; расположение цветков – только в пазухе листьев, цветки актиноморфные. Определены нормативные показатели сырья.

5. Проведены предварительные фармакологические исследования, которые позволили отнести спиртовой экстракт с. иберийской к практически нетоксичным веществам (классу IV) по Hodge и Sterner и классификации К.К.Сидорова с $LD_{50} > 5000$ мг/кг и показали его гепатопротекторную и желчегонную активность.

6. Разработана нормативная документация (проект ФС и Инструкция по сбору и сушке) на траву солянки иберийской.

Таким образом, проведенные исследования с. иберийской показали возможность применения ее в качестве растительного источника фенолов, обладающих антиоксидантной и гепатопротекторной активностью и эссенциальных жирных кислот семейств ω -3 и ω -6. Тема диссертационного исследования перспективна для дальнейшей практической разработки, которая может осуществляться в разных направлениях: введение с. иберийской в культуру для обеспечения стабильной сырьевой базы и прогнозируемой урожайности; продолжение фармакологических исследований экстракта травы по определению антиоксидантной активности *in vivo*, фармакологических исследований жирного масла семян на предмет выявления противовоспалительной, ранозаживляющей активности; разработка лекарственного гепатопротекторного препарата на основе спиртового экстракта травы; разработка наружных лекарственных средств на основе липидов семян или выделенной фракции полиненасыщенных жирных кислот; создание и экспериментальное обоснование схемы экономически выгодной комплексной переработки сырья.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Аминова, А.А. Изучение аминокислотного состава травы солянки иберийской *Salsola iberica* (Sennen&Pau) Botsch.) флоры республики Дагестан / А.А. Аминова, О.Н. Денисенко, С.С. Ляшенко // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. тр. – Пятигорск, 2017. – Вып. 71. – С.6-11.
2. Аминова, А.А. Изучение анатомических признаков вегетативных органов солянки иберийской (грузинской) /А.А. Аминова, О.Н. Денисенко// Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. тр. – Пятигорск, 2014. – Вып. 69. – С.6-11.
3. Аминова, А.А. Изучение дубильных веществ в траве солянки иберийской *Salsola iberica* / А.А. Аминова, О.Н. Денисенко, С.С. Ляшенко // Молодые ученые в решении актуальных проблем науки: мат. 5 междунар. научн.-практ. конф. – Владикавказ, 2014. - С.48 – 50.
4. Аминова, А.А. Морфология и условия обитания *Salsola iberica* семейства Chenopodiaceae /А.А. Аминова // XV Междунар. конференция «Биологическое разнообразие Кавказа и Юга России» - Махачкала, 2013.- С. 235.
5. **Аминова, А.А. Морфолого-анатомическое исследование солянки иберийской (*Salsola iberica* (Sennen&Pau) Botsch.), произрастающей на территории Республики Дагестан /А.А. Аминова, Ф.К. Серебряная, О.Н. Денисенко// **Здоровье и образование в XXI веке. – 2016. – Т.18, № 2. - С.709-720.****
6. Аминова, А.А. Элементный состав травы солянки иберийской *Salsola iberica* (Semen et psu) Botsch. / А.А. Аминова, О.Н. Денисенко, С.С. Ляшенко // Современная фармация: проблемы и перспективы развития: материалы V Межрегиональной науч.-практ. конф. с междунар. участием 29-30 мая 2015 г. - Владикавказ, 2015. – С.17-21.
7. **Изучение гепатопротекторной и желчегонной активности экстрактов из травы солянки иберийской (*Salsola iberica* (Sennen&Pau) Botsch.)/А.А. Аминова [и др.] // **Здоровье и образование в XXI веке. – 2018. –Т. 18, № 10. - С.109-112.****
8. Изучение жирнокислотного состава липидов семян солянки иберийской и дерезы обыкновенной / А.А. Аминова [и др.] // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. тр. - Пятигорск, 2015. - Вып. 70. - С. 5-7.
9. **Изучение состава фенольных соединений травы солянки иберийской (*Salsola iberica* (Sennen&Pau) Botsch.) флоры республики Дагестан методом ВЭЖХ / А.А.**

Аминова [и др.] // Здоровье и образование в XXI веке. – 2016. –Т. 18, № 10.- С.109-112.

10. Изучение острой токсичности экстрактов из травы солянки иберийской Флоры Дагестана / А.А. Аминова [и др.] // Молодые ученые – медицине: Материалы XVI научной конференции молодых ученых и специалистов с международным участием: Владикавказ, 2017. – С. 13-14.

11. Липиды семян *Salsola iberica* (Sennen et Pau) Botsch. (s. Australis r. Br.) / А.А. Аминова [и др.] // X Всероссийская научная конференция и школа молодых ученых «Химия и технология растительных веществ» - Казань, 2017: тезисы докладов. – С. 128-129.

12. Липиды семян солянки иберийской (южной) (*Salsola iberica* (Sennen&Pau) Botsch.) (*S. australis* R. Br.) / А.А. Аминова [и др.] // **Здоровье и образование в XXI веке. – 2017. – Т. 19, № 9. – С. 188-192.**

13. Определение антиоксидантной активности извлечений из травы солянки иберийской (южной) *Salsola iberica* (Sennen&Pau) Botsch. (*S. australis* R.Br.) / А.А. Аминова [и др.] // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. тр. - Пятигорск, 2016. - Вып. 71. – С. 4-5.

14. Ресурсная оценка *Salsola iberica* (Sennen Pau) Botsch. в Приморской низменности Дагестана / А.А. Аминова [и др.] // мат. междунар. научн. конф. «Сохранение разнообразия растительного мира в ботсадах и дендропарках: традиции, современность, перспективы (к 230-летию дендропарка «Александрия» НАН Украины). 2018. – с. 36-41.

Аминова Айшат Аминовна (Россия)**Фармакогностическое изучение солянки иберийской флоры республики Дагестан**

Впервые проведены комплексные фармакогностические исследования с. иберийской флоры Дагестана. Впервые изучен состав фенольных соединений, аминокислот, элементов травы и липидов семян с. иберийской, а также проведены нормативные исследования сырья и установлены острая токсичность и гепатопротекторное действие экстракта вида. Осуществлена ресурсная оценка природных популяций с. иберийской в Приморской низменности Дагестана, установлены величины объема ежегодных заготовок сырья. Разработана нормативная документация на сырье. На основании комплекса полученных экспериментальных данных трава солянки иберийской предложена в качестве нового лекарственного растительного сырья для получения гепатопротекторов.

Aminova Aishat Aminovna (the Russian Federation)**Pharmacognostic study of *Salsola iberica* (Sennen & Pau) Botsch. of flora of the Republic of Dagestan**

For the first time, complex pharmacognostic studies of *S. iberica* of flora of Dagestan were conducted. The composition of phenolic compounds, amino acids, grass elements and lipid seeds of *S. iberica* was studied for the first time, and regulatory studies of the raw materials were conducted and the acute toxicity and hepatoprotective effects of the extract were established. The resource assessment of natural populations of *S. iberica* in the Primorsk lowland of Dagestan has been carried out, the values of the volume of the annual raw material harvesting have been established. Developed regulatory documentation for raw of *S. iberica*. Based on the complex of experimental data, *S. iberica* has been proposed as a new medicinal plant material for the production of hepatoprotectors.