На правах рукописи

ЭРДЫНЕЕВА СВЕТЛАНА АРКАДЬЕВНА

ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПЫЛЬЦЫ И МИКРОСТРОБИЛОВ РАСТЕНИЙ РОДА *PINUS* L.

3.4.2 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

Улан-Удэ – 2022

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Байкальский институт природопользования Сибирского отделения Российской академии наук, Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Бурятский государственный университет имени Доржи Банзарова» Министерства науки и высшего образования РФ

Научный руководитель:
Раднаева Лариса Доржиевна – доктор химических наук, профессор

Официальные оппоненты:
Лубсандоржиева Пунцык-Нима Базыровна – доктор фармацевтических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт общей и экспериментальной биологии» Сибирского отделения Российской академии наук / лаборатория медико-биологических исследований, научный сотрудник

Анцупова Татьяна Петровна – доктор биологических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Восточно-Сибирский государственный университет технологий и управления» Министерства науки и высшего образования РФ / кафедра неорганической и аналитической химии, профессор

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «28» февраля 2023 г. в 10^{00} часов на заседании диссертационного совета 99.0.045.03 при ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН по адресу: 670047, г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6.

С диссертацией можно ознакомиться в Центральной научной библиотеке Бурятского научного центра СО РАН и на сайте ИОЭБ СО РАН: http://igeb.ru

Автореферат разослан «28» декабря 2022 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
доктор биологических наук, доцент В.Б. Хобракова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Одним из подходов к расширению ассортимента фармацевтических субстанций и фитопрепаратов является ввод в медицинскую практику растений, используемых в народной медицине, а также исследование видов, близких к официнальным, имеющих достаточные запасы сырья.

Род Сосна (*Pinus* L.) семейства Сосновые (*Pinaceae*) включает 130 видов вечнозеленых деревьев и является самым широко распространенным в Северном полушарии. В России наиболее распространенными видами являются сосна обыкновенная (*P. sylvestris* L.) и сосна сибирская (*P. sibirica* Du Tour), являющиеся лесообразующими породами в Сибири, и кедровый стланик (*P. pumila* (Pall.) Regel) - на Дальнем Востоке. Хвоя, побеги, почки, кора и шишки сосен в виде отваров и настоев издавна использовались в народной медицине для лечения различных воспалительных заболеваний. Почки сосны обыкновенной являются фармакопейным сырьем, отвары из него применяются как отхаркивающее средство.

Наименее изученным, но не менее ценным источником биологически активных веществ является пыльца сосен, которая содержит витамины, аминокислоты, макро- и микроэлементы; моно- и полисахариды; жиры и пищевые волокна (Linskens H.F., 1974). В традиционной китайской медицине в качестве лекарства и пищевой добавки используется пыльца *P. massoniana*, входящая в состав китайской фармакопеи. Отмечается, что в последние 20 лет наблюдается значительный рост количества публикаций в области исследований фармакологической активности сосновой пыльцы (Liang SB., 2020). Установлено, что экстракты, содержащие полисахаридные фракции пыльцы *P. massoniana*, обладают иммуномодулирующей, противовоспалительной и противовирусной активностью, а также антиоксидантным, гепатопротекторным и противоопухолевым действием (Yang S., 2015; Cuilian Y., 2017; Zhou C., 2018; Hongqi S., 2020; Shang H., 2022). Для спиртовых экстрактов пыльцы *P. densiflora*, произрастающей в Корее, установлены противовоспалительное действие и антиоксидантная активность (Park Y.S., 2011; Choi E.M., 2013). Большой опыт применения пыльцы азиатских видов сосен в народной медицине, доказанный широкий спектр биологической активности, растущая во всем мире популярность БАД на основе сосновой пыльцы, позволяют сделать вывод о перспективности исследования пыльцы отечественных видов сосен, широко распространенных на территории России.

Необходимо отметить, что при заготовке пыльцы образуется значительное количество отходов в виде микростробилов, составляющих 90-95% от массы исходного сырья. Оценка возможности рационального использования ценного растительного сырья также является актуальной задачей.

Поскольку техногенное загрязнение оказывает заметное влияние на состояние хвойных растений, и при этом наиболее чувствительны к стрессовым условиям окружающей среды генеративные органы хвойных растений (Осколков В.А., 1999; Садакова К.А., 2014; Махнева С.Г., 2021), важно изучить влияние этих факторов на химический состав и безопасность пыльцы сосен.

Степень разработанности темы исследования. Исследования химического состава пыльцы сосен, произрастающих на территории России, носят единичный характер, и касаются лишь *P. sylvestris*, которая по литературным данным может продуцировать до 30-40 кг пыльцы с 1 га. Установлено содержание аскорбиновой кислоты, сахаров, дубильных веществ, флавонолов, катехинов, протопектинов, сапонинов и макро- и микроэлементов в пыльце *P. sylvestris*, произрастающей на территории Алтайского края (Киров Е.И., 2007). Определен аминокислотный состав пыльцы *P. sylvestris* из Северной Осетии (Бидарова Ф.Н., 2017), качественными реакциями показано присутствие витаминов B1, E, F, P, флавоноидов (флавоны, флавонолы, халконы, изофлавоны) и углеводов (сахарозы, глюкозы и фруктозы) в 70%-ном этанольном экстракте пыльцы *P. sylvestris* Северо-Казахстанской области (Хабибулина, С.А., 2019). Данные по элементному составу пыльцы имеются лишь для *P. sylvestris* - для г. Новосибирск (Головко В.В., 2017) и Пермского края (Садакова К.А., 2014). Установлено, что в условиях техногенного стресса у видов рода *Pinus*, L., снижается жизнеспособность пыльцы, увеличивается количество пыльцы с различными аномалиями (Носкова Н.Е.,2006, Осколков В.А., 1999, Третьякова И.Н., 2004), а также нарушается целостность цитоплазматической мембраны клеток (Pukacki P., 2003). По химическому составу микростробилов в литературе имеются только данные о групповом составе экстрактивных веществ, извлекаемых петролейным эфиром, для *P. sylvestris*, произрастающей в Ленинградской области (Рощин В.И., 2021), других сведений в отечественной и зарубежной литературе не обнаружено.

Фармакогностическое исследование пыльцы и микростробилов *P. sylvestris, P. sibirica* и *P. pumila* произрастающих в Республике Бурятия, и разработка лекарственных средств на их основе ранее не проводились.

Цель и задачи исследования. Целью настоящей работы является фармакогностическая характеристика пыльцы и микростробилов растений рода *Pinus* флоры Бурятии и разработка лекарственных средств на их основе.

Для достижения поставленной цели необходимо решить следующие задачи:

- выявить диагностические внешние и микроскопические признаки пыльцы и микростробилов *P. sylvestris, P. sibirica и P. pumila* и определить запасы пыльцы;
- определить состав биологически активных веществ пыльцы и микростробилов *P. sylvestris, P. sibirica* и *P. pumila*;

- установить компонентный состав эфирного масла микростробилов, провести сравнительную характеристику между видами и с фармакопейным сырьем почки сосны обыкновенной;

- изучить влияние стрессовых условий окружающей среды на химический состав пыльцы, определить показатели безопасности сырья;

- разработать и валидировать методики количественного определения суммы свободных аминокислот в пыльце и суммы флавоноидов в пыльце и микростробилах, методики определения количественного содержания эфирного масла в микростробилах, а также способы получения таблеток из пыльцы, настойки из микростробилов, разработать проекты нормативной документации на *Pini pollen, Pini microstrobili, Pini pollinis tabuletta, Pini microstrobilorum tinctura.*

Научная новизна. Впервые дана фитохимическая характеристика пыльцы и микростробилов *P. sylvestris, P. sibirica и P. pumila*. Установлены диагностические микроскопические признаки пыльцы: пыльцевые зерна однолептомные, билатерально-симметричные, состоят из тела и двух воздушных мешков, контур экзины тела пыльцевого зерна (щит) в полярном положении мелковолнистый, в экваториальном – гладкий, воздушные мешки округлые, экзина мешков имеет ячеистое строение; микростробилов: широкие многоугольные клетки внутренних слоев эпидермиса, пронизанные поровыми канальцами, прямоугольные низкие клетки с утолщенной клеточной стенкой поверхностного эпидермиса, на поперечном срезе оси обнаруживаются смоляные ходы.

Дана оценка количественного содержания в пыльце и микростробилах флавоноидов (0,83-1,95%), дубильных веществ (0,85-13,84%), суммы свободных аминокислот (1,33-3,67%), аскорбиновой кислоты (1,21-35,16 мг%). Установлен жирнокислотный состав липидных фракций пыльцы и микростробилов, в котором преобладают пальмитиновая (17,18-26,01%), линолевая (15,18-25,27%), олеиновая (10,80-22,20%) кислоты. Установлено, что пыльца содержит значительное количество белка - содержание сырого протеина составило 14,38-16,25%. Аминокислотный состав пыльцы представлен 17 аминокислотами, в том числе 43,9-48,4% незаменимых. Доминирующими являются глутаминовая, аспарагиновая кислоты, аргинин и пролин, обладающие широким спектром фармакологической активности.

Определен макро- и микроэлементный состав пыльцы и микростробилов *P. sylvestris, P. sibirica, P. pumila.* Показано, что пыльца и микростробилы могут служить дополнительными источниками макро- и микроэлементов, особенно, таких как калий, магний, марганец, железо, цинк и медь.

Изучен химический состав эфирных масел микростробилов Р. *sylvestris, P. sibirica, P. pumila,* методом ГХ/МС обнаружено до 120 компонентов. Проведен сравнительный анализ между видами и с почками сосны

обыкновенной, являющимися фармакопейным сырьем, показано достаточное его содержание и сходство компонентного состава.

Практическая значимость работы. Полученные в ходе фитохимических исследований результаты расширяют данные по составу, содержанию, распределению и динамике накопления БАВ в растениях рода *Pinus*, что может быть использовано при разработке новых лекарственных средств на их основе. Показана перспективность применения микростробилов после отделения из них пыльцы как источника эфирных масел и фенольных соединений, что позволит рационально использовать ценное растительное сырье.

Установлено, что элементный состав пыльцы сосен может отражать уровень загрязнения атмосферы тяжелыми металлами и являться индикатором ранней диагностики стрессового состояния лесов при проведении лесопатологического мониторинга.

Определены запасы пыльцы *P. sylvestris*, *P. sibirica*, *P. pumila*: в лесных массивах Прибайкальского и Иволгинского районов, перспективных для заготовки сырья. Возможный ежегодный объем заготовок пыльцы *P. sylvestris, P. sibirica, P. pumila* составил соответственно: 198,5 кг, 53,1 кг, 59,1 кг.

Результаты проведенных исследований разработаны и внедрены в учебный процесс на кафедре фармации медицинского института ФГБОУ ВО «Бурятский государственный университет имени Доржи Банзарова»:

- методические рекомендации по определению микроскопических признаков лекарственного растительного сырья *Pini pollen, Pini microstrobili*;
- методика количественного определения суммы свободных аминокислот и суммы флавоноидов в *Pini pollen;* методика получения эфирного масла из *Pini microstrobili;*
- способ получения таблеток из сосновой пыльцы и настойки из сосновых микростробилов.
- проекты фармакопейных статей (ФС) на *Pini pollen, Pini microstrobili*, *Pini pollinis tabuletta, Pini microstrobilorum tinctura*

Методология и методы исследования. Методологические принципы диссертационного исследования основаны на анализе отечественных и зарубежных источников литературы, а также степени изученности и актуальности темы. Согласно цели и задач исследования, определены объекты и методы исследования. В процессе фармакогностического исследования использовались методы химического и физико-химического анализа: высокоэффективная жидкостная хроматография, газовая хромато-масс-спектрометрия, УФ-спектрофотометрия, атомно-абсорбционная спектрофотометрия, тонкослойная хроматография, микроскопия, а также титриметрия. Статистическая обработка данных проводилась в соответствии с

требованиями ГФ XIV, с использованием программ Microsoft Exel, Statistica 13.0.

Положения, выносимые на защиту:

• фитохимическая характеристика пыльцы и микростробилов *P. sylvestris, P. sibirica* и *P. pumila*; сравнительный анализ компонентного состава эфирных масел сосновых микростробилов между видами и с фармакопейным сырьем – почки сосны обыкновенной.

• стандартизация сырья *Pini pollen*; способ получения таблеток из сосновой пыльцы;

• стандартизация сырья *Pini microstrobili*, возможность применения микростробилов после удаления пыльцы в качестве эфиромасличного сырья, способ получения настойки из микростробилов.

Личный вклад автора. Автору принадлежит ведущая роль в выборе направления исследования, постановке цели и определения задач исследования, обобщении и анализе полученных данных, оформлении и представлении научных работ.

Связь темы исследования с проблемным планом фармацевтических наук

Работа выполнена в соответствии с программой и планом научно-исследовательской работы ФГБУН Байкальский институт природопользования СО РАН (проект № 0339-2016-003 «Трансформация веществ в адаптивных реакциях организмов как индикатор антропогенного воздействия в экосистемах Азиатской России и сопредельных территорий»; проект №0273-2021-0004 «Процессы функционирования и адаптация наземных и водных экосистем внутренней Азии в условиях аридизации климата и антропогенного воздействия: трансформация состава индикаторных веществ»; грант № 075-15-2020-787 Министерства науки и высшего образования Российской Федерации на выполнение крупного научного проекта по приоритетным направлениям научно-технологического развития «Основы, методы и технологии цифрового мониторинга и прогнозирования экологической ситуации на Байкальской природной территории») и кафедры фармации медицинского института ФГБОУ ВО «Бурятский государственный университет имени Доржи Банзарова» (НИР «Фармакогностическое изучение растений флоры Байкальского региона и сопредельных территорий (Забайкальский край, Монголия»)).

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Научные положения работы соответствуют пунктам 3,5,6,7 паспорта специальности 3.4.2 – фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Апробация работы. Основные результаты работы доложены и обсуждены на конференциях: IX школе-семинаре молодых ученых России «Проблемы устойчивого развития региона», посвященной 70-летию академика РАН А.К.Тулохонова (Истомино, 2019), XX международной научно-

практической конференции «Актуальные проблемы экологии и природопользования» (Москва, 2019), XXII международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы экологии и природопользования партнерство в целях устойчивого развития и экологической безопасности»» (Москва, 2021), Международной научной конференции «90 лет - от растения до лекарственного препарата: достижения и перспективы» (Москва, 2021), Всероссийской конференции с международным участием «Лесные экосистемы бореальной зоны: биоразнообразие, биоэкономика, экологические риски». (Красноярск, 2019), XI Всероссийской научной конференции с международным участием «Химия и технология растительных веществ» (Сыктывкар, 2019), IV Всероссийской научной конференции с международным участием «Разнообразие почв и биоты Северной и Центральной Азии» (Улан-Удэ, 2021), Всероссийской научно-практической конференции студентов и молодых ученых с международным участием «Актуальные вопросы фармацевтических и естественных наук» (Иркутск, 2022).

Количество публикации. По результатам исследований опубликовано 20 научных работ, из них 6 статей - в периодических изданиях, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования РФ.

Структура работы. Диссертационная работа изложена на 204 страницах машинописного текста, содержит 67 таблиц, 24 рисунка. Диссертация состоит из введения и 4 глав: обзора литературы (глава 1), описания объектов и методов анализа (глава 2), результатов собственных экспериментальных исследований (главы 3-4), списка литературы, включающего 222 источника, в том числе 98 на иностранном языке, 5 приложений.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Объекты и методы исследования

Объектами исследования служили микростробилы (мужские шишки) и пыльца *P. sylvestris, P. sibirica, P. pumila*, собранные в различных районах Республики Бурятия в 2017-2022 годах. Микростробилы собирали за 1-3 дня до начала пыления, затем сушили в закрытых проветриваемых помещениях до высыпания пыльцы из микростробилов. Пыльцу отделяли путем просеивания через сито 0,5 мм и хранили в стеклянной герметичной таре при 2-3°С.

Микроскопический анализ проводили на оптическом микроскопе «Микровизор» (Ломо, РФ). Обнаружение фенольных соединений проводили методом тонкослойной хроматографии на пластинках ПТСХ-ПА-УФ «Sorbfil» и методом ВЭЖХ-УФ на высокоэффективном жидкостном хроматографе Милихром А-02 (ЗАО «Эконова», РФ). Качественный состав и количественное содержание компонентов липидной фракции и эфирного масла исследовали методом хромато-масс-спектрометрии на газовом хроматографе Agilent Packard HP6890 N с квадрупольным масс-спектрометром HP MSD 5973N (Agilent

Tehnologies, США) в качестве детектора. Спектрофотометрическое определение БАВ проводили на спектрофотометре ПЭ-5400УФ (Экохим, РФ) в кварцевых кюветах с толщиной поглощающего слоя 10 мм. Количественное содержание элементов в сырье определяли на атомно-абсорбционном спектрофотометре Solaar M6 (Thermo Scientific, США) после предварительного разложения образцов с концентрированной азотной кислотой в микроволновой системе MARS 6 (CEM, США). Мультивариационный анализ данных проводили методом главных компонент с помощью программных пакетов Sirius version 6.0 (Pattern Recognation Systems, Берген, Норвегия), Statistica 13.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Фитохимическая характеристика пыльцы и микростробилов *P. sylvestris, P. sibirica, P. pumila*

С помощью качественных реакций в пыльце и микростробилах *P.sylvestris, P.sibirica, P.pumila* были обнаружены флавоноиды, полисахариды, дубильные вещества, аминокислоты, аскорбиновая кислота; гистохимическими реакциями установлено наличие жирных масел, а эфирных масел – только в микростробилах. Методом ТСХ установлено наличие глутаминовой кислоты в пыльце и рутина в пыльце и микростробилах, ВЭЖХ - рутина и дигидрокверцетина в пыльце и микростробилах.

Из пыльцы и микростробилов модифицированным методом Блайя и Дайера выделены липидные фракции. Содержание липидов в пыльце составило 1,63-2,18 %, в микростробилах – 7,93-9,67 %. В липидной фракции пыльцы были идентифицированы 24, микростробилов – 22 жирные кислоты. Суммарное содержание насыщенных жирных кислот (НЖК) составило в пыльце *P. sylvestris* – 45,63-51,27%, *P. sibirica* – 54,46-56,36%, *P. pumila* – 52,80-53,21%, преобладают пальмитиновая (17,18–22,81%), стеариновая (3,28–6,98%), эйкозановая (3,65–9,56%) и 3-гидроксилауриновая (9,53–10,99%) кислоты. Сумма ненасыщенных жирных кислот (ННЖК) составила в пыльце *P. sylvestris* - 48,73-54,37%, *P. sibirica* – 43,64-45,54%, *P. pumila* – 46,79-47,20%, доминирующими являются линолевая (20,05–25,27%) и олеиновая (15,92–22,20%) кислоты. Среди НЖК в образцах микростробилов преобладают пальмитиновая (20,05-23,58%), стеариновая (5,61-7,65%), эйкозановая (8,33-10,63%) и лигноцериновая (6,89-9,78%) кислоты. Сумма ННЖК составила 31,07-35,83% (*P. sylvestris*), 29,46-29,53% (*P. sibirica*), 33,78-34,58% (*P. pumila*), доминирующими являются линолевая (15,18-18,03%) и олеиновая (10,80–14,15%) кислоты. В жирнокислотном составе образцов пыльцы и микростробилов установлено наличие пиноленовой кислоты (0,49 – 3,17%) и только в пыльце - таксолеиновой (0,42-0,54%) и подокарповой (1,28-1,44%) кислот, признанных таксономическими маркерами хвойных семейства *Pinaceae.* Также можно отметить присутствие в составе НЖК 3-гидроксикислот, которые характерны для бактерий и входят в состав липидов их клеточной стенки.

Для оценки возможности применения микростробилов после отделения из них пыльцы в качестве лекарственного растительного сырья проведен сравнительный анализ содержания и компонентного состава эфирного масла (ЭМ) микростробилов с фармакопейным сырьем - почками *P. sylvestris.* Выход ЭМ из сосновых почек составил 0,69-0,72%, из микростробилов – 0,53-1,01%, что соответствует требованиям ФС «Почки сосны» (не менее 0,3%). Методом ГХ/МС в исследуемых образцах ЭМ обнаружено до 120 компонентов, представленных ароматическими соединениями, моно-, сескви- и дитерпеноидами. По составу указанные образцы ЭМ схожи между собой, имеются незначительные различия в количественном содержании. Основными компонентами ЭМ сосновых почек и микростробилов являются монотерпеновые соединения: α-пинен (9,76-19,31%), β-пинен (7,59-9,85%), β-мирцен (3,34-9,38 %), 3-карен (1,30-13,48%), лимонен+β-фелландрен (22,74-28,75%), терпинолен (1,17-1,49 %); сесквитерпеновые: кариофиллен (0,49-1,48%), гермакрен D (0,50-1,42 %), α-мууролен (0,41-1,13%), γ-кадинен (0,74-1,20%), δ-кадинен (1,41-2,48%), Т-муролол (0,23-0,80%), α-кадинол (0,79-1,48%); дитерпеновый углеводород дегидроабиетан (0,31-0,78%). В микростробилах можно отметить более высокое, чем в почках, содержание α-пинена. В групповом составе ЭМ микростробилов и почек (рисунок 1) преобладают монотерпеновые соединения, обладающие широким спектром терапевтического действия.

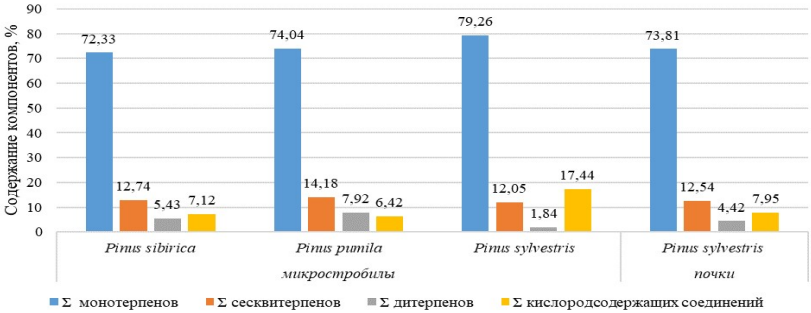

Рисунок 1 – Групповой состав ЭМ почек и микростробилов *P. sylvestris, P. sibirica, P. pumila*

Сравнение состава терпеноидов с литературными данными для почек *P. sylvestris* из Томской области (Коломиец, 2019) показало, что ЭМ почек и микростробилов *P. sylvestris,* произрастающей в Бурятии, отличаются более высоким содержанием α-пинена (9,76-19,31 %) по сравнению с популяциями Томской области (6,9-11,3 %), и меньшим 3-карена – 1,30-13,48% в образцах из Бурятии, 21,9-27,2 % - в томских, что может быть обусловлено климатическими условиями произрастания. В эфирных маслах микростробилов *P. sibirica* и *P. pumila* содержание 3-карена значительно ниже, чем в микростробилах и почках

P. sylvestris, что может быть обусловлено видовой специфичностью. Сравнительный анализ компонентного состава эфирных масел микростробилов, почек и хвои, известной как эфиромасличное сырье, методом главных компонент показал, специфичность по видам сырья (рисунок 2).

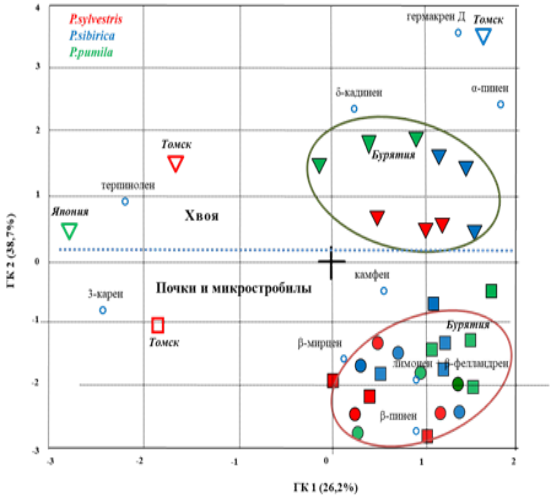

Рисунок 2 - Биплот (ГК1-ГК2) данных по компонентному составу ЭМ микростробилов, почек и хвои сосен Бурятии и других регионов, кругами обозначены – микростробилы, квадратами - почки, треугольниками – хвоя; красными *P.sylvestris*, синим – *P.sibirica*, зеленым - *P.pumila*); незакрашенные фигуры – литературные данные.

Проведенный сравнительный анализ показал, что ЭМ микростробилов после отделения пыльцы по своему качественному составу и количественному содержанию близко к ЭМ сосновых почек – фармакопейному растительному сырью. Высокое содержание α-пинена, известного широким спектром биологической активности (антимикробной, противовоспалительной и др.), и низкое содержание 3-карена, обладающего аллергенным действием, позволяют сделать вывод, что микростробилы *P. sylvestris, P. sibirica, P. pumila* являются источником ЭМ с высокими потребительскими свойствами и могут применяться в лечебно-профилактических целях.

Определено содержание полисахаридных фракций в пыльце *P. sylvestris, P. sibirica, P. pumila*: водорастворимые полисахариды (ВРПС) – 4,11–5,38%; пектиновые вещества (ПВ) – 1,68-1,76%; гемицеллюлоза А (Гц А) – 2,18-2,61%; гемицеллюлоза Б (Гц Б) – 1,75-2,21%; в микростробилах: ВРПС – 1,63–1.71%; ПВ – 1,38–1,58%; Гц А – 6,83-7,84%; Гц Б – 3,24–4,26%.

Установлено количественное содержание фенольных соединений в пыльце *P. sylvestris, P. sibirica, P. pumila*: сумма флавоноидов - 0,83-1,95%; сумма дубильных веществ - 0,85-2,04%, сумма полифенольных соединений- 1,37-2,22%, содержание дигидрокверцетина в (пересчете на а.с.с.) – 0,032-0,054%; в микростробилах: сумма флавоноидов - 0,98-1,95%; сумма дубильных

веществ – 6,09-13,84%. сумма полифенольных соединений – 9,28-17,95%, содержание дигидрокверцетина (в пересчете на а.с.с.) – 0,051-0,073%,

Показано, что пыльца содержит значительное количество белка: содержание сырого протеина в пыльце *P. sylvestris (*14,38±0,22*), P. sibirica (*15,94±0,12*), P. pumila* (16,25±1,26). При анализе аминокислотного состава пыльцы *P. sylvestris, P. sibirica, P. pumila* было обнаружено 17 аминокислот, из них 9 незаменимых, содержание которых составило 43,9-48,4% от суммы аминокислот. Доминирующими являются глутаминовая, аспарагиновая кислоты, аргинин и пролин. Поэтому пыльца *P. sylvestris, P. sibirica* и *P. pumila* может быть использована для дальнейшей разработки новых лекарственных средств, обладающих ввиду наличия глутаминовой кислоты ноотропным действием, аспарагиновой кислоты - психостимулирующим и мягким антидепрессивным действием, аргинина - дезинтоксикационным действием, пролина - кардиостимулирующим действием. Сумма свободных аминокислот, в пересчете на глутаминовую кислоту, составила: в пыльце *P. sylvestris* 2,23±0,23%, *P. sibirica* 2,64±0,45 %. *P. pumila* 3,67±0,27%, в микростробилах *P. sylvestris* - 1,33±0,08%, *P. sibirica* – 1,61±0,06%, *P. pumila* – 1,82±0,05%.

Определено содержание аскорбиновой кислоты (мг%): в пыльце *P. sylvestris* - 34,21±0,62, *P. sibirica* - 33,84±1,64, *P. pumila* - 35,16±0,54, в микростробилах *P. sylvestris*-1,21±0,02, *P. sibirica* - 1,56±0,03, *P. pumila* - 1,52±0,07.

Анализ состава макро- и микроэлементов пыльцы и микростробилов *P. sylvestris, P. sibirica, P. pumila* показал, что для пыльцы и микростробилов характерно значительное содержание таких макроэлементов как калий (8000-16500 мг/кг) и магний (600-1400 мг/кг), из микроэлементов – пыльца в большей степени накапливает цинк (38-66 мг/кг) и медь (6,4-14,6 мг/кг), микростробилы – накапливают марганец (128-178 мг/кг). С точки зрения биологической ценности пыльца и микростробилы исследуемых видов сосен могут служить дополнительными источниками макро- и микроэлементов, особенно таких, как калий, магний, марганец, железо, цинк и медь. При сравнении микроэлементного состава разных частей сосен можно отметить высокое содержание марганца в хвое, микростробилах и почках – богатых эфирными маслами частях растения, что обусловлено его важной ролью в биосинтетических процессах, ведущих к образованию основных классов изопреноидов. В целом, по сравнению с хвоей, можно отметить более низкое содержание тяжелых металлов в микростробилах и пыльце. Это может быть обусловлено тем, что в репродуктивных органах растений микроэлементы (за исключением цинка и меди) накапливаются по барьерному типу и строго генетически контролируются.

Анализ данных элементного состава пыльцы в зависимости от места произрастания и вида сосен методом главных компонент представлен на рисунке 3.

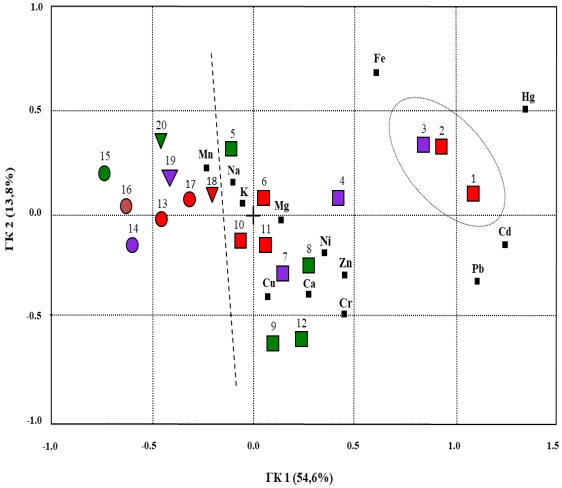

Рисунок 3 - Биплот (ГК1-ГК2) данных по содержанию элементов в образцах пыльцы *P.sylvestris, P.sibirica, P.pumila* собранных на территории Республики Бурятия. Квадратами обозначены образцы сосны обыкновенной, кругами – сосны сибирской, треугольниками – кедрового стланика; цветом выделены образцы по годам сбора.

Образцы пыльцы на биплоте разделились по видовой принадлежности (слева *P. sibirica* и *P. pumila*, справа *P. sylvestris*). В верхней правой части образуется локус образцов (1-3) пыльцы *P. sylvestris,* собранной в окрестностях г.Улан-Удэ, в которых наблюдается более высокое по сравнению с фоновыми территориями содержание железа и тяжелых металлов. По уровню содержания в пыльце химических элементов были составлены ряды накопления, которые схожи для данных видов сосен (K>Mg>Ca>Mn>Fe~Zn>Na>Cu>Ni>Cr>Pb>Cd>Hg). В пыльце *P. sylvestris,* в зависимости от места произрастания, марганец и железо меняются местами в ряду накопления − в черте города содержание железа превышает содержание марганца в отличие от образцов, собранных на фоновых территориях, что говорит о реакции растений на промышленное загрязнение. Содержание свинца, кадмия, ртути и радионуклидов во всех образцах пыльцы, в том числе в окрестностях г. Улан-Удэ, не превышало предельно допустимых значений, установленных для лекарственного растительного сырья. Однако, при заготовке сырья в зонах влияния промышленных выбросов и возможного атмосферного переноса поллютантов необходимо тщательно контролировать содержание тяжелых металлов. Так как пыльцевые зерна сосен высокочувствительны к влиянию неблагоприятных экологических факторов и известна положительная связь между концентрациями тяжелых металлов и количеством аномалий пыльцевых зерен (Махнева С.Г., 2021, Садакова К.А.,

2014), элементный состав пыльцы сосен может быть использован в качестве индикатора антропогенного (техногенного) воздействия и ранней диагностики (даже при отсутствии симптомов повреждения ассимиляционного аппарата) стрессового состояния леса при проведении лесопатологического мониторинга.

Фармакогностическое изучение

Проведенный фитохимический анализ пыльцы и микростробилов *P. sylvestris, P. sibirica, P. pumila* показал схожесть химического состава между данными видами. Установлено, что исследуемые виды сырья являются перспективным источником БАВ и могут быть использованы при разработке новых лекарственных растительных средств. Совместно с ИОЭБ СО РАН установлено, что пыльца *P. sylvestris* обладает гепатопротекторной активностью при токсическом гепатите. Для внедрения в отечественную медицинскую практику новых видов ЛРС и фитопрепаратов необходимо гарантировать их качество, эффективность и безопасность путем стандартизации не только самих препаратов, но и исходного сырья. Ввиду схожести исследуемых образцов, фармакогностическое исследование пыльцы и микростробилов *P. sylvestris, P. sibirica, P. pumila*, проводили одними и теми же методами, под общим названием сосновая пыльца – *Pini pollen*, сосновые микростробилы – *Pini microstrobili*.

Определение запасов сырья

Запасы пыльцы *P. sylvestris, P. sibirica, P. pumila* определяли в Прибайкальском и Иволгинском районах Республики Бурятия в 2020 г, в лесных массивах, перспективных для заготовки сырья, площадью 1,5 га. Урожайность сырья определяли по модельным экземплярам. Установлено, что урожайность пыльцы *P. sylvestris,* в лесных массивах Прибайкальского и Иволгинского районов, перспективных для заготовки сырья, составляет соответственно: 315,1±16,1 и 322,3±37,9 кг/м^2, *P. sibirica:*111,7±12,4 и 66,6±5,9 кг/м^2, *P. pumila:* 65,3±5,3 и 108,2±13,2 кг/м^2. Эксплуатационный запас сырья для пыльцы *P. sylvestris, P. sibirica, P. pumila* составил соответственно: 794,1 кг, 212,6 кг, 236,6 кг. Возможный ежегодный объем заготовок пыльцы *P. sylvestris, P. sibirica, P. pumila* составил соответственно: 198,5 кг, 53,1 кг, 59,1 кг.

Фармакогностическая характеристика Pini pollen

Определены внешние и микроскопические признаки пыльцы. Пыльца *Pini pollen* представляет собой мелкодисперсный, летучий, тонкий порошок от светло-желтого до желтого цвета. Запах слабый специфический. Вкус пыльцы и ее водного извлечения сладковатый. Установлены диагностические микроскопические признаки *Pini pollen*: пыльцевые зерна однолептомные, билатерально-симметричные, состоят из тела и двух воздушных мешков (рисунок 4 А-В); в полярном положении форма пыльцевых зерен эллиптическая, широкоэллиптическая или округлая. Полярная ось в 2-4 раза короче экваториальной оси, что является характерной чертой однодольных растений.

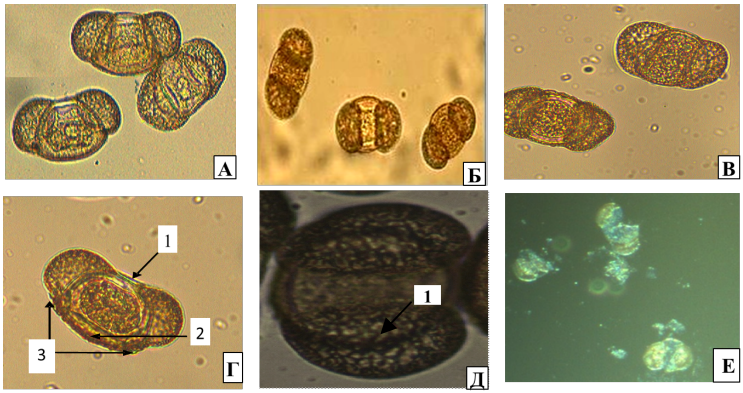

Рисунок 4 – Сосновая пыльца (ув Х150,Х200).
А – *P. sylvestris,* Б - *P. sibirica,* В - *P. pumila,* Г - структурные элементы тела пыльцы: 1-лептома; 2-щит; 3-«гребни», Д - воздушные мешки: 1 – экзина воздушных мешков, Е – измельченная пыльца

Размеры структурных элементов пыльцевых зерен *P. sylvestris, P. sibirica, P. pumila* различались между собой несущественно. Экзина проксимальной стороны тела пыльцевого зерна (щит) толще экзины, покрывающей его дистальную сторону. В полярном положении контур щита мелковолнистый, в экваториальном - гладкий. В области щита наблюдаются «гребни» - выросты экзины вблизи проксимальных краев воздушных мешков (рисунок 4 Г). Воздушные мешки округлые в экваториальном положении с проксимальной стороны образуют прямой или острый угол у места их прикрепления, довольно резко отчленены от тела. Экзина мешков имеет ячеистое строение (рисунок 4 Д), в верхней части образуя шестиугольные ячейки, в нижней части пяти-шестиугольные, с тонкими, иногда извилистыми стенками.

Измельченное сырье. При рассмотрении микропрепаратов видны фрагменты структурных частей пыльцевых зерен: воздушных мешков и тела пыльцы (рисунок 4 Е).

Для определения подлинности *Pini pollen* предложены реакции на обнаружение свободных аминокислот (нингидриновая), флавоноидов (цианидиновая), полисахаридов (с антроновым реактивом) и ТСХ. На хроматограммах обнаруживаются зона адсорбции желтого цвета на уровне зоны адсорбции стандартного образца (СО) рутина, и зона адсорбции сиреневого цвета на уровне СО глутаминовой кислоты.

Разработана и валидирована методика количественного определения суммы свободных аминокислот в пересчете на глутаминовую кислоту. Поскольку спектр извлечения из пыльцы *P. sylvestris, P. sibirica, P. pumila* с раствором нингидрина был близок по положению максимума (568±2 нм) к спектру

стандартного раствора глутаминовой кислоты λ=570 нм (рисунок 7), содержание свободных аминокислот определяли относительно СО глутаминовой кислоты.

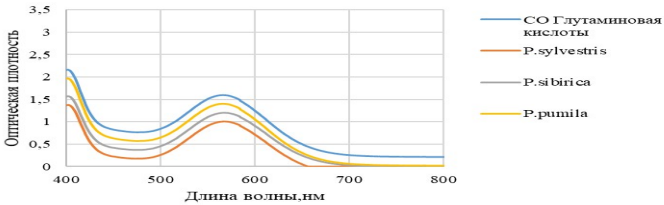

Рисунок 7 – Спектр поглощения водного извлечения пыльцы *P. sylvestris*, *P. sibirica, P. pumila* и СО глутаминовой кислоты

Подобраны оптимальные параметры извлечения суммы свободных аминокислот из *Pini pollen*: экстрагент – вода очищенная в соотношении 1:50, продолжительность экстракции – 120 мин, объем спиртового раствора нингидрина, необходимого для комплексообразования, - 1 мл, время комплексообразования 15 минут. Результаты количественного определения представлены в таблице 1.

Таблица 1 - Метрологические характеристики результатов количественного определения суммы свободных аминокислот в *Pini pollen* в пересчете на глутаминовую кислоту

Вид сырья	f	P,%	t(P,f)	$X_{ср}$,%	S	$S_{xср}$	Δ X	E,%
P. sylvestris	5	95	2,57	2,45	0,1028	0,0419	0,10	4,08
P. sibirica	5	95	2,57	2,66	0,0258	0,0105	0,03	1,13
P. pumila	5	95	2,57	3,64	0,0816	0,0333	0,08	2,21

Установлено, что содержание свободных аминокислот в пересчете на глутаминовую кислоту в *Pini pollen* составляет 2,45-3,64 %.

Разработана и валидирована методика количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин. При снятии общего спектра спиртовых извлечений пыльцы *P. sylvestris, P. sibirica, P. pumila* в комплексе с 2% раствором алюминия хлорида максимум поглощения раствора наблюдался при 410 нм, что соответствует максимуму поглощения рутина (рисунок 8).

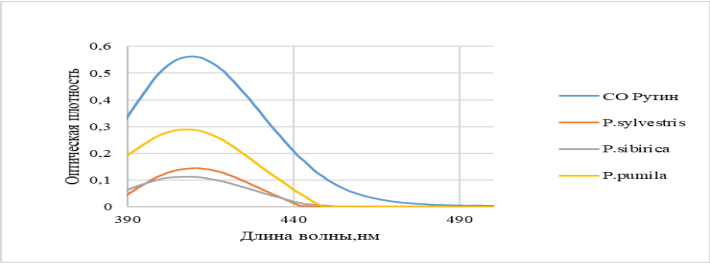

Рисунок 8 - Спектр поглощения СО рутина и 60% спиртового извлечения пыльцы *P. sylvestris*, *P. sibirica, P. pumila*

Подобраны оптимальные условия извлечения суммы флавоноидов из *Pini pollen:* экстрагент – спирт этиловый 60%, соотношение сырье : экстрагент - 1:100, продолжительность экстракции – 60 мин, с добавлением 2 мл 2% спиртового раствора алюминия хлорида, время комплексообразования 50 минут. Результаты количественного определения представлены в таблице 2. Установлено, что содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в *Pini pollen* составляет 0,83-1,00%.

Таблица 2 - Метрологические характеристики результатов количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин *Pini pollen*

n	f	P,%	t(P,f)	$X_{ср}$,%	S	$S_{xср}$	Δ X	E,%
6	5	95	2,57	0,83	0,0501	0,0204	0,05	2,04
6	5	95	2,57	0,95	0,0245	0,0100	0,03	3,16
6	5	95	2,57	1,00	0,0312	0,0127	0,03	3,00

Определены показатели доброкачественности сырья *Pini pollen*: сумма свободных аминокислот в пересчете на глутаминовую кислоту - не менее 1,5%; сумма флавоноидов в пересчете на рутин – не менее 0,6%; влажность не более 10%; зола общая - не более 10%; зола нерастворимая в 10% хлористоводородной кислоте - не более 3%; органической примеси - не более 2%; минеральной примеси – не более 1%; частиц, не проходящих сквозь сито 2 мм - не более 2%.

Разработка состава и способа получения таблеток на основе сосновой пыльцы

Таблетки являются наиболее удобной и простой в применении лекарственной формой, а также позволяют использовать весь комплекс БАВ пыльцы, поэтому нами были разработаны состав и способ получения таблеток из сосновой пыльцы на примере пыльцы *P. sylvestris*, а также проведена оценка качества полученных таблеток. Показано, что оптимальным способом для изготовления таблеток из сосновой пыльцы является метод прямого прессования. Для улучшения технологических свойств в сосновую пыльцу были введены вспомогательные вещества в различных комбинациях - мальтодекстрин,

микроцеллюлоза кристаллическая, крахмал и тальк и разработаны составы опытных образцов таблеток. Таблетки получали на ручном таблеточном прессе с давлением 120 мПа в матрице с диаметром пуансонов 11 мм, показатели качества определяли согласно требованиям ОФС.1.4.1.0015.15 «Таблетки». Установлено, что оптимальным является состав таблеток: пыльца 0,155 г, мальтодекстрин 0,135 г, микрокристаллическая целлюлоза 0,06 г. В полученных таблетках установлено наличие аминокислот, флавоноидов, методом ТСХ установлено наличие глутаминовой кислоты. Количественное определение суммы свободных аминокислот в таблетках на основе сосновой пыльцы проводили по ранее разработанной нами методике, полученные результаты представлены в таблице 5. Количественное содержание суммы свободных аминокислот в таблетках на основе сосновой пыльцы составило 2,25±0,02% (таблица 3). Рекомендуемая норма содержания - не менее 2%.

Таблица 3 – Метрологические характеристики результатов количественного содержания суммы свободных аминокислот в таблетках на основе сосновой пыльцы

n	f	P,%	t(P,f)	$X_{ср}$,%	S	$S_{хср}$	Δ X	E,%
10	9	95	2,40	2,25	0,0301	0,0095	0,02	1,01

Фармакогностическая характеристика Pini microstrobili

Определены внешние признаки цельного и измельченного сырья *Pini microstrobili*. Цельные или частично осыпавшиеся микростробилы – генеративные, собранные в колосовидные густые соцветия, почки, расположенные у основания молодых побегов. Микростробилы яйцевидно-конической или удлиненно-яйцевидной формы, состоят из оси, на которой расположены микроспорофиллы, по спирали или мутовчато. Микроспорофиллы представляют собой сухие, ланцетовидные или треугольные чешуйки. На обратной стороне микроспорофиллов расположены микроспорангии (пыльцевые мешки), в которых развивается пыльца. Цвет микростробилов желтый, красновато-коричневый. Длина микростробилов 2–4 см, в поперечнике 0,2-0,5 см. С поверхности микростробилы рыхлые, края микроспорофиллов прилегают не плотно. Запах ароматный, смолистый. Вкус водного извлечения горьковатый.

Установлены диагностические микроскопические признаки цельного и измельченного сырья: при рассмотрении внутренних слоев эпидермиса микроспорофиллов видны широкие многоугольные клетки, пронизанные поровыми канальцами (рисунок 9 А). Эпидермис поверхностного слоя микроспорофиллов состоит из наружного слоя прямоугольных низких клеток с утолщенной клеточной стенкой, на которой наблюдаются фиброзные утолщения (экзотеций), характерные для хвойных растений (рисунок 9 Б). При рассмотрении поперечного среза видны вертикально вытянутые клетки наружного эпидермиса микроспорофиллов, с обильными щелевидными порами, желтоватого цвета

(рисунок 9-В,Г). На поперечном срезе оси видны паренхимные прямоугольные клетки эпидермиса с утолщенными стенками (рисунок 9 Д,Е), в которых обнаруживаются смоляные ходы, выстланные эпителиальными клетками, а также маслянистые включения в виде мелких капель, окрашивающиеся раствором Судана III в оранжевый цвет.

При рассмотрении микроспорофиллов *P. sibirica* и *P. pumila* видны широкие многоугольные клетки, пронизанные поровыми канальцами, наблюдаются фиброзные утолщения (экзотеций) и маслянистые включения (рисунок 10).

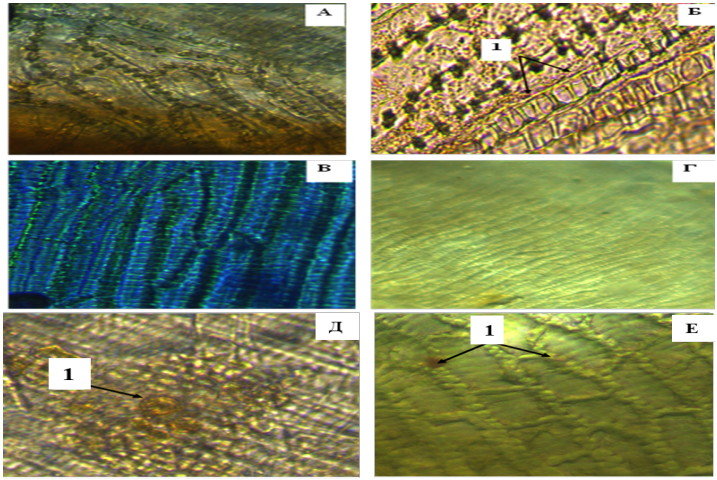

Рисунок 9 - Микроспорофилл *P. sylvestri microstrobili* (ув Х150): А – внутренний эпидермис, Б – поверхность эпидермиса:1- экзотеций, В, Г- поперечный срез микроспорофилла, Д,Е - поперечный срез оси *P. sylvestri microstrobili* (ув Х150): Д: 1-смоляной ход, Е: 1 -маслянистые включения

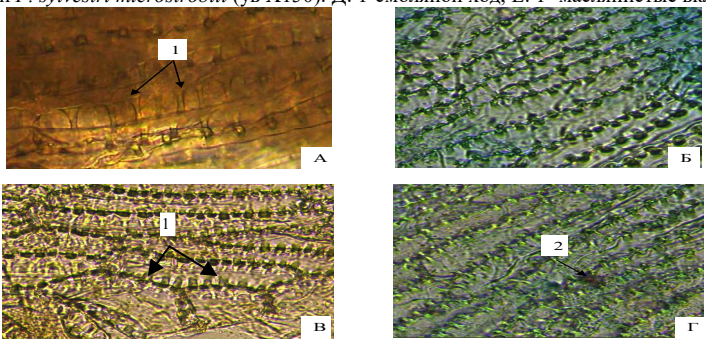

Рисунок 10 - Микроспорофилл *P. sibirici microstrobili* (ув Х150): А – поверхность эпидермиса:1- экзотеций, Б – внутренний эпидермис; микроспорофилл *P. pumilae microstrobili* В - поверхность эпидермиса:1- экзотеций, Г- внутренний эпидермис, 2 – маслянистые включения

Подобраны оптимальные условия выделения эфирного масла (ЭМ) из *Pini microstrobili* в зависимости от степени измельчения сырья и продолжительности гидродистилляции (рисунок 11). Наибольший выход ЭМ наблюдается при применении сырья с размером частиц 7мм – 0,52-1,02%. Продолжительность гидродистилляция 2 часа позволяет получить наибольшее количество ЭМ – 0,52-1,01%.

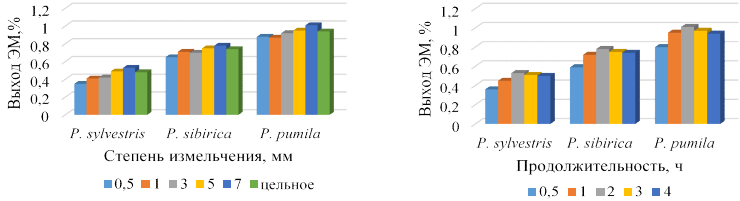

Рисунок 11 – Выход ЭМ из *Pini microstrobili*, в зависимости от степени измельчения сырья и продолжительности гидродистилляции

Разработана и валидирована методика количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин. При снятии общего спектра спиртового извлечения из микростробилов *P. sylvestris, P. sibirica, P. pumila* максимум поглощения раствора наблюдался при 410 нм, что соответствует максимуму поглощения рутина (рисунок 12).

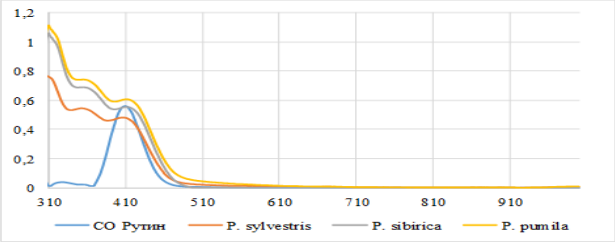

Рисунок 12 - Спектр поглощения СО рутина и спиртовых извлечений из микростробилов *P. sylvestris, P. sibirica, P. pumila*.

Подобраны оптимальные условия извлечения суммы флавоноидов в пересчете на рутин: экстрагент – спирт этиловый 70%; степень измельчения сырья – 1 мм; соотношение сырье : экстрагент - 1:100; продолжительность экстракции – 90 мин. Метрологические характеристики результатов количественного определения представлены в таблице 4.

Таблица 4 - Метрологические характеристики результатов количественного определения суммы флавоноидов в *Pini microstrobili*

Вид	f	P,%	t(P,f)	$X_{ср}$,%	S	$S_{xср}$	Δ X	E,%
P. sylvestris	5	95	2,57	0,96	0,0374	0,0152	0,04	2,61
P. sibirica	5	95	2,57	0,99	0,0127	0,0052	0,01	1,01
P. pumila	5	95	2,57	1,03	0,0215	0,0088	0,02	1,94

Содержание суммы флавоноидов в *Pini microstrobili* составило 0,96-1,03%.

Определены показатели доброкачественности: экстрактивные вещества, извлекаемые водой очищенной – не менее 20%; экстрактивные вещества, извлекаемые спиртом этиловым 70% - не менее 20%; содержание эфирного масла на а.с.с - не менее 0,3%; сумма флавоноидов в пересчете на рутин – не менее 0,8%; влажность– не более 10%; золы общей - не более 10% ; золы нерастворимой в 10% хлористоводородной кислоте - не более 3%; частей, изменивших окраску (потемневшие и почерневшие)- не более 1%; хвои - не более 1%; органической примеси - не более 2%; минеральной примеси – не более 1%; частиц, проходящих сквозь сито 3 мм (для цельного сырья) – не более 5%; , частиц, не проходящих сквозь сито 7 мм (для измельченного сырья) - не более 5%; частиц, проходящих сквозь сито 0,5 мм (для измельченного сырья) – не более 5%.

Разработка способа получения настойки из сосновых микростробилов

Помимо использования микростробилов как источника эфирных масел, нами предлагается также применение микростробилов в виде настойки. Разработан способ получения настойки из *Pini microstrobili* на примере микростробилов *P. sylvestris:* метод – ультразвуковая экстракция; экстрагент – спирт 70%, соотношение сырье : экстрагент - 1:7, время экстракции - 60 минут. Полученная настойка представляет собой прозрачную жидкость зеленовато-желтого цвета с характерным запахом, имеющая горьковатый вкус.

В настойке *Pini microstrobili* обнаружены флавоноиды, терпеноиды и дубильные вещества. Методом ТСХ обнаружен рутин (Rf=0,57±0,02, зона адсорбции желтого цвета).

Количественное определение суммы флавоноидов в пересчете на рутин в настойке *Pini microstrobili* проводили методом спектрофотометрии при длине волны 410 нм. Метрологические характеристики результатов определения представлены в таблице 5. Рекомендуемая норма количественного содержания суммы флавоноидов в пересчете на рутин в настойке *Pini microstrobili* – не менее 0,7%.

Таблица 5 – Метрологические характеристики результатов количественного определения суммы флавоноидов в настойке *Pini microstrobili*

n	f	P,%	t(P,f)	Xср,%	S	Sxср	Δ X	E,%
6	5	95	2,57	0,78	0,0187	0,0076	0,02	2,51

Определен состав летучей фракции настойки *Pini microstrobili* методом ГХ-МС. Доминирующими компонентами являются α и β-пинены, лимонен+β-фелландрен, δ-кадинен, Т-муролол. Настойка *Pini microstrobili* обладает антирадикальной активностью – Ic_{50} составил 6,8 мкл/мл.

ВЫВОДЫ

1. Установлены диагностические микроскопические признаки пыльцы: пыльцевые зерна однолептомные, билатерально-симметричные, состоят из тела и двух воздушных мешков, контур экзины тела пыльцевого зерна (щит) в полярном положении мелковолнистый, в экваториальном – гладкий, воздушные мешки округлые, экзина мешков имеет ячеистое строение; микростробилов: широкие многоугольные клетки внутренних слоев эпидермиса, пронизанные поровыми канальцами, прямоугольные низкие клетки с утолщенной клеточной стенкой – поверхностного эпидермиса, на поперечном срезе оси обнаруживаются смоляные ходы. Определен возможный ежегодный объем заготовок пыльцы *P. sylvestris, P. sibirica, P. pumila,* который составил соответственно: 198,5 кг, 53,1 кг, 59,1 кг.

2. Впервые дана фитохимическая характеристика пыльцы и микростробилов *P. sylvestris, P. sibirica и P. pumila* В исследуемых видах обнаружены флавоноиды, полисахариды, дубильные вещества, аминокислоты, аскорбиновая кислота, жирные и эфирные (в микростробилах) масла. В пыльце и микростробилах соответственно определено количественное содержание суммы флавоноидов 0,83-1,90%, 0,98-1,95%; суммы дубильных веществ 0,85-2,04%, 6,09-13,84%; суммы полифенольных соединений 1,37-2,22%, 9,28-17,95%; дигидрокверцетина (в пересчете на а.с.с.) 0,032-0,054%, 0,051-0,073%; суммы свободных аминокислот 2,23-3,67%, 1,33 – 1,82 %; аскорбиновой кислоты 33,84 - 35,16 мг%, 1,21 – 1,56 мг%; полисахаридных фракций: ВРПС – 4,11 - 5.38% , 1,63 – 1.71%; ПВ – 1,68 - 1,76%, 1,38 – 1,58%; Гц А – 2,18 - 2,61%, 6,83 - 7,84%; Гц Б – 1,75 - 2,21%, 3,24 – 4,26%.

3. Установлен жирнокислотный состав липидных фракций пыльцы и микростробилов *P. sylvestris, P. sibirica* и *P. pumila*, в которых преобладают пальмитиновая (17,18-23,58%), линолевая (15,18-22,58%), олеиновая (10,80-22,20%) кислоты. Сумма ненасыщенных жирных кислот (ННЖК) составила в пыльце 43,64-54,37%, в микростробилах 29,46-35,83%.

Показано, что пыльца содержит значительное количество белка: содержание сырого протеина в пыльце *P. sylvestris* (14,38±0,22*), P. sibirica* (15,94±0,12), *P. pumila* (16,25±1,26). Аминокислотный состав пыльцы *P. sylvestris, P. sibirica, P. pumila*, представлен 17 аминокислотами, в том числе 43,9-48,4% незаменимых. Доминирующими являются глутаминовая, аспарагиновая кислоты, аргинин и пролин, обладающие широким спектром фармакологической активности.

4. Определен химический состав эфирных масел микростробилов *P. sylvestris, P. sibirica, P. pumila.* Проведен сравнительный анализ с почками сосны обыкновенной, являющимися фармакопейным сырьем с доказанной эффективностью, показано достаточное его содержание и сходство компонентного состава. Основными компонентами эфирных масел сосновых

почек и микростробилов являются монотерпеновые соединения: α-пинен (9,76-19,31%), β-пинен (7,59-9,85), лимонен+β-фелландрен (22,74-28,75%). Показана перспективность применения микростробилов после отделения пыльцы, как источника эфирных масел и фенольных соединений.

5. Методом атомно-абсорбционной спектрометрии был определен состав макро- и микроэлементов в пыльце и микростробилах *P. sylvestris, P. sibirica, P. pumila.* Для пыльцы и микростробилов характерно значительное содержание таких макроэлементов как калий (8000-16500 мг/кг) и магний (600-1400 мг/кг), из микроэлементов – пыльца в большей степени накапливает цинк (38-66 мг/кг) и медь (6,4-14,6 мг/кг), микростробилы – марганец (128-178 мг/кг). Установлено, что пыльца исследуемых видов сосен может служить дополнительным источником макро- и микроэлементов, особенно таких, как калий, магний, марганец, железо, цинк и медь.

Содержание токсичных элементов в пыльце *P. sylvestris* было повышено в зонах влияния промышленных выбросов, но не превышало допустимых норм. Элементный состав пыльцы сосен может быть использован в качестве индикатора антропогенного (техногенного) воздействия и ранней диагностики стрессового состояния леса при проведении лесопатологического мониторинга.

6. Разработаны и валидированы методики количественного определения суммы свободных аминокислот (выход 2,45-3,69%) и флавоноидов в пересчете на рутин (выход 0,83-1,0%) в *Pini pollen*. Разработаны оптимальные условия выделения эфирного масла из сосновых микростробилов, установлена норма содержания эфирного масла на а.с.с - не менее 0,3%. Разработана и валидирована методика количественного определения суммы флавоноидов в *Pini microstrobili* (выход 0,96-1,03%). Разработаны проекты ФС «*Pini pollen*», «*Pini microstrobili*». *«Pini pollinis tabuletta», «Pini microstrobilorum tinctura»*

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Erdyneeva, S.A. Distinctive features of heavy metals' accumulation in coniferous trees in Buryatia, Russia / S.A. Erdyneeva, V.G Shiretorova, L.D. Radnaeva // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. - 2019. – 320. – 012021. (doi:10.1088/1755-1315/320/1/012021).

2. Ширеторова, В.Г. Элементный состав хвои кедрового стланика (*Pinus pumila*) / В.Г. Ширеторова, С.А. Эрдынеева, Л.Д. Раднаева // Мат-лы Междунар. науч. конф. «Современные проблемы биологии, экологии и почвоведения», посвящ. 100-летию высш. биол. образования в Вост. Сибири. - Иркутск: Изд-во ИГУ, 2019. – С. 229-230.

3. Ширеторова, В.Г. Минеральный состав хвои, шишек и семян сосны сибирской / В.Г. Ширеторова, С.А. Эрдынеева, Л.Д. Раднаева // Мат-лы XX междунар. науч.-практ. конф. «Актуальные проблемы экологии и природопользования». – М.: Изд-во РУДН, 2019. - С.497-502.

4. Эрдынеева, С.А. Компонентный состав эфирного масла хвои *Pinus pumila* / С.А. Эрдынеева, В.Г. Ширеторова, Л.Д. Раднаева // Мат-лы XI Всеросс. науч. конф. с международным участием «Химия и технология растительных веществ». – Сыктывкар, 2019. – С. 266-267.

5. Ширеторова, В.Г. Изменчивость компонентного состава эфирных масел хвои кедровых сосен в зависимости от эколого-географических факторов / В.Г. Ширеторова, С.А. Эрдынеева, Л.Д. Раднаева // Материалы Всеросс. конф. с международным участием «Лесные экосистемы бореальной зоны: биоразнообразие, биоэкономика, экологические риски». – Красноярск, 2019. – С. 517-519.

6. Эрдынеева, С.А. Особенности накопления тяжелых металлов деревьями хвойных пород Республики Бурятия / С.А. Эрдынеева, В.Г. Ширеторова, Л.Д. Раднаева // Проблемы устойчивого развития региона: IX школа-семинар молодых ученых России: мат-лы докл. - Улан-Удэ: Изд-во БНЦ СО РАН, 2019. – С. 170-175.

7. Ширеторова, В.Г. Сосновая пыльца – перспективный источник биологически активных веществ / В.Г. Ширеторова, С.А. Эрдынеева, Л.Д. Раднаева // Сборник мат-лов докладов IX школы-семинара молодых ученых России «Проблемы устойчивого развития региона», посвященной 70-летию академика РАН Арнольда Кирилловича Тулохонова. – Улан-Удэ: Изд-во БНЦ СО РАН, 2019. – С. 169-170.

8. Эрдынеева, С.А. Компонентный состав эфирных масел древесной зелени *Abies sibirica* и *Pinus sylvestris*, произрастающих в Республике Бурятия / С.А. Эрдынеева, В.Г. Ширеторова, Л.Д. Раднаева // Вестник Бурятского государственного университета. Медицина и фармация. – 2019. – № 3. – С. 20-28.

9. Эрдынеева, С.А. Сравнительное исследование компонентного состава эфирных масел хвои *Pinus pumila* (Pall.) Regel. прибайкальской и якутской популяции / С.А. Эрдынеева, В.Г. Ширеторова, В.В. Тараскин, Л.Д. Раднаева // **Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии.** – 2020. – Т.23, №9. – С. 19-25.

10. Эрдынеева, С.А. Фармакогностическое исследование пыльцы *Pinus sylvestris* L. и *Pinus pumila* (Pall.) Regel / С.А. Эрдынеева, В.Г. Ширеторова, Л.Д. Раднаева // **Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии.** – 2021. – Т. 24, № 2. – С. 29-34.

11. Erdyneeva, S.A. Fatty-Acid Compositions of *P. sylvestris, P. sibirica, P. pumila* pollen. / S.A. Erdyneeva, V.G. Shiretorova, Zh.A. Tykheev, L.D. Radnaeva // **Chemistry of Natural Compounds.** – 2021. - №4. - P. 632–633.

12. Ширеторова, В.Г. Изменчивость компонентного состава эфирных масел хвои *Pinus pumila* в зависимости от климатических факторов / В.Г. Ширеторова, С.А. Эрдынеева, Л.Д. Раднаева // Сборник науч. трудов XXI

Междунар. науч.-практ. конф. «Актуальные проблемы экологии и природопользования». – М.: Изд-во РУДН, 2021. - С. 275-279.

13. Ширеторова, В.Г. Эфирные масла растений рода *Pinus*, произрастающих в Бурятии / В.Г. Ширеторова, С.А. Эрдынеева, Л.Д. Раднаева // Байкал - ворота в Азию: Материалы Междунар. науч.-практ. конф., посвященной Году науки и технологий в Российской Федерации и 30-летию Байкальского института природопользования СО РАН. – Улан-Удэ: Изд-во БНЦ СО РАН, 2021. – С. 132-134.

14. Ширеторова, В.Г. Компонентный состав эфирных масел хвои *Pinus sibirica* и *Pinus pumila*, произрастающих в Бурятии / В.Г. Ширеторова, С.А. Эрдынеева, Л.Д. Раднаева // IV Всеросс. науч. конф. с междунар. участием «Разнообразие почв и биоты Северной и Центральной Азии». – Улан-Удэ: Изд-во БНЦ СО РАН, 2021. – С. 565-567.

15. Эрдынеева, С.А. Содержание фенольных соединений в пыльце *Pinus sylvestris, Pinus sibirica, Pinus pumila* / С.А. Эрдынеева, В.Г. Ширеторова, Л.Д. Раднаева // 90 лет - от растения до лекарственного препарата: достижения и перспективы: Сборник мат-лов юбилейной междунар. науч. конф. – М., 2021. – С. 335-340.

16. Эрдынеева, С.А. Пыльца растений рода *Pinus,* как перспективный источник БАВ / С.А. Эрдынеева, В.Г. Ширеторова, Л.Д. Раднаева // Сборник тезисов IV Всеросс. науч. конф. с междунар. участием «Разнообразие почв и биоты Северной и Центральной Азии». – Улан-Удэ: Изд-во БНЦ СО РАН, 2021. – С. 576-578.

17. Эрдынеева, С.А. Сравнительное исследование компонентного состава эфирного масла почек и микростробилов *Pinus sylvestris* L. / С.А. Эрдынеева, В.Г. Ширеторова, Л.Д. Раднаева // **Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии**. – 2022. – Т. 25, № 1. – С. 3-9.

18. Ширеторова, В.Г. Элементный состав пыльцы *Pinus sylvestris* L., *Pinus sibirica* Du Tour и *P. Pumila* (Pall.) Regel / В.Г. Ширеторова, С.А. Эрдынеева, Л.Д. Раднаева // **Химия растительного сырья**. – 2022. – № 2. – 233-241.

19. Эрдынеева, С.А. Фармакогностическое исследование микростробилов *Pinus sylvestris* L. / С.А. Эрдынеева, В.Г. Ширеторова, Л.Д. Раднаева // **Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии**. – 2022. – Т. 25, № 9. – С. 16-21.

20. Эрдынеева, С.А. Разработка методики количественного определения суммы флавоноидов в пыльце сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) методом УФ-спектрофотометрии / С.А. Эрдынеева, В.Г. Ширеторова, Л.Д. Раднаева // Материалы Всеросс. науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых с междунар. участием «Актуальные вопросы фармацевтических и естественных наук». – Иркутск, 2022. – С.98-101.