

# ВОДОРАСТВОРИМЫЕ ПОЛИСАХАРИДЫ КОРНЕЙ ЕЛИ СИБИРСКОЙ

**Д.К. Гуляев\***, кандидат фармацевтических наук,  
**В.Д. Белоногова**, доктор фармацевтических наук, профессор,  
**И.П. Рудакова**, кандидат медицинских наук  
Пермская государственная фармацевтическая академия;  
Российская Федерация, 614990, Пермь, ул. Полевая, д. 2

**Введение.** Большинство работ по утилизации побочных продуктов лесозаготовок посвящено исследованию химического состава древесной зелени и хвои. Водорастворимый полисахаридный комплекс (ВРПК) древесной зелени и шишек ели обыкновенной обладает противовоспалительной активностью. Корни ели сибирской, также являющиеся отходами лесозаготовок, с этой точки зрения изучены недостаточно.

**Цель работы** – получение полисахаридного комплекса из корней ели и определение его фармакологической активности.

**Материал и методы.** Корни ели сибирской заготавливали в Ильинском районе Пермского края, в августе 2016 г. в местах вырубki ельни-ка. ВРПК извлекали по методике выделения полисахаридных фракций Н.К. Кочеткова. Состав моносахаридов определяли методом бумажной хроматографии. Анализ острой токсичности ВРПК (определения средней летальной дозы) осуществляли на белых мышах экспресс-методом В.В. Прозоровского. Противовоспалительную активность ВРПК корней ели сибирской устанавливали по способности тормозить нарастание воспалительной реакции у крыс на фоне введения 0,1 мл 1% водного раствора каррагинена. Жаропонижающие свойства ВРПК корней ели сибирской оценивали по способности оказывать гипотермический эффект у крыс с лихорадкой.

**Результаты.** ВРПК корней ели сибирской состоит из остатков арабинозы и галактозы. Выделенный ВРПК относится к классу малотоксичных веществ, тормозит воспалительную реакцию у крыс на 57,7%, что превышает активность препарата сравнения – нимесулида (48,7%), достоверно снижает температуру тела лабораторных животных.

**Заключение.** Полученные данные указывают на перспективность дальнейших исследований ВРПК корней ели и создания препаратов на его основе.

**Ключевые слова:** ель сибирская, *Picea obovata* Ledeb., корни, полисахариды, состав моносахаров, противовоспалительная активность, жаропонижающее действие.

\*E-mail: dkg2014@mail.ru

## ВВЕДЕНИЕ

На территории Российской Федерации ежегодно заготавливается до 200 млн м<sup>3</sup> еловой деловой древесины. Лесозаготовители исполь-

зуют только ствол дерева, оставляя при этом до 500 кг отходов на 1 м<sup>3</sup> деловой древесины. Актуальной проблемой является разработка способов утилизации побочных продуктов лесозаготовок. Большинство работ в этом направлении посвящено исследованию химического состава древесной зелени и хвои

[1, 2]. Ранее было установлено, что водорастворимый полисахаридный комплекс (ВРПК) древесной зелени и шишек ели обыкновенной обладает противовоспалительной активностью, сопоставимой по силе с препаратом сравнения – Нимесулидом [3]. Одним из главных лесобразователей от северных районов Европейской части России, Сибири до Магадана является ель сибирская, генетически очень близкая к ели обыкновенной. Свойства корней ели сибирской, также являющихся отходами лесозаготовок, изучены недостаточно.

Цель исследования – получение полисахаридного комплекса из корней ели сибирской и изучение его фармакологической активности.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектами исследования служили образцы корней ели сибирской (*Picea obovata* Ledeb., семейство сосновых – *Pinaceae*), собранные на территории Ильинского района Пермского края, в августе 2016 г. в местах вырубki ельника. Корни очищали от земли, остатков стволов, разрезали на куски и сушили воздушно-теневым способом.

ВРПК из высушенного сырья извлекали по методике выделения полисахаридных фракций Н.К. Кочеткова: сырье измельчали до размера частиц диаметром 2 мм. Для удаления низкомолекулярных сахаров и фенольных соединений навеску сырья около 100 г предварительно экстрагировали спиртом 80% в соотношении 1:10, в течение 1 ч в аппарате Сокслета.

После извлечения низкомолекулярных сахаров и фенольных соединений из шрота ВРПК экстрагировали водой очищенной в соотношении 1:10 при температуре 80°C. Экстракцию повторяли дважды в тех же условиях. Объединенные экстракты упаривали под вакуумом и осаждали ВРПК добавлением трехкратного количества 96% этилового спирта. Полученные фракции очищали многократным промыванием 96% этиловым спиртом.

Для определения моносахаридного состава полисахаридов ВРПК подвергали кислотному гидролизу 2М раствором серной кислоты в запаянных ампулах при температуре 105°C в течение 8 ч. Моносахаридный состав гидролизатов определяли с помощью восходящей хроматографии на бумаге в системе растворителей: бутанол – уксусная кислота – вода (БУВ) 4:1:5. Хроматограммы обрабатывали анилин-фталатным реактивом, проявляли в сушильном шкафу при температуре 100–105°C до появления окраски [4].

Определение острой токсичности проводили на белых мышах обоего пола, массой 24–30 г, содержащихся в специальных клетках на обычном рационе в условиях стационарного вивария. В работе соблюдались правила по содержанию, защите, использованию лабораторных животных, а также ре-

комендаций Руководства по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ [5]. Для исследования использовали экспресс-метод определения средней летальной дозы В.В. Прозоровского [6]. Вещества вводили однократно в дозах от 1000 до 5000 мг/кг, перорально с помощью желудочного зонда. После введения экстракта оценивали состояние животных в течение 6 ч непрерывно. Отмечали отсутствие или наличие случаев летальности животных. По результатам эксперимента вещества относили к классу опасности, согласно ГОСТ 12.1.007-7.

Противовоспалительную активность определяли на крысах обоего пола – массой 180–250 г (каждая группа включала 6 животных) на модели острого воспалительного отека, вызванного субплантарным введением в заднюю лапу крысы 0,1 мл 1% водного раствора каррагинена. Увеличение объема стопы, свидетельствующее о развитии отека, оценивали онкометрически до введения и через 4 ч после введения раствора каррагинена. ВРПК ели сибирской вводили животным перорально в дозе 50 мг/кг за 0,5 ч до введения флогогенного агента. Контролем служили крысы, не получавшие препарата. На основе полученных результатов определяли эффект торможения в процентах к контрольному уровню. О наличии противовоспалительного действия судили по выраженности торможения воспалительной реакции. Если этот показатель был больше 30%, результат считали положительным [2].

Жаропонижающие свойства ВРПК корней ели сибирской оценивали по способности оказывать гипотермический эффект у животных с лихорадкой. Опыты выполняли на крысах обоего пола массой 180–200 г. Исследуемые препараты вводили перорально в дозе 50 мг/кг. Контрольным животным вводили физиологический раствор. Гипертермию у крыс вызывали внутривенным введением пирогенала в дозе 50 мкг/кг массы тела за 1 ч до введения препарата. Измерение температуры тела проводили в прямой кишке с помощью электронного термометра ежедневно на протяжении 4 ч после введения пирогенала. О жаропонижающей активности вещества судили по его способности ослаблять гипертермическую реакцию у крыс. Действие оценивали через 1 ч после внутрижелудочного введения препарата на фоне максимального повышения температуры и в динамике.

Статистическую обработку результатов экспериментов осуществляли по методу Стьюдента.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Выход ВРПК из корней ели сибирской составил около  $3,10 \pm 0,52\%$ . Анализ состава моносахаридов ВРПК, проведенный методом бумажной хроматографии, показал, что комплекс состоит из остатков арабинозы и галактозы.

Таблица 1

**ЖАРОПОНИЖАЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ ВОДОРАСТВОРИМОГО ПОЛИСАХАРИДНОГО КОМПЛЕКСА КОРНЕЙ ЕЛИ СИБИРСКОЙ**

Группа животных	исходная	Температура тела, С°					
		время после введения пирогенала, ч					
		1	2	3	4		
Контрольная	37,1±0,3	ПИРОГЕНАЛ	ВРПК	37,8±0,4	38,5±0,2	38,2±0,1	37,1±0,3
Получающих ацетилсалициловую кислоту	37,3±0,3			38,0±0,2	38,0±0,2	37,5±0,1	37,5±0,1
Получающих ВРПК корней ели сибирской	37,7±0,4			38,1±0,3	37,5±0,4	37,2±0,3	36,8±0,3

Примечание. Здесь и в табл.2 достоверность различий по отношению к контролю – p<0,05.

Таблица 2

**ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ВОДОРАСТВОРИМОГО ПОЛИСАХАРИДНОГО КОМПЛЕКСА КОРНЕЙ ЕЛИ СИБИРСКОЙ**

Группа животных	Прирост объема стопы через 3 ч, %	Торможение реакции через 3 ч, %
Контрольная	66,1±6,7	—
Получающих ВРПК корней ели сибирской	28,1±2,8	57,5
Получающих нимесулид	33,9±6,8	48,7

Была определена острая токсичность ВРПК корней ели сибирской при пероральном введении, LD<sub>50</sub> у мышей составила более 5000 мг/кг.

В ходе изучения жаропонижающей активности было установлено, что ВРПК корней ели сибирской достоверно снижает температуру тела лабораторных животных (табл. 1). В контрольной группе животных, получавших физиологический раствор, максимальная температура (38,5±0,2°С) была зафиксирована спустя 2 ч после введения пирогенала. В последующие часы температура тела животных в контрольной группе постепенно снижалась и через 4 ч достигла исходного уровня. В исследуемой группе после перорального введения ВРПК корней ели сибирской в дозировке 50 мг/кг наблюдалось статистически значимое в сравнении с контролем снижение температуры тела лабораторных животных. В качестве препарата сравнения использовали ацетилсалициловую кислоту, жаропонижающий эффект которой наступал только через 1 ч после введения, причем был менее выраженным, чем у исследуемого вещества.

При изучении противовоспалительной активности ВРПК корней ели сибирской установлено, что изучаемый комплекс обладает противовоспалительной активностью (табл. 2), превышающей таковую препарата сравнения – нимесулида. В группе животных, которым за 0,5 ч до введения флогогенного агента внутрибрюшинно ввели ВРПК, через 3 ч наблюдалось торможение воспалительной реакции на 57,5%. В группе животных, которым за 0,5 ч до флогогенного агента внутрибрюшинно был введен нимесулид, наблюдалось торможение воспалительной реакции на 48,7%.

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Водорастворимый полисахаридный комплекс (ВРПК), полученный из корней ели сибирской, состоит из остатков арабинозы и галактозы. Установлена острая токсичность ВРПК корней ели сибирской (LD<sub>50</sub> > 5000 мг/кг), что позволяет отнести его к классу малотоксичных веществ. В эксперименте на

животных показано, что ВРПК обладает выраженной противовоспалительной активностью, превышающей таковую препарата сравнения – нимесулида. Кроме того, ВРПК способен достоверно в сравнении с контролем снижать температуру тела лабораторных животных. Согласно данным эксперимента, перспективны дальнейшие исследования ВРПК корней ели сибирской, что позволит создать препараты на его основе.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Васильев, С.Н., Рощин В.И., Фелеке С. Экстрактивные вещества древесной зелени *Piceaabies* (L.) Karst. Растительные ресурсы, 1996; 1-2: 151-76.
2. Петренко Е.В., Паршикова В.Н., Степень Р.А. Совершенствование технологии переработки древесной зелени. Химия растительного сырья, 2013; 2: 2013-7.
3. Гуляев Д.К., Лялина Н.В., Рудакова И.П., Белоногова В.Д. Изучение противовоспалительной активности полисахаридных фракций древесной зелени и шишек ели обыкновенной. Современные проблемы науки и образования, 2015; 6.
4. Головкин Б.Н., Руденская Р.Н., Трофимова И.А., Шретер А.И. Биологически активные вещества растительного происхождения. М.: Наука, 2001; 216.
5. Миронов А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. М.: Гриф и К, 2012; 944.
6. Прозоровский В.В., Прозоровская В.М. Экспресс-метод определения средней летальной дозы. Фармакология и токсикология, 1978; 4: 497-502.

Поступила 7 мая 2017 г.

### WATER-SOLUBLE POLYSACCHARIDES FROM SIBERIAN SPRUCE (*Picea obovate*) ROOTS

D.K. Gulyaev, PhD; Professor V.D. Belonogova, PhD; I.P. Rudakova, MD

Perm State Pharmaceutical Academy; 2, Polevaya St., Perm 614990, Russian Federation

#### SUMMARY

**Introduction.** Most works on the utilization of logging by-products are devoted to the study of the chemical composition of wood green stuff and conifer needles. The water-soluble polysaccharide complex (WSPC) from whitewood (*Picea abies*) greens and strobiles has anti-inflammatory activity. Siberian spruce (*Picea obovate*) roots that are also logging waste have been inadequately investigated from this point of view.

**Objective:** to obtain a polysaccharide complex from spruce roots and to determine its pharmacological activity.

**Material and methods.** Siberian spruce roots were harvested in the Ilyinsk District, Perm Territory, in the places of spruce felling in August 2016. WSPC was extracted according to the polysaccharide extracting method described by N.K. Kochetkov. The composition of monosaccharides was determined by paper chromatography. The acute toxicity of WSPC (determination of a median lethal dose) was analyzed using albino mice by the rapid method developed by V.V. Prozorovsky. The anti-inflammatory activity of WSPC from Siberian spruce roots was established by its ability to inhibit an increase in an inflammatory response in rats receiving 0.1 ml of 1% aqueous carrageenin solution. The antipyretic properties of WSPC from Siberian spruce roots were assessed by its ability to exert a hypothermic effect in rats with fever.

**Results.** WSPC from Siberian spruce roots consists of arabinose and galactose residues. The isolated WSPC refers to the class of lowly toxic substances and inhibits the inflammatory response in rats by 57.7%, which exceeds the activity of the comparison drug nimesulide (by 48.7%) and significantly reduces body temperature in the laboratory animals.

**Conclusion.** The findings shows promise for further investigations of WSPC from spruce roots and for design of its based drugs.

**Key words:** Siberian spruce; *Picea obovata* Ledeb.; roots; polysaccharides; composition of monosaccharides; anti-inflammatory activity; antipyretic effect.

#### REFERENCES

1. Vasilev S.N., Roshchin V.I., Feleke S. Extractives of *Picea abies* wood greenery. Rastitelnie resursi, 1996; 1–2: 151–76 (in Russian).
2. Petrenko E.V., Parshikova V.N., Stepen R.A. Improvement of technology of processing of wood green. Khimiya rastitelnogo syr'ya, 2013; 2: 2013–7 (in Russian).
3. Guljaev D.K., Ljalina N.V., Rudakova I.P., Belonogova V.D. The study of anti-inflammatory activity of polysaccharide fractions of wood greenery and cones of Norway spruce. Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya, 2015; 6 (in Russian).
4. Golovkin B.N., Rudenskaja R.N., Trofimova I.A., Shreter A.I. Biologically active substances of plant origin. Moscow: Nauka, 2001; 216 (in Russian).
5. Mironov A.N. The guidelines for preclinical studies of drugs. Moscow: Grif and K, 2012; 944 (in Russian).
6. Prozorovskii V.V., Prozorovskaja V.M. Express-method of determination of median lethal dose. Farmakologiya i toksikologiya, 1978; 4: 497–502 (in Russian).