

УДК 615.322

АНТИГИПОКСИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ФРАКЦИЙ ЭФИРНОГО МАСЛА ПИХТЫ СИБИРСКОЙ

© Д.К. Гуляев^{1*}, Е.И. Яковлева¹, П.С. Мащенко¹, С.Ю. Солодников^{1,2}, В.Д. Белоногова¹

¹ Пермская государственная фармацевтическая академия, ул. Полевая, 2, Пермь, 614990 (Россия), e-mail: dkg2014@mail.ru

² Пермский национальный исследовательский политехнический университет, Комсомольский пр., 29, Пермь, 614990 (Россия)

Проведено исследование компонентного состава и антигипоксической активности фракций эфирного масла пихты сибирской – *Abies sibirica*. Сырьем для получения эфирного масла являлась древесная зелень пихты сибирской, собранная на территории Ильинского района Пермского края в темнохвойном лесу. Сбор образцов для исследования проводили в декабре 2018 г. с деревьев в возрасте 40–50 лет. Эфирное масло получали с помощью аппарата Клевенджера. Определение компонентного состава фракций эфирного масла проводили с помощью хромато-масс-спектрометрии. Опыты по определению антигипоксической активности фракций эфирного масла пихты сибирской проводились на модели гипоксической гипоксии с гиперкапнией. По результатам исследования установлено, что первая фракция в большей степени насыщается монотерпеновыми соединениями, а в последующих фракциях возрастает доля сесквитерпеноидов. Основными компонентами всех фракций пихтового масла являются: борнилацетат, лимонен, Δ^3 -карен, кариофиллен. Установлено, что фракция №1 и №2 обладают наибольшей антигипоксической активностью в сравнении с контролем. Для дальнейших исследований нами предлагается фракция №1, что обусловлено высоким содержанием в первой фракции борнилацетата, и наименьшим содержанием Δ^3 -карена, который ингибирует комплекс убихинол-цитохром-с редуктазу, нарушая митохондриальное и тканевое дыхание.

Ключевые слова: пихта сибирская, фракции эфирного масла, хромато-масс-спектрометрический анализ, антигипоксическая активность.

Введение

Пихта сибирская (*Abies sibirica*) – хвойное вечнозеленое дерево высотой до 30 м с широкопирамидальной кроной. Корневая система поверхностная, приспособлена к жизни в плотных влажных почвах, но на рыхлых грунтах формируется стержневой корень. Кора тонкая, гладкая со смоляными пузырьками (желваки), которые заполнены живицей. Хвоя плоская, мягкая, на конце затуплена, направлена вверх. Женские шишки на ветвях прямостоячие, при созревании распадающиеся на отдельные чешуи [1].

Древесная зелень пихты сибирской накапливает эфирное масло, в состав которого входят следующие

Гуляев Дмитрий Константинович – кандидат фармацевтических наук, старший преподаватель кафедры фармакогнозии с курсом ботаники, e-mail: dkg2014@mail.ru

Яковлева Екатерина Игоревна – студент, e-mail: katya_katya97@mail.ru

Мащенко Петр Сергеевич – кандидат фармацевтических наук, доцент, доцент кафедры токсикологической химии, e-mail: petlya11@mail.ru

Солодников Сергей Юрьевич – доктор медицинских наук, доцент кафедры экстремальной медицины и товароведения, e-mail: s.u.solodnikov@rambler.ru

Белоногова Валентина Дмитриевна – доктор фармацевтических наук, доцент, заведующий кафедрой фармакогнозии с курсом ботаники, e-mail: belonogovavd@yandex.ru

компоненты: β -пинен, α -пинен, Δ^3 -карен, лимонен, борнеол, борнилацетат, α -мууролен, лонгипинен, лонгифолен, кариофиллен, α -фарнезен, β -фарнезен, α -фелландрен, копаен, α -иланген, α -терпинеол и другие [2–7].

Эфирное масло пихты обладает массой полезных свойств. Установлено, что пихтовое масло и его компоненты (α -карриофиллен и гумулен) проявляют противоопухолевую активность [8]. Антибактериальная активность эфирного масла пихты сибирской в большей степени проявляется на грамположительные микроорганизмы [9]. Анти-

* Автор, с которым следует вести переписку.

бактериальный эффект эфирного масла по силе сопоставим с действием фурацилина и сангвиритрина [10]. Эфирное масло пихты уменьшает умственную усталость и повышает работоспособность, снижает нервно-психическое напряжение [6], обладает антиоксидантной [11] и антигипоксической активностью [12]. Показана высокая противогрибковая активность зубного геля с эфирным маслом пихты сибирской [13]. Водно-спиртовой экстракт коры пихты и эфирное масло древесной зелени проявляет противовоспалительные и анальгезирующие свойства [14].

Степень выраженности биологической активности пихтового масла зависит от компонентного состава, что позволяет предполагать разницу в фармакологической активности отдельных фракций эфирного масла [15]. В литературе имеются сведения о разности компонентного состава фракций эфирного масла пихты сибирской. Так, первые фракции насыщаются преимущественно легколетучими монотерпеновыми соединениями, которые являются малотоксичными и обладают широким спектром биологической активности. Последующие фракции, насыщенные в большей степени сесквитерпеноидами, нашли применение в составе средств для отпугивания кровососущих насекомых [16]. Большое значение имеет и отсутствие или снижение содержания во фракции нежелательных компонентов, таких как Δ^3 -карен, который раздражает дыхательные пути и слизистые [17]. При этом стоит отметить, что Δ^3 -карен обладает и полезными свойствами, повреждая бактериальные клеточные стенки. Δ^3 -карен способен связываться с бактериальной ДНК и влиять на конформацию и структуру бактериальной ДНК [18].

Среди фармакологических эффектов пихтового масла интерес представляет антигипоксическая активность, поскольку гипоксия является одним из основных патогенетических звеньев многих заболеваний, таких как инсульт, инфаркт, ишемическая болезнь сердца, атеросклероз [19]. Различают острую гипоксию, которая характеризуется с преимущественным увеличением синтеза эритропоэтина и индуцированием фагоцитарной активности макрофагов, и хроническую гипоксию, связанную с нарастанием эндотелиальной дисфункции и снижением пролиферативного потенциала клеток [20]. Антигипоксанты довольно широко и успешно применяются в фармакотерапии для профилактики и коррекции гипоксии [21]. Представляет интерес выявить фракцию эфирного масла пихты сибирской, которая бы проявляла максимальную биологическую активность.

Цель работы – исследование состава и антигипоксической активности фракций эфирного масла пихты сибирской для использования полученных результатов в разработке новых лекарственных препаратов.

Экспериментальная часть

Сырьем для получения эфирного масла являлась древесная зелень пихты сибирской – *Abies sibirica* семейства *Pinaceae*, собранная на территории Ильинского района Пермского края в темнохвойном лесу. Сбор образцов для исследования проводили в декабре 2018 года с деревьев в возрасте 40–50 лет. Сырье исследовали в свежем виде, предварительно измельчив до размера частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 3 мм.

Эфирное масло получали с помощью аппарата Клевенджера по методу 2 Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV издания [22]. Экстракция проводилась в течение 180 мин до 100% извлечения масла из всей массы сырья. Для хроматографического исследования эфирное масло отбирали из приемника одноразовым шприцем и запаивали в ампулы. Последовательно были отобраны 3 фракции эфирного масла: через 30, 60 и 90 мин после начала отгонки. Полученные фракции эфирного масла сразу подвергали анализу.

Хромато-масс-спектрометрический анализ фракций эфирного масла пихты сибирской проводили на газовом хроматографе Agilent 7890A с масс-селективным детектором Agilent 5975C. Температура испарителя – 250 °С, температура колонки – 70 °С, выдерживается в течение 5 мин, а затем повышается до 310 °С со скоростью 10 °С в минуту и выдерживается в течение 10 мин. Температура интерфейса – 310 °С, объем вводимой пробы – 1 мкл, газ-носитель – гелий, деление потока – 1 : 10, ионизация – методом электронного удара.

Исследование антигипоксической активности проводили на белых мышах линии CD-1 в возрасте трех месяцев. Животные были получены из лицензированного источника, имеющего действующую AAALAC аккредитацию, НПП «Питомник лабораторных животных» ФИБХ РАН (г. Пушино). Животные в исследовании содержались в поликарбонатных клетках (Bioskape) по пять животных одного пола в соответствии со стандартом ЕС 2010/63/EU на подстилке Rinofix МК 2000 (JRS, Германия). Для кормления животных использовался корм «Чара» для конвенциональных мелких лабораторных грызунов (мышей, крыс), производитель – ЗАО «Ассортимент Агро» (Россия). Вода в свободном доступе. Животные использовались в опытах натощак.

Опыты по определению антигипоксической активности проводились в соответствии с «Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств» в модели гипоксической гипоксии с гиперкапнией [23].

Эксперимент проводился в два этапа. Первый этап (фракция 1 и 2): первая группа – контрольная (интактная) – 6 животных, вторая группа – ингаляции первой фракции пихтового масла в объеме 0.05 мл – 5 животных, третья группа – ингаляции второй фракции пихтового масла в объеме 0.05 мл – 5 животных.

Второй этап (фракция 3): первая группа – контрольная (интактная) – 10 животных, вторая группа – ингаляции 0.05 мл 3 фракции пихтового масла – 10 животных.

Возгонка масла для ингаляций 2–4 групп животных проводилась с использованием нагретой на кипящей водяной бане выпарительной чашки.

Для изучения антигипоксической активности использовали «затравочную» камеру объемом 0.16 м³, в которой проводили ингаляции. Животные помещались в камеру на 30 минут, затем их переносили в банки емкостью 250 мл с притертой пробкой. Пробка герметизировалась вазелином и лентой «Parafilm». Фиксировалось время гибели животных. Критерием гибели являлось прекращение дыхательной и двигательной активности.

Для обработки данных экспериментов должны использоваться непараметрические статистические методы, когда не выполняются требования параметричности данных [24]. В данном случае использовался непараметрический метод Вилкоксона [25], поправки на множественные сравнения не выполнялись. Выделение выбросов выполнялось по правилу «1.5 IQR» [26, 27].

Обсуждение результатов

С помощью хромато-масс-спектрометрии проведено определение компонентного состава фракций эфирного масла древесной зелени пихты сибирской, выделенных через разный временной интервал.

Состав фракций пихтового масла приведен в таблице 1.

По результатам исследования установлено, что во всех трех фракциях эфирного масла пихты сибирской идентифицировано 18 компонентов, относящихся к моно- и сесквитерпеноидам.

Первая фракция эфирного масла содержит 11 компонентов, доля которых превышает 1%. Она представлена в основном монотерпеноидами. Основными компонентами этой фракции являются: борнилацетат и лимонен (табл. 1).

Во второй фракции обнаружено 13 компонентов, содержание которых превышает 1%. Основными компонентами являются: борнил ацетат, лимонен и Δ^3 -карен, концентрация которого возросла в 3 раза, по сравнению с первой фракцией. Во второй фракции обнаружены сесквитерпены отсутствовавшие в 1 фракции – кариофиллен, 10s,11s-гимачала-3(12),4-диен, β -бисаболон, селина-6-ен-4-ол, α -бисаболол.

Таблица 1. Компонентный состав фракций эфирного масла древесной зелени пихты сибирской

№ п/п	Компонент	Время удер-живания, мин	Содержание, % во фракции		
			Фракция №1	Фракция №2	Фракция №3
1	Δ^3 -карен	3.308	6.52	18.16	16.86
2	Лимонен	3.442	10.12	11.39	8.67
3	4-карен	3.932	–	3.16	2.66
4	3-циклогексен-1-карбокисальдегид-3,4-диметил	4.352	2.84	–	–
5	Эндо-борнеол	4.637	5.26	5.82	6.95
6	4-(1-метилэтил)-2-циклогексен-1-он	4.806	1.54	–	–
7	Борнилацетат	5.593	46.37	38.94	44.13
8	Эвкарвон	5.826	6.05	–	–
9	транс β -оцимен	6.17	4.65	–	–
10	Геранилацетат	6.217	–	1.28	1.59
11	Лонгифолон	6.578	1.69	1.47	–
12	Кариофиллен	6.648	–	7.62	5.79
13	10s,11s-гимачала-3(12),4-диен	7.074	–	1.92	1.72
14	β -бисаболон	7.144	–	2.45	2.07
15	Кариофиллен оксид	7.738	6.88	–	–
16	Гумулен	7.896	2.22	5.16	4.35
17	Селина-6-ен-4-ол	7.936	–	1.31	2.58
18	α -бисаболол	8.251	–	1.3	2.62

В третьей фракции обнаружено 12 компонентов, содержание которых превышает 1%, основными являются: борнилацетат, лимонен и Δ^3 -карен. Наблюдается увеличение доли сесквитерпенов – α -бисаболола, селина-6-ен-4-ола.

В связи с тем, что борнилацетат, лимонен и Δ^3 -карен содержатся во всех трех фракциях в наибольшем количестве, была спрогнозирована активность с использованием программы Pass online [28]. Результаты прогноза показали разнонаправленное влияние на дыхательную систему.

Борнилацетат и лимонен с вероятностью 0.899 могут проявить аналептическую активность, что также предполагается в некоторых исследованиях [6, 29]. Δ^3 -карен не проявляет аналептического действия, он с вероятностью 0.800 ингибирует комплекс убихинол-цитохром-с редуктазу, влияя на комплекс цитохромов *bc₁* митохондриальной дыхательной цепи, вызывая угнетение тканевого дыхания [30, 31].

Экспериментальная проверка расчетов была проведена в модели гипоксической гипоксии с гиперкапнией как интегративного показателя функции дыхания [32]. Результаты изучения антигипоксической активности всех выделенных фракций пихтового масла представлены в таблице 2.

Из таблицы 2 следует, что медианное время жизни животных во второй и третьей группе первого эксперимента (фракция 1 и фракция 2) значительно превышает медианное значение времени жизни контрольной группы – на 106.4% и 92.5% соответственно, при $p < 0.05$ в обоих случаях. Группа, подвергшаяся воздействию фракции №3, не показала значимых различий в медианных значениях времени жизни по сравнению с контролем, поставленным синхронно. Результаты экспериментов представлены на рисунках 1–3.

В результате проведенного эксперимента можно сделать вывод о том, что антигипоксическая активность фракций эфирного масла древесной зелени пихты сибирской зависит от времени перегонки, что подтверждается медианными значениями времени жизни животных в соответствующих группах. Первые две фракции эфирного масла в большей степени насыщены компонентами, обуславливающими антигипоксическую активность, чем третья. Это может быть связано с тем, что во фракции 3 уменьшается доля лимонена и увеличивается доля некоторых сесквитерпеноидов.

Таблица 2. Антигипоксическая активность фракций эфирного масла пихты сибирской

Параметр	Группа				
	Контроль 1	Фракция 1	Фракция 2	Контроль 2	Фракция 3
Медианное время жизни животных, с	1032.5	2131	1988	1191 (1164)	1426.5
Увеличение времени жизни животных, %	–	106.4	92.5	–	19.8 (22.6)
p (Wilcoxon signed-rank test)	–	0.008*	0.008*	–	0.130 (0.079)

p (Wilcoxon signed-rank test) – p значение по критерию Манна-Уитни. * – значение $p < 0.05$. Значения в скобках – значения без учета выбросов.

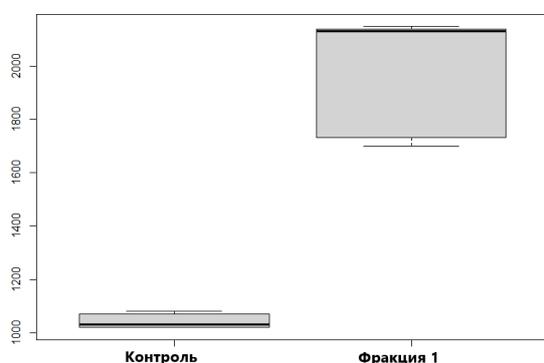


Рис. 1. Результаты эксперимента фракция 1. Время жизни животных в секундах. Полужирные метки – медианы, «ящик» – межквартильный размах (IQR), «усы» – $1.5 \cdot IQR$, точки – выбросы

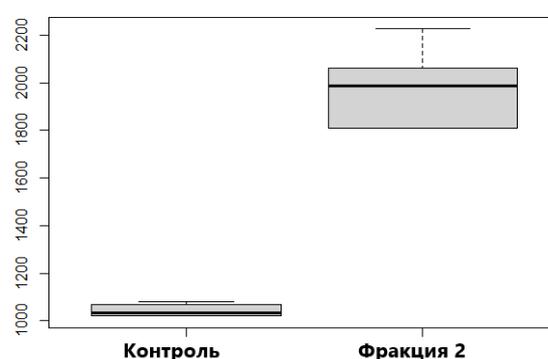
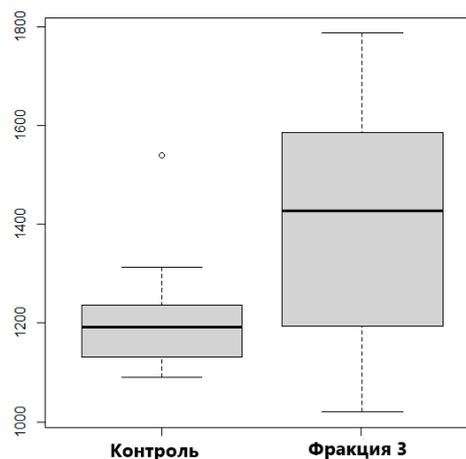


Рис. 2. Результаты эксперимента фракция 2. Время жизни животных в секундах. Полужирные метки – медианы, «ящик» – межквартильный размах (IQR), «усы» – $1.5 \cdot IQR$, точки – выбросы

Рис. 3. Результаты эксперимента фракция 3. Время жизни животных в секундах. Полужирные метки – медианы, «ящик» – межквартильный размах (IQR), «усы» – $1.5 \cdot IQR$, точки – выбросы



Выводы

1. Установлено, что компонентный состав пихтового масла зависит от времени экстракции. Первая фракция в большей степени насыщается монотерпеновыми соединениями, а в последующих фракциях возрастает доля сесквитерпеноидов.

2. Лимонен, борнилацетат и Δ^3 -карен являлись основными компонентами во всех исследуемых фракциях эфирного масла пихты сибирской.

3. При получении на основе пихтового масла лекарственных препаратов с антигипоксическими свойствами рекомендуется использовать первую и вторую фракцию.

4. Исследование фракций эфирного масла древесной зелени пихты сибирской является перспективным и требует более детального изучения на других моделях гипоксии с целью определения механизмов действия комплекса активных веществ.

Список литературы

1. Овеснов С.А., Ефимик Е.Г., Козьминых Т.В. Иллюстрированный определитель растений Пермского края. Пермь, 2007. 743 с.
2. Растительные ресурсы России: Компонентный состав и биологическая активность растений. СПб., 2016. Т. 7. 333 с.
3. Ефремов Е.А., Ефремов А.А. Компонентный состав июльской лапки пихты сибирской Красноярского края // Химия растительного сырья. 2010. №2. С. 135–138.
4. Ефремов Е.А., Ефремов А.А. Компонентный состав октябрьской лапки пихты сибирской Красноярского края // Химия растительного сырья. 2010. №3. С. 121–124.
5. Ефремов А.А., Струкова Е.Г., Нарчуганов А.Н. Компонентный состав эфирного масла лапки хвойных Сибирского региона по данным хромато-масс-спектрометрии // Journal of Siberian Federal University. 2009. №2. С. 335–350.
6. Matsubara E., Fukagawa M., Okamoto T., Ohnuki K., Shimizu K., Kondo R. The essential oil of *Abies sibirica* (Pinaceae) reduces arousal levels after visual display terminal work // Flavour and fragrance journal. 2011. Vol. 26. Pp. 204–210.
7. Хасанов В.В., Рыжова Г.Л., Куряева Т.Г., Дычко К.А. Изучение состава и антиокислительной активности продуктов водно-паровой дистилляции пихты сибирской (*Abies sibirica* Ledeb.) // Химия растительного сырья. 2009. №4. С. 83–88.
8. Legault J., Dahl W., Debiton E., Pichette A., Madelmont J.C. Antitumor activity of balsam fir oil: production of reactive oxygen species induced by alpha-humulene as possible mechanism of action // Planta medica. 2003. N5. Pp. 402–407. DOI: 10.1055/s-2003-39695.
9. Rakin M., Mojovic L., Dimitrijevic K., Mihajlovski K., Marincovic S.S. Investigation of antimicrobial activity of encapsulated essential oils // Material Science Forum. 2007. Vol. 555. Pp. 429–434.
10. Струкова Е.Г., Ефремов А.А., Гонтова А.А., Соколов Л.С. Воздействие эфирных масел сибирского региона на условно-патогенные микроорганизмы // Химия растительного сырья. 2009. №4. С. 79–82.
11. Сизова Н.В. Сравнение антиоксидантной активности пихтового масла и CO_2 -экстракта пихты, подсолнечного масла и CO_2 -экстракта семян подсолнечника // Химия растительного сырья. 2004. №3. С. 99–102.
12. Яковлева Е.И., Гапечкина Е.Д. Исследование антигипоксического действия ряда эфирных масел и их комбинаций // Ветеринария. 2018. №7. С. 55–59.

13. Noreikaitė A., Ayupova R., Satbayeva E., Seitaliyeva A., Amirkulova M., Pichkhadze G., Datkhayev U., Stankeviciandccaron E. General Toxicity and Antifungal Activity of a New Dental Gel with Essential Oil from *Abies Sibirica* L. // *Med Sci Monit*. 2017. N23. Pp. 521–527. DOI: 10.12659/MSM.898630.
14. Kalinkevich K., Karandashov V.E., Ptitsyn L.R. In vitro study of the anti-inflammatory activity of some medicinal and edible plants growing in Russia // *Химия растительного сырья*. 2013. №1. С. 113–118. DOI: 10.14258/jcrpm.1301113.
15. Ефремов Е.А. Состав и бактерицидная активность отдельных фракций эфирного масла пихты сибирской // Молодежь и наука: сборник материалов VI Всероссийской научно-технической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых. Красноярск, 2011. С. 89–93.
16. Степень Р.А. Изменение выхода и состава пихтового масла в процессе отгонки // *Лесной журнал*. 1998. №4. С. 114–119.
17. Kasanen J.P., Pasanen A.L., Pasanen P., Liesivuori J., Kosma V.M., Alarie Y. Evaluation of sensory irritation of delta3-carene and turpentine, and acceptable levels of monoterpenes in occupational and indoor environment // *Journal of Toxicology Environmental Health A*. 1999. Vol. 28. N2. Pp. 89–114. DOI: 10.1080/009841099157809.
18. Shu H., Chen H., Wang X., Hu Y., Yun Y., Zhong Q., Chen W., Chen W. Antimicrobial Activity and Proposed Action Mechanism of 3-Carene against *Brochothrix thermosphacta* and *Pseudomonas fluorescens* // *Molecules*. 2019. Vol. 24. N18. Pp. 3246–3264. DOI: 10.3390/molecules24183246.
19. Marsch E., Sluimer J.C., Daemen M.J. Hypoxia in Atherosclerosis and Inflammation // *Current Opinion in Lipidology*. 2013. Vol. 24. N5. Pp. 393–400. DOI: 10.1097/MOL.0b013e32836484a4.
20. Movafagh S., Crook S., Vo K. Regulation of Hypoxia-Inducible Factor-1 α by Reactive Oxygen Species: New Developments in an Old Debate // *Journal of Cell Biochemistry*. 2014. Vol. 116. N5. Pp. 696–703. DOI: 10.1002/jcb.25074.
21. Новиков В.Е., Левченков О.С. Новые направления поиска лекарственных средств с антигипоксической активностью и мишени для их действия // *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2013. Т. 76. №5. С. 37–47.
22. ОФС 1.5.3.0010.15 «Определение содержания эфирного масла в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» // Государственная фармакопея Российской Федерации XIII издания. М., 2018. Т. 2. С. 2383–2387.
23. Миронов А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. М., 2012. 944 с.
24. Hollander M., Wolfe D.A., Chicken E. Nonparametric statistical methods. John Wiley & Sons, 2013. 751 p.
25. Гланц С. Медико-биологическая статистика. М., 1999. Т. 1. 459 с.
26. Tukey J.W. Exploratory data analysis. Addison-Wesley, 1977. 712 p.
27. ГОСТ Р ИСО 16269-4-2017. Статистические методы. Статистическое представление данных. Часть 4. Выделение и обработка выбросов. М., 2017. 53 с.
28. Хайцев Н.В., Васильев А.Г., Трашков А.П., Кравцова А.А., Балашов Л.Д. Влияние возраста и пола на характер ответных реакций белых крыс при действии хронической гипоксической гипоксии // *Педиатр*. 2015. №2. С. 71–77.
29. PASS online [Электронный ресурс]. URL: <http://way2drug.com/passonline>.
30. Crowell P.L., Elson C.E., Bailey H.H., Elegbede A., Haag J.D., Gould M.N. Human metabolism of the experimental cancer therapeutic agent d-limonene // *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*. 1994. Vol. 35. Pp. 3–31.
31. Pletjushkina O.Yu., Lyamzaev K.G., Izyumov D.S., Bakeeva L.E., Saprunova L.V., Chernyak B.V., Skulachev V.P. Selective elimination of mitochondria (“mitoptosis”) induced by the inhibitors of respiration and uncouplers // 29th Meeting of the Federation of the European Biochemical Societies. Warsaw, 2004. 56 p.
32. Евсеева М.А., Правдивцев В.А., Евсеев А.В., Сосин Д.В. Гиперкапния при гипоксии и гипероксии // *Вестник Смоленской медицинской академии*. 2003. №3. С. 12–15.

Поступила в редакцию 22 января 2020 г.

После переработки 23 сентября 2020 г.

Принята к публикации 28 сентября 2020 г.

Для цитирования: Гуляев Д.К., Яковлева Е.И., Мащенко П.С., Солодников С.Ю., Белоногова В.Д. Антигипоксическая активность фракций эфирного масла пихты сибирской // *Химия растительного сырья*. 2020. №4. С. 273–280. DOI: 10.14258/jcrpm.2020047321.

Gulyayev D.K.^{1}, Yakovleva Ye.I.¹, Mashchenko P.S.¹, Solodnikov S.Yu.^{1,2}, Belonogova V.D.¹* THE ANTIHYPOXIC ACTIVITY OF SIBERIAN FIR ESSENTIAL OIL FRACTIONS¹ Perm State Pharmaceutical Academy, ul. Polevaya, 2, Perm, 614990 (Russia), e-mail: dkg2014@mail.ru² Perm National Research Polytechnic University, Komsomol'skiy pr., 29, Perm, 614990 (Russia)

The component composition and antihypoxic activity of Siberian fir (*Abies sibirica*) essential oil fractions were researched. The foliage of Siberian fir, collected on the territory of the Ilyinsky district of the Perm region in a dark coniferous forest was the raw material for obtaining the essential oil. Samples for the research were collected in December 2018 from trees 40–50 years old. The essential oil was obtained with the Clevenger apparatus. Determination of the component composition of Siberian fir essential oil fractions was made by using chromatography-mass-spectrometry. Experiments for determination of antihypoxic activity of Siberian fir essential oil fractions were made on a hypoxic hypoxia model with hypercapnia. According to the results of the research, it was found that the first fraction is more saturated with monoterpene compounds, but the proportion of sesquiterpenoids increases in following fractions. The main components of all fir oil fractions are: bornylacetate, limonene, Δ^3 -carene, karyophyllene. It was found that the fractions 1 and 2 have the highest antihypoxic activity in comparison with the reference sample. For further research, we offer fraction 1, because it contains the high level of bornylacetate, and the lowest content of Δ^3 -carene, which inhibits the ubiquinol cytochrome-C reductase complex, interrupting mitochondrial and cell respiration.

Keywords: Siberian fir, the essential oil fraction, gas chromatography-mass-spectrometry, antihypoxic activity.

References

1. Ovesnov S.A., Yefimik Ye.G., Koz'minykh T.V. *Illyustrirovannyi opredelitel' rasteniy Permskogo kraya*. [Illustrated guide to plants of the Perm region]. Perm, 2007, 743 p. (in Russ.).
2. *Rastitel'nyye resursy Rossii: Komponentnyy sostav i biologicheskaya aktivnost' rasteniy*. [Plant resources of Russia: Component composition and biological activity of plants. vol. 7]. St. Petersburg, 2016, 333 p. (in Russ.).
3. Yefremov Ye.A., Yefremov A.A. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2010, no. 2, pp. 135–138. (in Russ.).
4. Yefremov Ye.A., Yefremov A.A. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2010, no. 3, pp. 121–124. (in Russ.).
5. Yefremov A.A., Strukova Ye.G., Narchuganov A.N. *Journal of Siberian Federal University*, 2009, no. 2, pp. 335–350. (in Russ.).
6. Matsubara E., Fukagawa M., Okamoto T., Ohnuki K., Shimizu K., Kondo R. *Flavour and fragrance journal*, 2011, vol. 26, pp. 204–210.
7. Khasanov V.V., Ryzhova G.L., Kuryayeva T.G., Dychko K.A. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2009, no. 4, pp. 83–88. (in Russ.).
8. Legault J., Dahl W., Debiton E., Pichette A., Madelmont J.C. *Planta medica*, 2003, no. 5, pp. 402–407. DOI: 10.1055/s-2003-39695.
9. Rakin M., Mojovic L., Dimitrijevic K., Mihajlovski K., Marincovic S.S. *Material Science Forum*, 2007, vol. 555, pp. 429–434.
10. Strukova Ye.G., Yefremov A.A., Gontova A.A., Sokolov L.S. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2009, no. 4, pp. 79–82. (in Russ.).
11. Sizova N.V. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2004, no. 3, pp. 99–102. (in Russ.).
12. Yakovleva Ye.I., Gapechkina Ye.D. *Veterinariya*, 2018, no. 7, pp. 55–59. (in Russ.).
13. Noreikaitė A., Ayupova R., Satbayeva E., Seitliyeva A., Amirkulova M., Pichkhadze G., Datkhayev U., Stankevicius E. *Med Sci Monit.*, 2017, no. 23, pp. 521–527. DOI: 10.12659/MSM.898630.
14. Kalinkevich K., Karandashov V.E., Ptitsyn L.R. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2013, no. 1, pp. 113–118. DOI: 10.14258/jcprm.1301113.
15. Yefremov Ye.A. *Molodezh' i nauka: Sbornik materialov VI Vserossiyskoy Nauchno-tehnicheskoy konferentsii studentov, aspirantov i molodykh uchenykh*. [Youth and Science: Collection of materials of the VI All-Russian Scientific and Technical Conference of Students, Graduates and Young Scientists]. Krasnoyarsk, 2011, pp. 89–93. (in Russ.).
16. Stepen' R.A. *Lesnoy zhurnal*, 1998, no. 4, pp. 114–119. (in Russ.).
17. Kasanen J.P., Pasanen A.L., Pasanen P., Liesivuori J., Kosma V.M., Alarie Y. *Journal of Toxicology Environmental Health A*, 1999, vol. 28, no. 2, pp. 89–114. DOI: 10.1080/009841099157809.
18. Shu H., Chen H., Wang X., Hu Y., Yun Y., Zhong Q., Chen W., Chen W. *Molecules*, 2019, vol. 24, no. 18, pp. 3246–3264. DOI: 10.3390/molecules24183246.
19. Marsch E., Sluimer J.C., Daemen M.J. *Current Opinion in Lipidology*, 2013, vol. 24, no. 5, pp. 393–400. DOI: 10.1097/MOL.0b013e32836484a4.
20. Movafagh S., Crook S., Vo K. *Journal of Cell Biochemistry*, 2014, vol. 116, no. 5, pp. 696–703. DOI: 10.1002/jcb.25074.
21. Novikov V.Ye., Levchenkov O.S. *Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya*, 2013, vol. 76, no. 5, pp. 37–47. (in Russ.).
22. *Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiyskoy Federatsii XIII izdaniya*. [State Pharmacopoeia of the Russian Federation, XIII edition]. Moscow, 2018, vol. 2, pp. 2383–2387. (in Russ.).
23. Mironov A.N. *Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv. Ch. I*. [Guidelines for conducting preclinical studies of drugs. Part 1]. Moscow, 2012, 944 p. (in Russ.).
24. Hollander M., Wolfe D. A., Chicken E. *Nonparametric statistical methods*, John Wiley & Sons, 2013, 751 p.

* Corresponding author.

25. Glants S. *Mediko-biologicheskaya statistika*. [Biomedical statistics]. Moscow, 1999, vol. 1, 459 p. (in Russ.).
26. Tukey J.W. *Exploratory data analysis*, Massachusetts: Addison-Wesley, 1977, 712 p.
27. GOST R ISO 16269-4-2017. *Statisticheskiye metody. Statisticheskoye predstavleniye dannykh. Chast' 4. Vydeleniye i obrabotka vybrosov*. [GOST R ISO 16269-4-2017. Statistical methods. Statistical presentation of data. Part 4. Extraction and treatment of outliers]. Moscow, 2017, 53 p. (in Russ.).
28. Khaytsev N.V., Vasil'yev A.G., Trashkov A.P., Kravtsova A.A., Balashov L.D. *Pediatr*, 2015, no. 2, pp. 71–77. (in Russ.).
29. PASS online. URL: <http://way2drug.com/passonline>
30. Crowell P.L., Elson C.E., Bailey H.H., Elegbede A., Haag J.D., Gould M.N. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 1994, vol. 35, pp. 3–31.
31. Pletjushkina O.Yu., Lyamzaev K.G., Izyumov D.S., Bakeeva L.E., Saprunova L.V., Chernyak B.V., Skulachev V.P. *29th Meeting of the Federation of the European Biochemical Societies*, Warsaw, 2004, 56 p.
32. Yevseyeva M.A., Pravdivtsev V.A., Yevseyev A.V., Sosin D.V. *Vestnik Smolenskoy meditsinskoy akademii*, 2003, no. 3, pp. 12–15. (in Russ.).

Received January 22, 2020

Revised September 23, 2020

Accepted September 28, 2020

For citing: Gulyayev D.K., Yakovleva Ye.I., Mashchenko P.S., Solodnikov S.Yu., Belonogova V.D. *Khimiya Ras-titel'nogo Syr'ya*, 2020, no. 4, pp. 273–280. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2020047321.