

# Исследование состава эфирного масла пихты сибирской шишек, острой токсичности и антирадикальной активности их водного извлечения

**Гуляев Д. К.**

*к.ф.н., доцент, кафедра фармакогнозии*

**Мащенко П. С.**

*к.ф.н., доцент, кафедра токсикологической химии*

**Бояршинов В. Д.**

*ассистент, кафедра фармакологии*

**Белоногова В. Д.**

*д.ф.н., заведующий, кафедра фармакогнозии*

**Петров Р. С.**

*студент 3 курса*

*ФГБОУ ВО Пермская государственная фармацевтическая академия, г. Пермь, Российская Федерация*

**Автор для корреспонденции:** Гуляев Дмитрий Константинович; **e-mail:** dkg2014@mail.ru.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

В результате лесозаготовок на вырубках остается большое количество древесных отходов. Одним из таких объектов являются пихты сибирской шишки, которые могут быть использованы в медицине. **Цель.** Определение содержания и компонентного состава эфирного масла пихты сибирской шишек, а также острой токсичности и антирадикальной активности их водного извлечения. **Материалы и методы исследования.** В качестве объекта исследования использовали пихты сибирской шишки, заготовленные в августе 2022 года. Определение содержания эфирного масла проводили с помощью аппарата Клевенджера. Определение компонентного состава эфирного масла проводили на газовом хроматографе Agilent 7890A с масс-спектрометром Agilent 5975C. Из шишек готовили настой и определяли острую токсичность, путем перорального введения настоя мышам. Для определения антирадикальной активности водного извлечения использовали реакцию со стабильным свободным радикалом 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилом. **Результаты исследования и их обсуждение.** В результате исследования установлено, что в эфирном масле пихты сибирской шишек преобладают монотерпены. Основным компонентом эфирного масла является борнил ацетат. Разработаны оптимальные условия для оценки качества шишек по содержанию эфирного масла. Содержание эфирного масла в пихты сибирской шишках составляет  $1,16 \pm 0,02\%$ . Далее был приготовлен настой и установлено, что пероральное введение настоя пихты сибирской шишек в дозе 2000 мг/кг и 2500 мг/кг не привело к гибели животных в течение двух недель наблюдения. Настой обладает выраженной антирадикальной активностью, что доказано при сравнении активности с действием известных антиоксидантов – рутина и гиперозида. **Заключение.** По результатам исследования установлен компонентный состав и оптимальные условия определения содержания эфирного масла пихты сибирской шишек. Установлено, что настой пихты сибирской шишек не вызывает гибели животных при введении больших доз и обладает выраженной антирадикальной активностью. Полученные данные позволяют рассматривать пихты сибирской шишки в качестве перспективного вида лекарственного растительного сырья.

**Ключевые слова:** Пихта сибирская, шишки, эфирное масло, настой, острая токсичность, антирадикальная активность

doi: 10.29234/2308-9113-2023-11-3-54-65

**Для цитирования:** Гуляев Д. К., Машенко П. С., Бояршинов В. Д., Белоногова В. Д., Петров Р. С. Исследование состава эфирного масла пихты сибирской шишек, острой токсичности и антирадикальной активности их водного извлечения. *Медицина* 2023; 11(3): 54-65

## Введение

Пихта сибирская – *Abies sibirica* (Ledeb.) семейства *Pinaceae* является широко распространенным древесным растением на территории Российской Федерации. Ареал пихты сибирской простирается от северо-восточных районов Европейской части России до хребта Хамар-Дабан в Бурятии [6]. Пихта сибирская является источником древесины и используется в качестве сырья для деревообрабатывающей промышленности. В результате лесозаготовок остается огромное количество древесных отходов, которые в дальнейшем не используются. Древесные отходы включают кору, древесную зелень, корневую систему, шишки.

Шишки хвойных деревьев являются источником биологически активных веществ. Шишки хвойных растений богаты такими группами веществ как: стильбены, процианидины, флавоноиды, полифенолы, полисахариды [9,12,18,22]. Также имеются результаты, подтверждающие высокую фармакологическую активность извлечений шишек хвойных растений [2,11,13,14,15,21]. Учитывая богатый состав шишек близких видов хвойных растений, в качестве объекта исследования среди сырьевых остатков лесозаготовок были выбраны шишки пихты сибирской.

Одной из основных групп биологически активных веществ в шишках хвойных растений являются эфирные масла [1,7,8,17,19]. Представляло интерес получить образцы эфирного масла пихты сибирской шишек и исследовать его компонентный состав с помощью газожидкостной хроматографии. Важным вопросом при стандартизации сырья будет являться содержание эфирного масла. С этой целью необходимо определить оптимальные условия для определения содержания эфирного масла в пихты сибирской шишках и установить значение содержания, которое можно использовать для оценки качества сырья.

Извлечения и экстракты хвойных растений обладают выраженной антиоксидантной активностью, за счет содержания полифенолов и других групп веществ [10,11,12,14,16,18,20,22]. Экстракты шишек некоторых видов из рода *Abies* проявляют выраженную антиоксидантную активность. Так экстракты, полученные из шишек пихты корейской (*Abies koreana*) обладают выраженной антирадикальной активностью, на моделях связывания радикала ABTS (2,2-азинобис-(3-этилбензотиазолин-6-сульфонат)) и DPPH (2,2-дифенил-1-пикрилгидразил) [14]. Поэтому, оценить антирадикальную активность водного извлечения пихты сибирской шишек являлось важной задачей

исследования. Это даст возможность оценить потенциал данного сырья как источника биологически активных веществ.

Целью является определение содержания и компонентного состава эфирного масла пихты сибирской шишек, а также острой токсичности и антирадикальной активности их водного извлечения.

## Материалы и методы исследования

В качестве объектов исследования использовали образцы пихты сибирской шишек, заготовленных в конце августа 2022 года на территории Ильинского района Пермского края. Сбор шишек проводили с деревьев в возрасте 50-80 лет, в темновойном лесу. Заготовленные шишки высушивали воздушно-теневым способом. Перед исследованием проба усреднялась методом квартования.

Определение содержания эфирного масла проводили по методу 2 Государственной Фармакопеи Российской Федерации XIV издания с помощью аппарата Клевенджера [5]. Эфирное масло получали гидродистилляцией измельченных образцов шишек пихты сибирской с помощью аппарата Клевенджера. Навеску сырья массой 15 грамм с влажностью около 7% помещали в круглодонную колбу и проводили гидродистилляцию в течении одного часа и четырех часов. Для хроматографического исследования эфирное масло отбирали из приемника одноразовым шприцем и запаивали в ампулы.

Хроматографирование проводилось в следующих условиях: газовый хроматограф Agilent 7890A с масс-спектрометром Agilent 5975C; колонка неполярная HP-5ms (30 м, 0,25 мм, 0,25 мкм); ионизация осуществлялась методом электронного удара; скорость потока газа-носителя (гелий) 1 мл/мин.; объем вводимой пробы 1 мкл, деление потока 1/30; температура испарителя 280°C; температура колонки программируемая: 2 мин. 100°C, затем со скоростью 20°C/мин поднималась до 290°C и выдерживалась 25 мин.; регистрацию масс-спектров проводили по полному ионному току, сканируемый диапазон масс 40-450 m/z. Идентификацию компонентного состава проводили путем сравнения полученных на хроматограммах масс-спектров с библиотечными масс-спектрами путем автоматического поиска с использованием литературных данных (для идентификации изомеров); используемая библиотека – NIST11.

Настой пихты сибирской шишек готовили в соответствии требованиями ОФС 1.4.1.0018.15. «Настои и отвары» Государственной Фармакопеи Российской Федерации XIV издания [4].

Исследование острой токсичности настоя пихты сибирской шишек проводили на белых беспородных животных: мышах массой 20 – 22 г, которых содержали в стандартных условиях вивария в соответствии с требованиями Приказа Минздравсоцразвития России от

23 августа 2010 г. № 708н «Об утверждении правил лабораторной практики» и «Правилам Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и научных целей» (Страсбург, 1986). Все исследования проводили в утренние часы.

Оценку острой токсичности осуществляли в соответствии с ГОСТ 32644 – 2014. Для проведения исследования мышей делили на 2 группы в каждой по 6 самцов и 6 самок. Апробируемый настой вводили перорально в дозе 2000 и 2500 мг/кг (в пересчёте на сухой остаток). Общая продолжительность наблюдения за животными составляла 14 дней. Регулярно фиксировались показатели, характеризующие токсическое действие.

Для определения антирадикальной активности водного извлечения использовали реакцию со стабильным свободным радикалом 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилом (DPPH) (Sigma-Aldrich, США, CAS номер: 1898-66-4). К 1 мл разведения настоя пихты сибирской шишек добавляли 3 мл раствора DPPH в 95% спирте этиловом с концентрацией 5 мг/100 мл. В качестве контрольного образца измеряли оптическую плотность 3 мл раствора DPPH в 95% спирте этиловом с концентрацией 5 мг/100 мл и 1 мл воды очищенной. Измерение проводили на спектрофотометре марки СФ 2000 при 517 нм, в кювете с толщиной слоя 10 мм. Далее вычисляли антирадикальную активность, поглощение свободного радикала по формуле:

$$\% \text{ связывания радикала DPPH} = \frac{A_0 - A_x}{A_0} \times 100, \text{ где}$$

$A_0$  – оптическая плотность контрольного образца при 517 нм;

$A_x$  – оптическая плотность исследуемого образца при 517 нм.

Определяли величину  $IC_{50}$  – концентрацию вещества, в пересчете на сухой остаток настоя, способную связать половинную концентрацию радикала DPPH, мкг/мл. Величина  $IC_{50}$  определяется по кривой ингибирования, получаемой при построении графиков ингибирования в процентах от концентрации вещества.

## Результаты и их обсуждение

Нами были получены образцы эфирного масла пихты сибирской шишек. Перегонку эфирного масла проводили в течение 1 часа и 4 часов для того, чтобы определить компоненты, которые оказываются в легколетучей фракции эфирного масла, а по истечении 4 часов перегоняются все компоненты, входящие в состав эфирного масла.

Такой подход к исследованию позволяет оценить, как меняется соотношение компонентов при перегонке эфирного масла. Кроме того, это способствует увеличению количества идентифицированных компонентов, поскольку в процессе перегонки происходит контакт с

водой, кислородом воздуха, что может привести к изменению первичной структуры веществ. Результаты исследования на газовом хроматографе с масс-селективным детектором представлены в табл. 1.

Таблица 1. Состав эфирного масла пихты сибирской шишек

№	Компонент	Время (RT), мин	Молекулярная формула (молекулярная масса)	Содержание, % от суммы компонентов	
				Перегонка 1 час	Перегонка 4 часа
<b>Монотерпены</b>					
1	Космен	2,72	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> (134,22)	0,32	0,37
2	α-Пинен	2,77	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> (136,23)	3,38	4,25
3	о-Цимен	2,85	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> (136,22)	-	1,06
4	п-Цимен	2,86	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> (136,22)	1,02	-
5	β-Фелландрен	2,92	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> (136,23)	6,85	8,72
6	γ-Терпинен	3,12	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> (136,23)	0,12	-
7	α-Терпинолен	3,36	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> (136,23)	-	1,45
8	2,2,3-триметилциклопент-3-ен-карбальдегид	3,68	C <sub>9</sub> H <sub>14</sub> O (138,21)	2,97	-
9	Борнеол	4,04	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O (154,25)	2,89	2,7
10	Миртенал	4,28	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O (150,22)	6,12	3,85
11	(1S)-4,6,6-триметилбицикло [3,1,1]гепт-3-ен-2-он	4,39	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O (150,22)	3,94	1,75
12	Борнил ацетат	4,98	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub> (196,29)	20,66	28,74
<b>Сесквитерпены</b>					
13	10s,11s-Гимачала-3(12)-4-диен	5,06	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> (204,35)	0,1	-
14	Ди-эпи-α-цедрен	5,54	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> (204,35)	0,14	-
15	Иланген	5,67	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> (204,35)	0,19	-
16	Лонгифолен	5,96	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> (204,35)	-	1,06
17	Кариофиллен	6,04	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> (204,35)	2,51	5,33
18	Аристолен	6,16	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> (204,35)	-	1,2
19	Циклоизосативен	6,17	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> (204,35)	0,7	-
20	α-Кариофиллен	6,28	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> (204,35)	1,62	3,32

21	α-Элемен	6,47	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> (204,35)	0,83	1,12
22	α-Лонгипинен	6,59	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> (204,35)	-	0,38
23	Кариофиллен оксид	7,138	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O (220,35)	0,8	-
24	α-Бисаболол	7,72	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O (222,37)	-	2,65
<b>Дитерпены</b>					
25	4b,5,6,7,8,8 а,9,10-октагидро-4b,8-диметил-2-изопропилфенантрен	9,31	C <sub>19</sub> H <sub>28</sub> (256,43)	1,98	0,31
26	4b,5,6,7,8,8 а,9,10-октагидро-4b,8-диметил-2-изопропилфенантрен	9,5	C <sub>19</sub> H <sub>28</sub> (256,43)	3,69	0,58
27	[3S (3а.,4а.,6а.,10а.,10b.)]- 3-этилендодекагидро-3,4а,7,7,10а-пентаметил-1Н-нафто[2,1-Ь] пиран	9,41	C <sub>20</sub> H <sub>34</sub> O (290,5)	-	1,5
28	Дегидроабиетан	9,69	C <sub>20</sub> H <sub>30</sub> (270,5)	1,33	-
Итого, количество компонентов:				21	19

В результате исследования установлено, что в эфирном масле пихты сибирской шишек, полученном при перегонке в течении часа и четырех часов среди идентифицированных веществ преобладают монотерпены. В эфирном масле пихты сибирской шишек идентифицировано 28 компонентов, относящихся к моно и сесквитерпенам. При перегонке в течении 1 часа в эфирном масле идентифицирован 21 компонент, большая часть из которых относится к монотерпенам. Основным компонентом эфирного масла, полученного перегонкой в течение часа, является борнил ацетат, также в значительном количестве содержатся β-фелландрен, миртенал.

В эфирном масле пихты сибирской шишек, полученном перегонкой в течении 4 часов, основным компонентом является борнил ацетат, его доля увеличивается в эфирном масле по ходу перегонки. Кроме борнил ацетата основными компонентами можно считать β-фелландрен, α-пинен. При перегонке в течении 4 часов в эфирном масле увеличивается доля сесквитерпенов. Среди сесквитерпенов в наибольшем количестве содержится кариофиллен.

Учитывая богатый компонентный состав эфирного масла пихты сибирской шишек, необходимо было провести исследования по определению его содержания. С этой целью проведен подбор оптимальных условий перегонки для пихты сибирской шишек. Результаты исследования представлены в табл. 2.

Таблица 2. Подбор условий методики количественного определения эфирного масла для пихты сибирской шишек

Показатель	Значение	Содержание эфирного масла, % (x)
Измельченность	1 мм	0,87
	2 мм	1,17
	3 мм	1,14
	5 мм	0,43
Соотношение сырья и воды	1:10	1,09
	1:20	1,17
Время перегонки	60 минут	1,07
	90 минут	1,1
	120 минут	1,14
	180 минут	1,17
	240 минут	1,16

В результате проведенного исследования для определения содержания эфирного масла в пихты сибирской шишках можно рекомендовать навеску около 15 грамм, степень измельчения 2 мм, соотношение сырья и воды 1:20 и время перегонки ограничить 2 часами, поскольку дальнейшая перегонка не приводит к существенному увеличению содержания эфирного масла. По разработанной методике проведено определение содержания эфирного масла в пихты сибирской шишках. Содержание эфирного масла по результатам 5 определений составило  $1,16 \pm 0,02\%$ . Это позволяет использовать данный показатель для оценки качества сырья, установив его значение на уровне не менее 1%.

В соответствии с требованиями государственной Фармакопеи Российской Федерации 14 издания ОФС «Настои и отвары», из лекарственного растительного сырья, содержащего эфирные масла, рекомендовано готовить настои. Это подтверждают и результаты исследования компонентного состава, поскольку в эфирном масле пихты сибирской шишек преобладает легколетучая монотерпеновая фракция. Для определения перспективности использования в медицинской практике настоя пихты сибирской шишек необходима информация не только о химическом составе, но и безопасности его применения. Поэтому, следующим этапом исследования являлось определение острой токсичности.

Пероральное введение настоя пихты сибирской шишек в дозе 2000 мг/кг и 2500 мг/кг не привело к гибели животных в течение двух недель наблюдения. После введения настоя наблюдали снижение двигательной активности, седацию, пиелоэрекцию и учащение дыхания. Нормализацию состояния животных наблюдали спустя сутки. За период наблюдения не отмечено достоверного изменения массы тела. Опытные группы самцов и самок не имели значимых отличий в проявлении токсических эффектов.

После оценки острой токсичности настоя, представляло интерес определить его антирадикальную активность и сравнить её уровень с действием известных



антиоксидантов. Это позволит оценить перспективность использования настоя, поскольку существует большое количество исследований, которые доказывают положительное влияние антиоксидантов на течение многих современных заболеваний [3]. Результаты исследования представлены в табл. 3.

*Таблица 3. Определение антирадикальной активности настоя пихты сибирской шишек*

Образец	Антирадикальная активность, IC <sub>50</sub> , мкг/мл
Настой шишек пихты	3,64±0,3
Настой шишек сосны	46,68±12,35
Гиперозид (Sigma-Aldrich)	10,6±0,32
Рутин (Phytolab)	12,44±0,21

В результате исследования установлено, что настой пихты сибирской шишек обладает наибольшей антирадикальной активностью в сравнении с настоем сосны обыкновенной шишек. Антирадикальная активность настоя пихты сибирской шишек в пересчете на сухой остаток оказалась выше, чем у препаратов сравнения, в качестве которых выступали стандартные образцы флавоноидов (гиперозид и рутин). Высокая антирадикальная активность настоя позволяет предположить и высокую гепатопротекторную активность, поскольку эти виды активности связаны между собой.

## Заключение

В результате исследования установлено, что в эфирном масле пихты сибирской шишек идентифицировано 28 веществ. В эфирном масле преобладают монотерпены, а основным компонентом является борнил ацетат. Подобраны оптимальные условия определения содержания эфирного масла в пихты сибирской шишках, содержание составило около 1,16%. Установлен показатель оценки качества пихты сибирской шишек по содержанию эфирного масла не менее 1%. Результаты определения острой токсичности настоя пихты сибирской шишек позволяют отнести его к классу малотоксичных веществ с ЛД<sub>50</sub> более 2500 мг/кг. Это говорит о безопасности его применения. Настой пихты сибирской шишек обладает выраженной антирадикальной активностью. Полученные данные позволяют рассматривать пихты сибирской шишки в качестве перспективного вида лекарственного растительного сырья.

## Литература

1. Гуляев Д.К., Машенко П.С., Белоногова В.Д., Леханова А.С. Состав эфирного масла и антирадикальная активность сосны обыкновенной шишек, заготовленных в Пермском крае. *Медико-фармацевтический журнал «Пульс»* 2022; 24(7): 45-50, doi: 10.26787/nydha-2686-6838-2022-24-7
2. Гуляев Д.К., Суменкова А.М., Белоногова В.Д., Рудакова И.П., Курицын А.В. Сорбционная активность полисахаридов древесной зелени и шишек сосны обыкновенной *Вестник Смоленской государственной медицинской академии* 2020; 19(3): 208-213, doi: 10.37903/vsgma.2020.3.29



3. Меньщикова Е.Б. Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты. М.: Слово, 2006. 210 с.
4. ОФС 1.4.1.0018.15. «Настои и отвары». Государственная Фармакопея Российской Федерации. 14 издание. Том 2. 2018. [Электронный ресурс]. *Режим доступа:* [http://resource.rucml.ru/feml/pharmacopia/14\\_2/HTML/569/index.html](http://resource.rucml.ru/feml/pharmacopia/14_2/HTML/569/index.html) (дата обращения: 24.05.2023)
5. ОФС.1.5.3.0010.15. Определение содержания эфирного масла в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах. Государственная фармакопея Российской Федерации. 14 издание. Том 2. 2018. [Электронный ресурс]. *Режим доступа:* [http://resource.rucml.ru/feml/pharmacopia/14\\_2/HTML/569/index.html](http://resource.rucml.ru/feml/pharmacopia/14_2/HTML/569/index.html) (дата обращения: 24.05.2023)
6. Растительные ресурсы России: Компонентный состав и биологическая активность растений. Том 7. М.: Товарищество научных изданий КМК, 2016. 333 с.
7. Ashmawy N.A., Al Farraj D., Salem M.Z., Elshikh M.S., Al-Kufaidyv R., Alshammari M.K., Salem A.Z. Potential impacts of *Pinus halepensis* Miller trees as a source of phytochemical compounds: antibacterial activity of the cones essential oil and n-butanol extract. *Agroforestry Systems* 2018; 94(22): 1403-1413, *doi:* 10.1007/s10457-018-0324-5
8. Basholli-Saliu M., Schuster R., Hajdari A., Mulla D., Viernstein H., Mustafa B., Muellera M. Phytochemical composition, anti-inflammatory activity and cytotoxic effects of essential oils from three *Pinus spp.* *Pharmaceutical biology* 2017; 55(1): 1553-1560, *doi:* 10.1080/13880209.2017.1309555
9. Diao Y., Chen B., Wei L., Wang Z. Polyphenols (S3) isolated from cone scales of *Pinus koraiensis* alleviate decreased bone formation in rat under simulated microgravity. *Scientific reports* 2018; (8): 12719-12732, *doi:* 10.1038/s41598-018-30992-8
10. Diouf P.N., Stevanovic T., Cloutier A. Study on chemical composition, antioxidant and anti-inflammatory activities of hot water extract from *Picea mariana* bark and its proanthocyanidin-rich fractions. *Food Chemistry* 2009; 113(4): 897-902, *doi:* 10.1016/j.foodchem.2008.08.016
11. Hofman T., Visi-Rajczi E., Bocz B., Bocz D., Levente A. Antioxidant capacity and tentative identification of polyphenolic compounds of cones of selected coniferous species. *Acta Silvatica et Lignaria Hungarica* 2020; 16(2): 79-94, *doi:* 10.37045/aslh-2020-0006
12. Hofman T., Visi-Rajczi E., Levente A. Antioxidant properties assessment of the cones of conifers through the combined evaluation of multiple antioxidant assays. *Industrial Crops and Products* 2019; 145(3): 111935, *doi:* 10.1016/j.indcrop.2019.111935
13. Hofman T., Levente A., Nemeth L., Vrsanska M., Schlosserova N., Vobercova S., Visi-Rajczi E. Antioxidant and antibacterial properties of Norway Spruce (*Picea abies* H. Karst.) and Eastern hemlock (*Tsuga canadensis* (L.) Carrière) cone extracts. *Forests* 2021; 12(9): 1189-1211, *doi:* 10.3390/f12091189
14. Latos-Brozio M., Masek A., Chrzescijanska E., Podsedek A., Kajszyk D. Characteristics of the polyphenolic profile and antioxidant activity of cone extracts from conifers determined using electrochemical and spectrophotometric methods. *Antioxidants* 2021; 10(11): 1723-1737, *doi:* 10.3390/antiox10111723
15. Lee A.R., Roh S.S., Lee E.S., Min Y.H. Anti-oxidant and anti-melanogenic activity of the methanol extract of Pine cone. *Asian Journal Beauty Cosmetology* 2016; 14(3): 301-308, *doi:* 10.20402/ajbc.2016.0055
16. Legault J., Girard-Lalancette K., Dufour D., Pichette A. Antioxidant potential of bark extracts from boreal forest conifers. *Antioxidants* 2013; 2(3): 77-89, *doi:* 10.3390/antiox2030077
17. Lis A., Kalinowska A., Krajewska A., Mellor K. Chemical composition of the essential oils from different morphological parts of *Pinus cembra* L. *Chemistry & Biodiversity* 2017; 14(4): e1600345, *doi:* 10.1002/cbdv.201600345

18. Lu Wang, Xiaoyu Li, Hongchao Wang. Physicochemical properties, bioaccessibility and antioxidant activity of the polyphenols from pine cones of *Pinus koraiensis*. *International journal of biological macromolecules* 2019; 126: 385-391, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.12.145
19. Nam A.M., Casanova J., Tomi F., Bighelli A. Composition and chemical variability of Corsican *Pinus Halepensis* cone oil. *Natural product communications* 2014; 9(9): 1361-1364, doi: 10.1177/1934578X1400900935
20. Tumen I., Akkol E.K., Tastan H., Suntar I., Kurtca M. Research on the antioxidant, wound healing, and anti-inflammatory activities and the phytochemical composition of maritime Pine (*Pinus pinaster* Ait). *Journal of Ethnopharmacology* 2017; 30(211): 235-246, doi: 10.1016/j.jep.2017.09.009
21. Wang L., Li X., Wang H. Physicochemical properties, bioaccessibility and antioxidant activity of the polyphenols from pine cones of *Pinus Koraiensis*. *International Journal of Biological Macromolecules* 2019; 126: 385-391, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.12.145
22. Xu R.B., Yang X., Wang J., Zhao H.T., Lu W.H., Cui J., Cheng C.L., Zou P., Huang W.W., Wang P., Li W.J., Hu X.L. Chemical composition and antioxidant activities of three polysaccharide fractions from pine cones. *International Journal of Molecular Sciences* 2012; 13(11): 14262-14277, doi: 10.3390/ijms131114262

## Study of the composition of the essential oil of Siberian fir cones, acute toxicity and antiradical activity of their aqueous extraction

**Gulyaev D. K.**

*PhD (Pharmaceutical Sciences), Assistant Professor, Chair for Pharmacognosy*

**Mashchenko P. S.**

*PhD (Pharmaceutical Sciences), Assistant Professor, Chair for Toxicological Chemistry*

**Boyarshinov V. D.**

*Assistant, Chair for Pharmacology*

**Belonogova V. D.**

*Doctor of Pharmaceutical Sciences, Head, Chair for Pharmacognosy*

**Petrov R. S.**

*3<sup>rd</sup> Year Student*

*Perm State Pharmaceutical Academy, Perm, Russian Federation*

**Corresponding Author:** Gulyaev Dmitry; **e-mail:** dkg2014@mail.ru

**Conflict of interests:** None declared

**Funding.** The study had no sponsorship.

### Abstract

**Background:** Logging results in big amount of wood waste, including Siberian fir cones, which can be used in medicine. **Aim of the study:** Determination of the content and component composition of the essential oil of Siberian fir cones, as well as acute toxicity and antiradical activity of their aqueous extract. **Materials and methods:** As the object of exploration was used Siberian fir cones, procured in August 2022. Content study of essential oil was carried out by Clevenger apparatus. Study of the component composition was carried out with gas chromatograph Agilent 7890A with mass spectrometer Agilent 5975C. The infusion was prepared from cones, acute toxicity was determined by oral administration of an infusion to mice. For determination of the antiradical activity, we used reaction with the stable free radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl. **Results and discussion:** The study revealed that the dominant constituents of the essential oil of Siberian fir cones are monoterpenes. The main component of essential oil is bornyl acetate. Optimal conditions have been developed for assessing the quality of cones according to the content of essential oil. The content of essential oil of Siberian fir is 1,16±0,02%. Next, the infusion of Siberian fir cones was prepared and it was found that oral administration of the infusion at a dose of 2000 mg/kg and 2500

mg/kg did not lead to the death of rodents during two weeks of observation. The infusion has a pronounced antiradical activity, which was proved by comparing the activity with the action of well-known antioxidants - rutin and hyperoside. **Conclusion:** The research resulted in the establishment of component composition and optimal conditions for determination of content of essential oil in Siberian fir. It has been established that an infusion of Siberian fir cones does not cause death of rodents when administered in large doses and has a pronounced antiradical activity. The data obtained allow us to consider Siberian cone fir as a promising type of medicinal plant material.

**Keywords:** Siberian fir, cones, essential oil, infusion, acute toxicity, antiradical toxicity

## References

1. Guljaev D.K., Mashhenko P.S., Belonogova V.D., Lehanova A.S. Sostav jefirnogo masla i antiradikal'naja aktivnost' sosny obyknovennoj shishek, zagotovlennyh v Permskom krae. [The composition of essential oil and the antiradical activity of pine cones harvested in the Perm region]. *Mediko-farmaceuticheskiy zhurnal «Pul's» [Medical and pharmaceutical magazine "Pulse"]* 2022; 24(7): 45-50, doi: 10.26787/nydha-2686-6838-2022-24-7 (In Russ.)
2. Guljaev D.K., Sumenkova A.M., Belonogova V.D., Rudakova I.P., Kuricyn A.V. Sorbcionnaja aktivnost' polisaharidov drevesnoj zeleni i shishek sosny obyknovennoj. [Sorption activity of polysaccharides of woody greens and cones of scots pine]. *Vestnik Smolenskoj gosudarstvennoj medicinskoj akademii [Bulletin of the Smolensk State Medical Academy]* 2020; 19(3): 208-213, doi: 10.37903/vsgma.2020.3.29 (In Russ.)
3. Men'shchikova E.B. Okislitel'nyj stress. Prooksidanty i antioksidanty. [Oxidative stress. Pro-oxidants and antioxidants]. Moscow: Slovo, 2006. (In Russ.)
4. OFS 1.4.1.0018.15. «Nastoi i otvary». Gosudarstvennaja Farmakopeja Rossijskoj Federacii. 14 izdanie. Tom 2. [OFS 1.4.1.0018.15. "Infusions and decoctions". The State Pharmacopoeia of the Russian Federation. 14th edition. Volume 2.] 2018. Available at: [http://resource.rucml.ru/feml/pharmacopia/14\\_2/HTML/569/index.html](http://resource.rucml.ru/feml/pharmacopia/14_2/HTML/569/index.html) Accessed: 24.05.2023. (In Russ.)
5. OFS.1.5.3.0010.15. Opređenje soderžanija jefirnogo masla v lekarstvennom rastitel'nom syr'e i lekarstvennyh rastitel'nyh preparatah. Gosudarstvennaja farmakopeja Rossijskoj Federacii. 14 izdanie. Tom 2. [OFS.1.5.3.0010.15. Determination of the essential oil content in medicinal plant raw materials and medicinal plant preparations. The State Pharmacopoeia of the Russian Federation. 14th edition. Volume 2.] 2018. Available at: [http://resource.rucml.ru/feml/pharmacopia/14\\_2/HTML/569/index.html](http://resource.rucml.ru/feml/pharmacopia/14_2/HTML/569/index.html) Accessed: 24.05.2023. (In Russ.)
6. Rastitel'nye resursy Rossii: Komponentnyj sostav i biologičeskaja aktivnost' rastenij. Tom 7. [Plant resources of Russia: Component composition and biological activity of 'plants. Vol. 7.] Moscow: Tovarishhestvo nauchnyh izdanij KMK. 2016. (In Russ.)
7. Ashmawy N.A., Al Farraj D., Salem M.Z., Elshikh M.S., Al-Kufaidy R., Alshammari M.K., Salem A.Z. Potential impacts of *Pinus halepensis* Miller trees as a source of phytochemical compounds: antibacterial activity of the cones essential oil and n-butanol extract. *Agroforestry Systems* 2018; 94(22): 1403-1413, doi: 10.1007/s10457-018-0324-5
8. Basholli-Salihi M., Schuster R., Hajdari A., Mulla D., Viernstein H., Mustafa B., Muellera M. Phytochemical composition, anti-inflammatory activity and cytotoxic effects of essential oils from three *Pinus spp.* *Pharmaceutical biology* 2017; 55(1): 1553-1560, doi: 10.1080/13880209.2017.1309555
9. Diao Y., Chen B., Wei L., Wang Z. Polyphenols (S3) isolated from cone scales of *Pinus koraiensis* alleviate decreased bone formation in rat under simulated microgravity. *Scientific reports* 2018; (8): 12719-12732, doi: 10.1038/s41598-018-30992-8

10. Diouf P.N., Stevanovic T., Cloutier A. Study on chemical composition, antioxidant and anti-inflammatory activities of hot water extract from *Picea mariana* bark and its proanthocyanidin-rich fractions. *Food Chemistry* 2009; 113(4): 897-902, doi: 10.1016/j.foodchem.2008.08.016
11. Hofman T., Visi-Rajczi E., Bocz B., Bocz D., Levente A. Antioxidant capacity and tentative identification of polyphenolic compounds of cones of selected coniferous species. *Acta Silvatica et Lignaria Hungarica* 2020; 16(2): 79-94, doi: 10.37045/aslh-2020-0006
12. Hofman T., Visi-Rajczi E., Levente A. Antioxidant properties assessment of the cones of conifers through the combined evaluation of multiple antioxidant assays. *Industrial Crops and Products* 2019; 145(3): 111935, doi: 10.1016/j.indcrop.2019.111935
13. Hofman T., Levente A., Nemeth L., Vrsanska M., Schlosserova N., Vobercova S., Visi-Rajczi E. Antioxidant and antibacterial properties of Norway Spruce (*Picea abies* H. Karst.) and Eastern hemlock (*Tsuga canadensis* (L.) Carrière) cone extracts. *Forests* 2021; 12(9): 1189-1211, doi: 10.3390/f12091189
14. Latos-Brozio M., Masek A., Chrzescijanska E., Podsedek A., Kajszczak D. Characteristics of the polyphenolic profile and antioxidant activity of cone extracts from conifers determined using electrochemical and spectrophotometric methods. *Antioxidants* 2021; 10(11): 1723-1737, doi: 10.3390/antiox10111723
15. Lee A.R., Roh S.S., Lee E.S., Min Y.H. Anti-oxidant and anti-melanogenic activity of the methanol extract of Pine cone. *Asian Journal Beauty Cosmetology* 2016; 14(3): 301-308, doi: 10.20402/ajbc.2016.0055
16. Legault J., Girard-Lalancette K., Dufour D., Pichette A. Antioxidant potential of bark extracts from boreal forest conifers. *Antioxidants* 2013; 2(3): 77-89. doi: 10.3390/antiox2030077
17. Lis A., Kalinowska A., Krajewska A., Mellor K. Chemical composition of the essential oils from different morphological parts of *Pinus cembra* L. *Chemistry & Biodiversity* 2017; 14(4): e1600345, doi: 10.1002/cbdv.201600345
18. Lu Wang, Xiaoyu Li, Hongchao Wang. Physicochemical properties, bioaccessibility and antioxidant activity of the polyphenols from pine cones of *Pinus koraiensis*. *International journal of biological macromolecules* 2019; 126: 385-391, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.12.145
19. Nam A.M., Casanova J., Tomi F., Bighelli A. Composition and chemical variability of Corsican *Pinus Halepensis* cone oil. *Natural product communications* 2014; 9(9): 1361-1364, doi: 10.1177/1934578X1400900935
20. Tumen I., Akkol E.K., Tastan H., Suntar I., Kurtca M. Research on the antioxidant, wound healing, and anti-inflammatory activities and the phytochemical composition of maritime Pine (*Pinus pinaster* Ait). *Journal of Ethnopharmacology* 2017; 30(211): 235-246. doi: 10.1016/j.jep.2017.09.009
21. Wang L., Li X., Wang H. Physicochemical properties, bioaccessibility and antioxidant activity of the polyphenols from pine cones of *Pinus Koraiensis*. *International Journal of Biological Macromolecules* 2019; 126: 385-391, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.12.145
22. Xu R.B., Yang X., Wang J., Zhao H.T., Lu W.H., Cui J., Cheng C.L., Zou P., Huang W.W., Wang P., Li W.J., Hu X.L. Chemical composition and antioxidant activities of three polysaccharide fractions from pine cones. *International Journal of Molecular Sciences* 2012; 13(11): 14262-14277, doi: 10.3390/ijms131114262