

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Сибирский государственный медицинский
университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Кафедра фармацевтического анализа

ОТЧЕТ ПО НАУЧНО-КВАЛИФИКАЦИОННОЙ РАБОТЕ

**Химическая характеристика и стандартизация полисахаридов
Saussurea salicifolia L., *Saussurea controversa* DC. и *Saussurea frolovii* Ledeb.,
обладающих иммуностропной активностью**

33.06.01 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

Выполнил:
аспирант кафедры
фармацевтического анализа
Гулина Екатерина Игоревна

Научный руководитель:
д-р. фарм. наук,
профессор, зав. кафедры
фармацевтического анализа
Белоусов Михаил Валерьевич

Научный консультант:
д-р. биол. наук,
зав. отделом ЭБМ НИИФиРМ
им. Е.Д. Гольдбега ТНИМЦ
Данилец Марина Григорьевна

Актуальность проблемы.

Нарушение работы иммунной системы, включающее аутоиммунные, хронические, вялотекущие инфекционные и онкологические заболевания, зачастую связаны с недостаточностью Th1-зависимого типа иммунного ответа и на сегодняшний день стали распространенной патологией (Сепиашвили, Р.И. 2016). Для избирательного действия на пораженное звено иммунной системы используют лекарственные препараты, мишенью для которых являются макрофаги (Пинегин Б.В. 2019). Несмотря на прогресс в современной медицине, лекарственные препараты растительного происхождения по-прежнему имеют широкий спектр применения, поскольку они обладают меньшим числом побочных эффектов, нетоксичны и биосовместимы (Wen, Chen, и Yang 2012; Di Sotto, Vitalone, и Di Giacomo 2020).

В ходе многочисленных исследований биологической активности полисахаридов было установлено, что для данной группы присущ разнообразный спектр, среди которого особое внимание привлекает воздействие на иммунную систему (Shi 2016; Marrelli 2021; Sindhu и др. 2021; Di Sotto, Vitalone, и Di Giacomo 2020; Barbosa и de Carvalho Junior 2021; Xie и др. 2016). Механизм этого действия заключается в способности ПС непосредственно взаимодействовать с макрофагами, посредством связывания с рецепторами, в результате чего происходит стимуляция или подавление Th1-зависимого иммунного ответа, усиление фагоцитарной и цитотоксической активности, продукция активных форм кислорода и NO, секреция цитокинов (фактор некроза опухолей- α (ФНО- α), интерлейкин-1 β (ИЛ-1 β), ИЛ-6, ИЛ-12, ИЛ-10 и т. д.) (Yin, Zhang, и Li 2019; Li и др. 2022). Наряду с выраженной специфической активностью, ПС обладают низкой аллергенностью, мутагенностью, общей и специфической токсичностью и редкими побочными эффектами, что делает разработку новых высокоэффективных и безопасных иммуномодулирующих лекарственных средств перспективной и востребованной (Yin, Zhang, и Li 2019; Singh и др. 2021; Barbosa и de Carvalho Junior 2021).

Цель: на основании результатов сравнительного химико-фармакологического исследования водорастворимых полисахаридных комплексов растений рода *Saussurea* предложить способ получения водорастворимых полисахаридов, обладающих выраженной (эндотоксин-независимой) иммуномодулирующей активностью.

Задачи:

1. Выделить суммарные водорастворимые полисахаридные комплексы (СВРПСК) из растительного сырья *S. salicifolia*, *S. controversa* и *S. frolovii* и охарактеризовать их по содержанию урсоловых кислот, белка, молекулярно-массовому распределению и мономерному составу;
2. Провести сравнительное исследование влияния полученных СВРПСК на NO-продуцирующую активность и пролиферацию перитонеальных макрофагов мышей *in vitro*.
3. Изучить влияние факторов процесса экстракции (рН, температура) на химический состав и иммуномодулирующие свойства СВРПСК.
4. Обосновать выбор условий экстракции и перспективного объекта исследования на основе сравнительной химико-фармакологической характеристики СВРПСК, обладающих иммуномодулирующей активностью для дальнейшей его разработки в качестве нового лекарственного средства.

Выводы:

1. Последовательной экстракцией получены СВРПСК, отличающиеся мономерным составом, молекулярной массой, содержанием урсоловых кислот и примеси белка. Таким образом, условия экстракции определяют физико-химический состав и фармакологический эффект СВРПСК полученных из *S. controversa*, *S. salicifolia* и *S. frolovii*.
2. На основании сравнительного исследования, полученные СВРПСК, обладают разной степенью иммуномодулирующей активности, не проявляют цитотоксического эффекта (за исключением СВРПСК₁ SC), которые существенно усиливали NO-синтазную активность макрофагов. Образцы СВРПСК₁ SS, СВРПСК₂ SS и СВРПСК₁ SF не содержат примеси эндотоксина.
3. Изучено влияние рН и температуры экстракции СВРПСК из растительного сырья. Установлено, что наименьший выход для всех объектов наблюдается при рН=2 и температуре 25°C, при температуре 95°C получены образцы, содержание в своем составе наибольшее количество общих углеводов и урсоловых кислот. Все полученные образцы не проявляют цитотоксических свойств и обладают разной степенью иммуномодулирующей активности.
4. В результате проведенного исследования установлено, что условия: рН экстрагента – 2, температура экстракции - 95°C, позволяют получить СВРПСК с наибольшим содержанием целевых веществ и наименьшим содержанием примесей. СВРПСК, полученные из *Saussurea*

salicifolia не цитотоксичны независимо от температуры и кислотности экстрагента, стимулируют продукцию оксида азота в 3-35 раз, и дозозависимо усиливают NO-секретирующие свойства макрофагов.

Основное содержание научно-квалификационной работы представлено в работах:

1. Решетов, Я.Е. Полисахариды трех видов *Saussurea* DC (*S. controversa*, *S. salicifolia*, *S. frolovii*): выделение, характеристика и влияние на NO – продуцирующие свойства макрофагов / Я.Е. Решетов, А.А. Лигачева, Е.Ю. Авдеева, М.Г. Данилец, В.В. Головченко, Е.С. Трофимова, **Е.И. Гулина**, Е.Ю. Шерстобоев, А.М. Гурьев, К.И. Ровкина, С.В. Кривошеков, М.В. Белоусов // **Химия растительного сырья**. – 2019. – №4. – С.77-85.
2. Лигачева А.А. Иммунотропное влияние водорастворимых полисахаридов растений рода *Saussurea* на активность NO-синтазы перитонеальных макрофагов мышей / Лигачёва А. А., **Гулина Е. И.**, Шабанова Ю. В., Трофимова Е. С., Кривошеков С. В., Гуркин Н. В., Шурупова М. Н., Шерстобоев Е. Ю., Данилец М. Г., Белоусов М. В. // **Разработка и регистрация лекарственных средств**. – 2022. – 11(2):00–00.
3. **Гулина Е.И.** Количественное определение уроновых кислот и общих углеводов в полисахаридных комплексах, выделенных из *Saussurea salicifolia* L. / Е.И. Гулина, Ю.В. Шабанова, А.Н. Савельева // **Химия и химическая технология в XXI веке: XXIII Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых имени выдающихся химиков Л.П. Кулёва и Н.М. Кижнера. В 2 томах, Томск, 16–19 мая 2022 г. – Томск: Национальный исследовательский Томский политехнический университет, 2022. – С. 424-425.**
4. Шабанова Ю.В. Влияние водорастворимых полисахаридов, выделенных из *Saussurea frolovii* Ledeb. на пролиферацию макрофагов / Ю.В. Шабанова, **Е.И. Гулина** // **Химия и химическая технология в XXI веке: XXIII Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых имени выдающихся химиков Л.П. Кулёва и Н.М. Кижнера. В 2 томах, Томск, 16–19 мая 2022 г. – Томск: Национальный исследовательский Томский политехнический университет, 2022. – С. 460-461.**
5. Шабанова, Ю.В. Изучение влияния водорастворимых полисахаридов *Saussurea frolovii* Ledeb. на поляризацию перитонеальных макрофагов мышей / Ю. В. Шабанова, **Е.И. Гулина**, Н.В. Гуркин // **Химия и химическая технология в XXI веке: Материалы XXII Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых имени выдающихся химиков Л.П. Кулёва и Н.М. Кижнера, посвященной 125-летию со дня основания Томского политехнического университета. В 2-х томах, Томск, 17–20 мая 2021 года. – Томск: Национальный исследовательский Томский политехнический университет, 2021. – С. 378-379.**
6. **Гулина, Е.И.** Влияние pH экстракции на эффективность выделения и иммунотропную активность полисахаридного комплекса соссюреи фролова (*Saussurea Frolovii* Ledeb.) / **Е.И. Гулина**, Ю.В. Шабанова, Н.В. Гуркин // **Химия и химическая технология в XXI веке: Материалы XXII Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых имени выдающихся химиков Л.П. Кулёва и Н.М. Кижнера, посвященной 125-летию со дня основания Томского политехнического университета. В 2-х томах, Томск, 17–20 мая 2021 года. – Томск: Национальный исследовательский Томский политехнический университет, 2021. – С. 351-352.**
7. Лигачева А.А. Влияние способа экстракции водорастворимых полисахаридов растений рода *Saussurea* на активность NO-синтазы перитонеальных макрофагов мышей / А.А. Лигачева, Е.И. Гулина, Ю.В. Шабанова, Е.С. Трофимова, С.В. Кривошеков, Н.В. Гуркин, Е.Ю. Шерстобоев, М.Г. Данилец, М.В. Белоусов // **Разработка лекарственных средств – традиции и перспективы. Международная научно-практическая конференция, Томск, 13-16 сентября 2021 г. – Томск: Изд-во СибГМУ, 2021. – С. 222-224.**
8. Шабанова Ю.В. Поиск перспективных источников получения новых лекарственных средств с иммунотропной активностью на основе полисахаридных комплексов *Saussurea frolovii* Ledeb. / Е.Ю. Шабанова, Е.И. Гулина, Н.В. Гуркин // **Материалы Международного молодежного научного форума «ЛОМОНОСОВ-2021» / Отв. ред. И.А. Алешковский, А.В. Андриянов, Е.А. Антипов, Е.И. Зимакова. [Электронный ресурс] – М.: МАКС Пресс, 2021. – 1 электрон. опт. диск (DVD-ROM); 12 см. – 2000 экз.**