

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

© Коллектив авторов, 2012
УДК 615.322:547.458].015.4

**ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ
ПОЛИСАХАРИДА ЦВЕТКОВ ПИЖМЫ ОБЫКНОВЕННОЙ**

Е.Е. Кириченко, И.А. Сычев, Г.Ю. Чекулаева

Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова,
г. Рязань

Полисахаридный комплекс, выделенный из цветков пижмы обыкновенной, обладает сильным противовоспалительным действием, снижает лейкоцитоз, нормализует СОЭ, уменьшает отек тканей воспаленной конечности.

Ключевые слова: полисахаридный комплекс, пижма обыкновенная, противовоспалительная активность, отек, лейкоцитоз.

Воспаление является одним из самых распространенных патологических процессов, определяющих или сопровождающих течение заболеваний различной этиологии. В медицинской практике широко используются противовоспалительные средства, относящиеся к различным классам химических соединений. Имеющиеся данные об их эффективности и особенностях действия в эксперименте и клинике весьма разноречивы в связи с различными принципами и методами оценки соответствующих показателей [6,7].

Применение многих синтетических и природных (кортикостероиды) противовоспалительных средств вызывает побочные реакции со стороны желудочно-кишечного тракта при энтеральном применении (фенилбутазон, индометацин, салицилаты) [3], нередко наблюдается лейкопения, анемия, тромбоцитопения и склонность к кровотечениям, реже агранулоцитоз, отмечается нарушение водно-солевого обмена [5].

Полисахаридные препараты обладают противовоспалительным действием и не вызывают побочных эффектов со стороны желудочно-кишечного тракта [2], что определяет целесообразность дальнейшего поиска антифлогистиков полиса-

харидной природы, в том числе полисахаридов цветков пижмы обыкновенной.

Материалы и методы

Полисахарид выделяли из воздушно-сухих цветков пижмы, продающихся в аптечной сети. Предварительной экстракцией сырья 40% этанолом отделяли полифенольные соединения, а из шрота экстракцией оксалатом аммония в течение 1,5 часов на кипящей водяной бане извлекали полисахаридный комплекс, который осаждали избытком спирта этилового. Очищали спиртом этиловым, ацетоном и эфиром [1], получая аморфный порошок светло-серого цвета. Моносахаридный состав определили после кислотного гидролиза (в растворе кислоты серной 1М) методом нисходящей бумажной хроматографии (в системе растворителей бутанол – кислота уксусная – вода очищенная 4:1:5) и восходящей тонкослойной хроматографии на пластинах «Silufol» (в той же системе растворителей). В состав полисахаридного комплекса входят: глюкоза, галактоза, ксилоза и арабиноза. Количество уроновых кислот определяли гравиметрически после гидролиза полисахаридного комплекса и осаждения полигалактуроновой кислоты в виде пектата кальция [4]. Количественное определение свободных карбоксильных групп прово-

дили алкалиметрически (индикатор – фенолфталеин). Нами впервые установлено, что полисахарид цветков пижмы обыкновенной относится к классу пектиновых веществ и содержит до 85% остатков урновых кислот, 16% которых имеют свободную карбоксильную группу. Методом спектрофотометрии в видимой области мы определили, что полисахарид цветков пижмы обыкновенной обладает выраженной солубилизирующей активностью. В разных образцах полисахарида находится от 69,87% до 75,13% восстанавливающих моносахаридов в пересчете на глюкозу.

Для изучения противовоспалительной активности использовали 3%-ный водный раствор полисахарида. Исследование проводили на 24 белых беспородных крысах средней массой 150-200 г, которых содержали в стандартных условиях вивария. Исследования на животных выполнены в соответствии с Европейской конвенцией по защите и использованию позвоночных животных для экспериментов и других целей, «Правилами лабораторной практики в Российской Федерации», а также «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных». В эксперименте использовали четыре группы животных по шесть особей в каждой.

Моделью асептического экссудативного воспаления служил отек, вызванный введением 0,1 мл 2,5%-ного раствора формалина под апоневроз стопы задней конечности крысы.

Первой группе подопытных крыс за 2 часа до введения формалина, а затем с интервалом 2 часа вводили внутривентрикулярно (через зонд) полисахаридный комплекс цветков пижмы обыкновенной в дозе 0,3 г/кг массы; в последующие 7 суток – ежедневно.

Вторая и третья группы животных получали препараты сравнения – настой цветков календулы (1 г/кг массы) и индометацин (0,01 г/кг массы) в режиме назначения полисахарида.

Крысам контрольной группы в те же сроки вводили физиологический раствор.

Для изучения динамики воспалительной реакции величину отека измерили

онкометрическим методом через 1, 2, 3, 4, 6 и 24 часа после инъекции флогогенного агента, далее 1 раз в сутки в течение семи дней. Каждое определение проводили не менее трех раз, брали средние значения замеров.

Через 4 часа, на 3, 5 и 7 сутки после введения формалина у животных брали кровь для определения количества лейкоцитов и скорости оседания эритроцитов. Результаты опытов обрабатывали статистически.

Результаты и их обсуждение

У интактных животных введение флогогенного агента обусловило развитие гиперемии и постепенного нарастания отека конечности с максимумом через 4 часа после введения 2,5%-ного формалина, когда объем воспаленной конечности крысы составил 205,0% от исходного. В последующие сроки наблюдения отек постепенно уменьшался и первоначальный объем конечности восстанавливался к седьмым суткам эксперимента. Параллельно нарастанию отека отмечено изменение числа лейкоцитов и величины СОЭ в периферической крови. К четвертому часу опыта у крыс контрольной группы имел место выраженный лейкоцитоз: количество лейкоцитов возросло в 3 раза и составило $35645,8 \pm 1920,4$ против $11391,7 \pm 292,0$ для интактных животных. Максимальный подъем величины СОЭ – до $3,4 \pm 0,2$ (для интактных крыс $1,5 \pm 0,2$) наблюдался к третьим суткам эксперимента. В последующие сроки наблюдения указанные показатели снижались и соответствовали норме к седьмым суткам опыта.

Лечение экспериментального воспалительного процесса настоем календулы, приготовленным согласно требованиям Государственной фармакопеи, (1,0 г/кг массы животного) не изменяло динамику развития отека, однако способствовало задержке накопления экссудата (рис. 1). Спустя 1 час и 4 часа после введения формалина объем воспаленной конечности был на 22,22% и 38,10% меньше, чем в контроле, а количество лейкоцитов через 4 часа составило $28563,2 \pm 911,0$. Через

сутки торможение воспалительной реакции составило 40% , а через трое суток 63,64%. Максимальный подъем величины СОЭ – до $2,7 \pm 0,3$ наблюдался к третьим суткам эксперимента. Первоначальный объем конечности крыс восстановился к пятым суткам эксперимента, а уровень лейкоцитов на седьмые сутки составил $15625,5 \pm 1209,0$.

Назначение индометацина (0,010 г/кг массы) в качестве терапевтического средства способствовало значительной задержке воспалительного процесса. Тор-

можение воспаления составило: через 1 час после инъекции формалина 55,56%, а в момент максимального развития отека – через 4 часа –57,14% от уровня контроля соответственно. Количество лейкоцитов через 4 часа после введения формалина составило $16633,3 \pm 504,4$. Максимальный подъем величины СОЭ – до $2,2 \pm 0,4$ наблюдался к третьим суткам эксперимента. Первоначальный объем конечности крысы восстановился к третьим суткам эксперимента, а уровень лейкоцитов и СОЭ – к седьмым суткам.

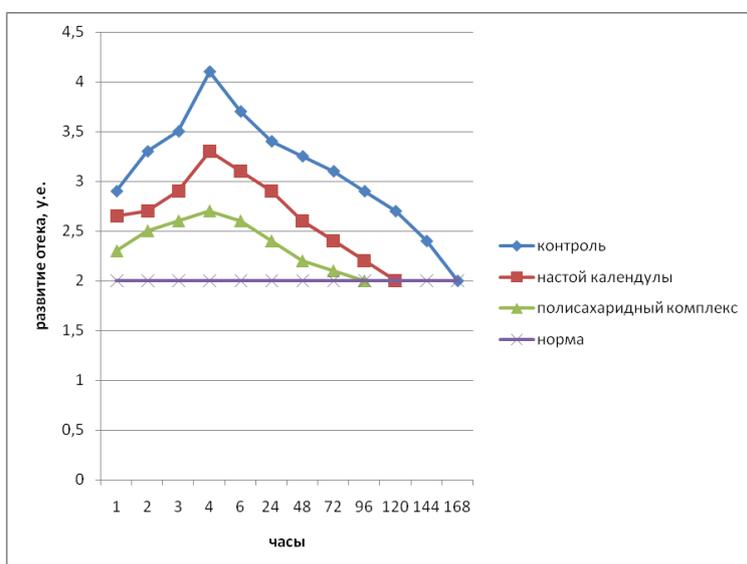


Рис. 1. Влияние полисахаридного комплекса, настоя календулы и индометацина на динамику воспалительного отека у крыс

У крыс, получавших полисахаридный комплекс цветков пижмы обыкновенной, как и у животных контрольной группы, после инициации воспаления формалином наблюдалась гиперемия и отек конечности. Однако интенсивность воспалительного процесса по сравнению с животными контрольной группы была значительно снижена. Через 1 час после введения флогогенного агента торможение воспалительной реакции составило

66,67%, а в момент максимального развития отека – через 4 часа – 61,90%, что значительно выше соответствующих данных контрольной группы. Полное угнетение воспалительной реакции и восстановление первоначального объема конечности крыс при лечении полисахаридным комплексом цветков пижмы обыкновенной наблюдалось к третьим суткам эксперимента.

Таблица 1

Влияние полисахаридного комплекса цветков пижмы, настоя календулы и индометацина на уровень лейкоцитов и СОЭ у крыс с экспериментальным воспалением

	Время после введения формалина	Количество лейкоцитов	СОЭ
Интактные животные		11391,7±292,0	1,5±0,2
Контрольная группа	4 ч	35645,8±1920,4	1,7±0,2
	3 сут.	21770,8±159,3	3,4±0,2
	5 сут.	19391,7±867,3	3,2±0,3
	7сут.	15900,0±1070,8	1,8±0,2
Лечение индометацином	4 ч	16633,3±504,4	1,6±0,2
	3 сут.	14533,3±460,2	2,2±0,4
	5 сут.	13166,7±88,5	1,3±0,2
	7сут.	12083,3±504,4	1,3±0,2
Лечение полисахаридом цветков пижмы обыкновенной	4 ч	21416,7±1504,5	1,6±0,2
	3 сут.	13629,2±128,3	2,6±0,2
	5 сут.	12779,2±747,8	1,9±0,2
	7сут.	11395,8±216,8	1,6±0,4
Лечение настоем цветков календулы	4 ч	28563,2±911,0	1,7±0,3
	3 сут.	25885,3±2012,0	2,7±0,3
	5 сут.	21290,7±199,3	2,0±0,4
	7сут.	15625,5±1209,0	1,6±0,2

Под влиянием полисахарида у крыс величина СОЭ через 4 часа после введения препарата составила $1,6 \pm 0,2$, а уровень лейкоцитов на 39,91% ниже чем в контроле (табл. 1). Нормализация показателей СОЭ и количества лейкоцитов наблюдалась на 7 сутки эксперимента и составляли соответственно $1,6 \pm 0,4$ и $11395,8 \pm 216,8$. Данные, полученные при действии полисахаридов цветков пижмы обыкновенной на изменение величины СОЭ и количество лейкоцитов при воспалении превосходит действие настоя цветков календулы и сравнимо с действием индометацина.

Выводы

1. Из цветков пижмы обыкновенной выделен полисахаридный комплекс, относящийся к классу гликуроногликанов типа пектинов. Общий выход составил 6,5%.
2. Изучены и установлены: состав и некоторые физико-химические свойства полисахаридного комплекса цветков пижмы обыкновенной.
3. Изучена противовоспалительная активность полисахаридного комплекса цветков пижмы обыкновенной. Полученные данные свидетельствуют о значи-

тельном тормозящем эффекте полисахарида на развитие экссудативного компонента воспалительной реакции, уменьшении лейкоцитоза, нормализации СОЭ и сокращении сроков лечения. В эксперименте полисахаридный комплекс превосходит по активности настоя цветков календулы и не уступает индометацину.

Литература

1. Кочетков Н.К. Химия углеводов / Н.К. Кочетков. – М.: Изд-во «Химия», 1967. – 672 с.
2. Лавренев Г.Ю. Сравнительная оценка влияния некоторых растительных полисахаридов на воспалительный процесс и регенерацию хронической язвы желудка / Г.Ю. Лавренев, И.П. Чернов // Фармакол. и токсикол. – 1983. – №4. – С. 85-89
3. Машковский М.Д. Лекарственные средства / М.Д. Машковский. – 15-е изд., перераб., испр. и доп. – М.: РИА «Новая волна», 2007. – 1206 с.
4. Филипович Ю.Б. Практикум по общей биохимии: учебное пособие для студентов химических специальностей педагогических институтов / Ю.Б. Филипович, Т.А. Егорова, Г.А. Севастья-

- нова. – 2-е изд., перераб. – М.: Просвещение, 1982. – 311 с.
5. Hypoglycemic activity of polysaccharide fractions containing beta-glucans from extracts of *Rhynchelytrum repens* (Wild.) C.E. Hubb., Poaceae / A.C. De Paula [et al.] // *Braz J Med Biol Res.* – 2005. – Vol. 38, №6. – P. 885-893.
6. Gressly T.F. Effect of abomasal pectin infusion on digestion and nitrogen balance in lactating dairy cows / T.F. Gressly, L.E. Armentano // *J Dairy Sci.* – 2005. – Vol. 88, № 11. – P. 4028-4044.
7. Sun H. Haemolytic activities and adjuvant effect of *Gynostemma pentaphyllum* saponins on the immune responses to ovalbumin in mice / H. Sun, Q. Zheng // *Phytother. Res.* – 2005. – Vol. 19, № 10. – P. 895-900.

THE STUDY OF ANTIINFLAMMATORY ACTIVITY OF POLYSACCHARIDES ISOLATED FROM TANACETUM VULGARE

E.E. Kirichenko, I.A. Sychev, G.Y. Chekulaeva

Polysaccharides, are isolated from *Tanacetum vulgare* flowers, exert influence on antiinflammatory activity, the normalization of leucocytes number and erythrocyte sedimentation rate, the decreasing of drops.

Key words: *polysaccharide, Tanacetum vulgare, antiinflammatory activity, the normalization of leucocytes number.*

Кириченко Екатерина Евгеньевна – интерн (специальность Управление и экономика фармации) ГБОУ ВПО РязГМУ Минздравсоцразвития России.

Тел.: 8-910-571-46-27.

E-mail: avikon3412@yandex.ru.

Сычев Игорь Анатольевич – д.биол.н., доц., зав. кафедрой общей химии с курсом биоорганической и органической химии ГБОУ ВПО РязГМУ Минздравсоцразвития России.

г. Рязань, ул. Высоковольтная, д. 9.

Чекулаева Галина Юрьевна – к.биол.н., доц., зав. кафедрой фармацевтической и токсикологической химии ГБОУ ВПО РязГМУ Минздравсоцразвития России.

г. Рязань, ул. Высоковольтная, д. 9.