

© Коллектив авторов, 2005

И. Л. Дроздова, Р. А. Бубенчиков

СОСТАВ И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ПОЛИСАХАРИДНЫХ КОМПЛЕКСОВ ФИАЛКИ ДУШИСТОЙ И МАЛЬВЫ НИЗКОЙ

Курский государственный медицинский университет

Из надземной части фиалки душистой и мальвы низкой были выделены водорастворимые полисахариды. В составе водорастворимых полисахаридов определены глюкоза, галактоза, арабиноза, рамноза, ксилоза, глюкуроновая и галактуриновая кислоты. Результаты эксперимента показывают, что полисахаридные комплексы фиалки душистой и мальвы низкой обладают противовоспалительными свойствами, проявляющимися в угнетении стадий экссудации и пролиферации, влиянии на проницаемость капилляров.

Фиалка душистая (*Viola odorata* L.) и мальва низкая (*Malva pusilla* Smith.) — издавна широко используются в народной медицине при различных заболеваниях в качестве отхаркивающих, смягчительных, обволакивающих, противовоспалительных, мочегонных, желчегонных и других средств. Из данных литературы известно, что одной из основных групп действующих веществ этих растений являются слизи [1]. Но до настоящего времени полисахариды указанных видов недостаточно изучены, не установлен их моносахаридный состав и фармакологическая активность.

Цель нашей работы заключалась в изучении состава полисахаридных комплексов, выделенных из надземной части фиалки душистой и мальвы низкой и определение их противовоспалительной активности.

Воспаление — сложный многоступенчатый процесс, представляющий собой динамический каскад биологических причинно-следственных явлений, проходящих в своем развитии через ряд стадий и фаз [2]. Поэтому оценку противовоспалительного действия изучаемых полисахаридных комплексов проводили с учетом их влияния на разные стадии воспалительного процесса.

Экспериментальная химическая часть

Полисахаридные комплексы выделяли из травы фиалки душистой и мальвы низкой. Сырье заготавливалось в 2000 – 2002 гг. в Курской области в период массового цветения растений.

Для получения водорастворимых полисахаридных комплексов (ВРПС) использовали воздушно-сухой шрот сырья после экстракции полифенольных соединений 70 % спиртом этиловым [3]. 100 г воздушно-сухого шрота экстрагировали 2 л горячей воды при нагревании до 95 °С в течение 1 ч при постоянном перемешивании. Повторное извлечение полисахаридов проводили дважды при соотношении сырье – экстрагент 1:10. Растительный материал отделяли центрифугированием, а объединенные экстракты упаривали до

1/5 первоначального объема. Полисахариды осаждали трехкратным (по отношению к извлечению) объемом 96 % спирта этилового при комнатной температуре. Выпавшие плотные осадки отфильтровывали, промывали спиртом этиловым, ацетоном, затем высушивали и взвешивали.

Для установления моносахаридного состава ВРПС проводили их гидролиз серной кислотой (1 моль/л) в течение 6 ч. Моносахариды определяли в гидролизатах методом хроматографии на бумаге в системах растворителей: н.бутанол — пиридин — вода (6:4:3) и этилацетат — уксусная кислота — муравьиная кислота — вода (18:3:1:4) параллельно с достоверными образцами моносахаридов. Хроматограммы после высушивания на воздухе обрабатывали анилинфталатным реактивом и нагревали в сушильном шкафу при 100 – 105 °С.

Определение количественного содержания сахаров в гидролизатах ВРПС проводили денситометрически после хроматографии в тонком слое сорбента [4].

Экспериментальная биологическая часть

Антиэксудативное действие ВРПС оценивали на модели острого воспалительного отека задней лапы мышей [5]. Опыты проводили на мышах массой 18 – 20 г. В опыт брали две группы мышей. Одной группе за 2 ч до введения формалина, а затем через 5 и 18 ч после него вводили внутривенно (через зонд) ВРПС в дозах 50, 100, 200 мг/кг (в объеме раствора 0,20 мл на 20 г массы животного). Мышам второй группы в те же сроки применяли воду дистиллированную. Модель воспаления воспроизводили путем субплантарного введения в заднюю лапку мыши 0,1 мл 2,5 % раствора формалина. Через 24 ч после введения формалина мышей забивали и отрезали воспаленные и невоспаленные лапки на уровне тазобедренного сустава. О выраженности воспалительного отека судили по приросту веса воспаленных лапок, который определяли по разнице в массе между воспа-

ленными и невоспаленными лапками; об антиэкссудативной активности — по разнице между величиной отека лапы, вызванного формалином у контрольных животных и у мышей, получавших изучаемые ВРПС.

Антипролиферативную активность ВРПС изучали на модели “ватной гранулемы” у беспородных белых крыс массой 180–220 г [5, 6]. Крысам, находящимся под легким эфирным наркозом, в области спины тщательно выстригали шерсть и в асептических условиях делали продольный разрез кожи и подкожной клетчатки длиной 1–2 см. Затем пинцетом через образовавшийся разрез кожи в подкожной клетчатке формировали полость, в которую помещали предварительно простерилизованный ватный шарик массой 25 мг и накладывали 1–2 шва. Через 7 дней имплантированный шарик с образовавшейся вокруг него грануляционной тканью извлекали и высушивали до постоянной массы при 55–60 °С. Массу образовавшейся грануляционно-фиброзной ткани определяли по разнице между массой высушенной гранулемы и массой имплантированного ватного шарика. ВРПС вводили в дозах 50, 100, 200 мг/кг массы животного на протяжении всего эксперимента ежедневно. Препарат сравнения (настой цветков календулы, приготовленный по [7]) и дистиллированную воду (контроль) вводили в аналогичных условиях в дозе 1 г/кг массы тела в сутки.

В возникновении и течении ряда патологических процессов, в том числе и воспаления, проявляющихся в виде геморрагических синдромов, большое значение имеет фактор сосудистой проницаемости [8]. Исходя из этого, нами проведены исследования по изучению влияния исследуемых ВРПС на проницаемость сосудов.

Влияние ВРПС на проницаемость капилляров определяли при моделировании локальной воспалительной реакции с помощью ксилы на кроликах-альбиносах массой 2,0–2,5 кг [9]. У кроликов предварительно выстригали шерсть на коже живота (участок

8 × 13 см). ВРПС (в дозах 50, 100, 200 мг/кг) вводили внутримышечно за час до введения индикатора проницаемости, роль которого выполнял раствор трипановой сини. Трипановую синь вводили в краевую вену уха в виде 1 % раствора на 0,9 % растворе натрия хлорида из расчета 2 мл на 1 кг массы животного. Длительная циркуляция краски в кровеносном русле позволяет изучить нарушение проницаемости капилляров в течение нескольких часов после введения. Показателем проницаемости капилляров служило время появления на коже сине-окрашенных пятен и их диаметр. По разнице во времени появления пятен и их диаметру до и после введения препарата судили о его действии на проницаемость капилляров.

Статистическая обработка результатов эксперимента проводилась согласно [7].

Результаты и их обсуждение

В результате проведенных исследований были выделены ВРПС из указанных видов растений. Выход ВРПС составил: из травы фиалки душистой 23,0 %, из травы мальвы низкой — 13,6 %.

ВРПС, выделенные из изучаемых растений, представляют собой аморфные порошки от светло-серого до светло-бурого цвета; при растворении в воде образуют опалесцирующие растворы (рН 1 % водных растворов находится в пределах 5–6); растворяются также в водных растворах кислот и щелочей и не растворяются в органических растворителях. Полисахаридные комплексы дают положительные реакции осаждения со спиртом, ацетоном, реакцию с реактивом Фелинга после кислотного расщепления полисахаридов [10].

Методом хроматографии на бумаге параллельно с достоверными образцами сахаров в исследуемых ВРПС идентифицировали глюкозу, галактозу, арабинозу, рамнозу, ксилозу, глюкуроновую и галактуроновую кислоты.

Таблица 1

Влияние исследуемых ВРПС на отек лап, вызванный у мышей формалином (n = 6)

Препарат, доза	Вес лапок, мг		Величина отека		Противовоспалительный эффект, %
	правой	левой	(M ± m), мг	%	
Контроль	540	930	390 ± 13,82	100	—
ВРПС Фд (тр):					
50 мг/кг	840	1160	320 ± 16,93*	82,1	17,9
100 мг/кг	950	1250	300 ± 19,49*	76,9	23,1
200 мг/кг	860	1170	310 ± 5,16*	79,5	20,5
ВРПС Мн (тр):					
50 мг/кг	830	1180	350 ± 16,93	89,7	10,3
100 мг/кг	970	1260	290 ± 18,86*	74,4	25,6
200 мг/кг	860	1160	300 ± 12,11*	76,9	23,1
Настой К(цв):					
1 г/кг	760	1040	280 ± 4,47*	71,8	28,2

Примечание. Фд (тр) — фиалка душистая (трава), Мн (тр) — мальва низкая (трава), К (цв) — календула (цветки), * — достоверность различий с контролем (p < 0,05).

Определение количественного содержания моносахаридов показало, что в ВРПС травы фиалки душистой преобладают галактоза, глюкоза, галактуроновая кислота, а в траве мальвы низкой — глюкоза, арабиноза, галактуроновая кислота.

Антиэкссудативная активность. Изучение антиэкссудативной активности исследуемых ВРПС на модели воспаления, вызванного формалином, показало, что они влияют на фазу экссудации процесса воспаления, вызывая уменьшение отека конечности мышей (табл. 1). Из данных таблицы видно, что при введении ВРПС в дозе 50 мг/кг обнаруживается тенденция к уменьшению объема отека. Максимальное уменьшение величины отека лапы по сравнению с контролем отмечается при действии ВРПС в дозе 100 мг/кг (отек уменьшался на 23,1 % у ВРПС травы фиалки душистой и 25,6 % у ВРПС травы мальвы низкой). При этом их антиэкссудативная активность сопоставима с препаратом сравнения — настоем цветков календулы. После введения ВРПС в дозе 200 мг/кг мы не получили более сильного противовоспалительного эффекта.

Антипролиферативное действие. Результаты исследования влияния изучаемых ВРПС на пролиферативный компонент воспаления представлены в табл. 2. Из данных табл. 2 видно, что в контрольной группе животных вес грануляционной ткани составил $55,4 \pm 0,88$ мг. Эту величину мы приняли за 100 %. В остальных сериях опытов под влиянием исследуемых препаратов величина грануляционной ткани по сравнению с контрольными данными была меньше (от $54,0 \pm 0,93$ до $52,5 \pm 0,56$). При увеличении дозы ВРПС увеличивался и % угнетения образования гранулемы. В дозе 200 мг/кг исследуемые ВРПС оказывают незначительное влияние на процесс пролиферации (4,1 и 5,3 %) по сравнению с препаратом сравнения — настоем цветков календулы (8,3 %).

Влияние на проницаемость капилляров. Полученные результаты (табл. 3) показывают, что в случаях

Таблица 2
Влияние исследуемых ВРПС на образование грануляционно-фиброзной ткани у крыс ($n = 6$)

Препарат, доза	Масса сухих гранул, мг, ($M \pm m$)	Угнетение образования гранулемы, %
Контроль	$55,4 \pm 0,88$	
ВРПС Фд (тр):		
50 мг/кг	$54,0 \pm 0,93$	2,6
100 мг/кг	$53,3 \pm 0,77$	3,8
200 мг/кг	$53,1 \pm 1,08$	4,1
ВРПС Мн (тр):		
50 мг/кг	$53,5 \pm 1,18$	3,5
100 мг/кг	$52,8 \pm 1,58$	4,7
200 мг/кг	$52,5 \pm 0,56^*$	5,3
Настой Кл (цв):		
1 г/кг	$50,6 \pm 1,05^*$	8,3

Примечание. Фд (тр) — фиалка душистая (травя), Мн (тр) — мальва низкая (травя), Кл (цв) — календула лекарственная (цветки), * — достоверность различий с контролем ($p < 0,05$).

введения ВРПС пятна окрашивания, свидетельствующие о проникновении трипановой сини через гисто-гематический барьер, появлялись значительно позже по сравнению с контролем (увеличивался латентный период появления пятен окрашивания, а также уменьшался их диаметр). Анализ полученных данных говорит об уменьшении сосудистой проницаемости для трипановой сини при введении исследуемых ВРПС; наблюдаемые в этих случаях эффекты сопоставимы с препаратом сравнения — настоем цветков календулы. Результаты свидетельствуют о наличии капилляроукрепляющего действия как одного из механизмов противовоспалительной активности изучаемых препаратов.

Таким образом, в результате проведенных исследований были выделены ВРПС из наземной части фиалки душистой и мальвы низкой, определен их моносахаридный состав, а также установлено, что указан-

Таблица 3
Влияние исследуемых ВРПС на проницаемость капилляров у кроликов ($n = 10$)

Препарат, доза	Латентный период появления пятен окрашивания, мин, ($M \pm m$)	Увеличение латентного периода появления пятен окрашивания		Диаметр пятен окрашивания, см	Уменьшение диаметра пятен окрашивания, %
		мин	%		
Контроль	$3,73 \pm 0,25$	—	—	$1,83 \pm 0,12$	
ВРПС Фд (тр):					
50 мг/кг	$7,60 \pm 0,21^*$	3,87	103,8	$1,10 \pm 0,04^*$	39,9
100 мг/кг	$9,70 \pm 0,37^*$	5,97	160,1	$1,13 \pm 0,04^*$	38,3
200 мг/кг	$9,40 \pm 0,40^*$	5,67	152,0	$1,14 \pm 1,04^*$	37,7
ВРПС Мн (тр):					
50 мг/кг	$13,15 \pm 0,63^*$	9,42	252,55	$1,00 \pm 0,04^*$	45,4
100 мг/кг	$14,35 \pm 0,74^*$	10,62	284,72	$0,97 \pm 0,05^*$	46,9
200 мг/кг	$14,50 \pm 0,85^*$	10,77	288,74	$0,98 \pm 0,03^*$	46,5
Настой Кл (цв):					
1 г/кг	$8,00 \pm 0,17^*$	4,27	114,5	$0,97 \pm 0,003^*$	46,9

Примечание. Фд (тр) — фиалка душистая (травя), Мн (тр) — мальва низкая (травя), Кл (цв) — календула лекарственная (цветки), * — достоверность различий с контролем ($p < 0,05$).

ные полисахаридные комплексы обладают противовоспалительной активностью.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование*, Наука, Ленинград (1985).
2. Ф. П. Тринус, В. К. Клебанов, И. М. Ганжа, Р. Д. Сейфулла, *Фармакологическая регуляция воспаления*, Киев (1987).
3. А. Г. Горин, *Тез. докл. Всерос. съезда фармацевтов*, Свердловск (1975), сс. 313 – 314.
4. М. П. Филиппов, *Изв. АН МССР: Сер. Биол. и хим. наук*, № 3, 76 – 79 (1973).
5. *Руководящие методические материалы по экспериментальному и клиническому изучению новых лекарственных средств*, Ч. 6, Москва (1986), сс. 51 – 66.
6. Ф. П. Тринус, И. А. Мохорт, Б. М. Клебанов, *Нестероидные противовоспалительные средства*, Киев (1975).
7. *Государственная фармакопея СССР*, Т. 1, Медицина, Москва (1987).
8. А. М. Чернух, О. Я. Кауфман, *Вестник АМН СССР*, 3, 17 – 20 (1979).
9. И. А. Ойвин, В. И. Ойвин, В. П. Балуда, *Бюлл. эксперим. биол.*, 54(10), 45 – 47 (1962).
10. Б. Н. Степаненко, *Химия и биохимия углеводов. Полисахариды*, Высшая школа, Москва (1978).

Поступила 17.03.03

COMPOSITION AND ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY OF POLYSACCHARIDE COMPLEXES FROM VIOLA ODORATA L. AND MALVA PUSILLA SMITH

I. L. Drozdova, R. A. Bubenichov

Kursk State Medical University

Water-soluble polysaccharides were extracted from the top of *Viola odorata* L. and *Malva pusilla* Smith. The monosaccharides are represented by glucose, galactose, arabinose, rhamnose, xylose, glucuronic and galacturonic acids. Results of experimental study have shown, that polysaccharide complexes from *Viola odorata* L. and *Malva pusilla* Smith. revealed anti-inflammatory activity: suppressed exudative and proliferative stages of inflammation and affect the capillary permeability.