

## ДЕЙСТВИЕ ПОЛИСАХАРИДА ЦВЕТКОВ КАЛЕНДУЛЫ НА КРОВЬ И КРОВЕТВОРЕНИЕ

### EFFECT OF POLYSACCHARIDE OF CALENDULA FLOWERS ON BLOOD AND HEMOROUS

**D. Sirotkina**  
**I. Sychev**  
**T. Cherdantseva**  
**T. Kolosova**

*Summary.* A study was carried out to study the effect of calendula polysaccharide on the blood and hematopoiesis processes in healthy animals. A polysaccharide was isolated from the air-dry pharmaceutical raw material of calendula flowers, its qualitative and quantitative monosaccharide composition was determined. The effect of the polysaccharide on the blood of healthy animals was studied in Wistar rats. In the blood of experimental and control animals, the number of erythrocytes and hemoglobin, the total number of leukocytes and lymphocytes was determined. At the same time of the experiment, the number of erythroblastic islets of bone marrow isolated from the femur bones of control and experimental animals was determined. The data obtained indicate that the polysaccharide of calendula flowers stimulates the processes of hematopoiesis, increasing the total number of erythroblastic islets in the bone marrow of experimental rats. The polysaccharide drug increases the number of red blood cells and hemoglobin levels, increases the number of lymphocytes and monocytes, and reduces the total number of leukocytes.

*Keywords:* polysaccharide of calendula flowers, erythroblastic islets, bone marrow, erythrocytes, hemoglobin, lymphocytes, leukocytes, monocytes.

**Сироткина Дарья Сергеевна**

Ассистент, Рязанский государственный  
медицинский университет имени академика

И.П. Павлова;

[sirotkina.dashulya@inbox.ru](mailto:sirotkina.dashulya@inbox.ru)

**Сычев Игорь Анатольевич**

Д.б.н., доцент, Рязанский государственный  
медицинский университет имени академика

И.П. Павлова;

[i.sytchev@rzgmu.ru](mailto:i.sytchev@rzgmu.ru)

**Черданцева Татьяна Михайловна**

Д.м.н., доцент, Рязанский государственный  
медицинский университет имени академика

И.П. Павлова

[cherdan.morf@yandex.ru](mailto:cherdan.morf@yandex.ru)

**Колосова Татьяна Юрьевна**

К.х.н., доцент, Рязанский государственный  
медицинский университет имени академика

И.П. Павлова;

[tkkolosova@gmail.com](mailto:tkkolosova@gmail.com)

*Аннотация.* Проведено исследование по изучению действия полисахарида календулы на кровь и процессы кроветворения здоровых животных. Из воздушно-сухого аптечного сырья цветков календулы выделен полисахарид, определен его качественный и количественный моносахаридный состав. Действие полисахарида на кровь здоровых животных изучали на крысах линии Вистар. В крови экспериментальных и контрольных животных определяли количество эритроцитов и гемоглобина, общее число лейкоцитов, лимфоцитов. В те же сроки эксперимента определяли количество эритробластических островков костного мозга выделенного из бедренных костей контрольных и подопытных животных. Полученные данные свидетельствуют о том, что полисахарид цветков календулы стимулирует процессы гемопоэза, увеличивая общее количество эритробластических островков в костном мозге подопытных крыс. Препарат полисахарида повышает количество эритроцитов и уровень гемоглобина, увеличивает количество лимфоцитов и моноцитов, уменьшает общее количество лейкоцитов.

*Ключевые слова:* полисахарид цветков календулы, эритробластические островки, костный мозг, эритроциты, гемоглобин, лимфоциты, лейкоциты, моноциты.

## Введение

**С**ложная экологическая обстановка больших промышленных мегаполисов, а также ряд патологических процессов могут приводить к снижению функциональной активности кроветворной и иммунной системы организма, развитию иммунодефицитов, анемии [5,15].

Растительные полисахариды обладают высокой биологической активностью. При введении в организм лабораторных животных стимулируют общий обмен веществ, повышают физическую работоспособность. Так ряд авторов в своих работах отмечают, что полисахариды растений активируют функции иммунной системы, проявляя выраженное противовоспалительное и ранозаживляющее действие, стимулируют процессы гемопоэза в норме и при различных видах анемии, при облучении [6,8,10,12,14].

Установлено, что полисахариды растений при введении в организм не обладают токсичностью, аллергенностью, пирогенностью [1,9,16]. Все это, наряду с доступностью растительного сырья и относительной простотой получения открывает широкие перспективы использования растительных полисахаридов в медицине и ветеринарии [7,8,9,11,13].

Цветки календулы (*Calendula off*) содержат каротиноиды, флавоноиды, тритерпеновые сапонины, дубильные вещества, эфирное масло, органические кислоты. В медицинской практике применяется настой цветов календулы, который оказывает противовоспалительное, антисептическое и ранозаживляющее действие. Его используют при заболевании горла для полоскания и внутрь как желчегонное средство [4,10].

## Материалы и методы

Аптечное сырье цветков календулы подвергали предварительной экстракции 40% этанолом на водяной бане в течение 30 минут для извлечения полифенольных соединений.

Из очищенного сырья полисахарид извлекали 1% раствором щавелевокислого аммония в соотношении 1:10 на кипящей водяной бане в течение 1,5 часов. Экстракт охлаждали, фильтровали, и полисахариды осаждали 5 кратным избытком 96% этанола. Осадок полисахарида промывали несколько раз этанолом, ацетоном, диэтиловым эфиром, высушивали в эксикаторе над серной кислотой или гидроксидом кальция. Очищали полисахарид диализом и переосаждением. Получали аморфное вещество светло-серого цвета. Выход полисахарида из растительного сырья составляет 13,5%.

Полисахарид календулы растворяли в дистиллированной воде, получая при этом 5% коллоидный раствор, с которым проводили дальнейшие исследования.

Подлинность полисахарида определяли реакцией Молиша — групповая реакция на углеводы с  $\alpha$ -нафтолом и серной кислотой, а также реакцией Толенса с раствором нафторезорцина и соляной кислотой при добавлении бензола. После кислотного гидролиза полисахарида реакцией Фелинга и реакцией с раствором ацетата свинца основного проверяли наличие в гидролизате моносахаридов [3].

Качественный и количественный моносахаридный состав полисахарида определяли методом кислотного гидролиза в течение 9 часов с раствором 1н серной кислоты на кипящей водяной бане в сочетании с методом бумажной и тонкослойной хроматографии в системе бутанол-уксусная кислота-вода (4:1:5). Моносахариды на хроматограмме выявляли анилинфталатом. Количество урсонных кислот определяли методом алкалометрического титрования.

Действие полисахарида на здоровых животных изучали на 30 крысах-самках линии Вистар массой 220–250 грамм, содержащихся в стандартных условиях вивария.

Подопытным животным вводили 5% раствор полисахарида в дистиллированной воде в дозе 0,1 г/кг массы тела *per os* ежедневно в одно и то же время в течение всего времени эксперимента. Контрольные животные получали в это же время равный объем дистиллированной воды.

На 3,5,7,10 и 12 сутки опыта животных выводили из эксперимента. У подопытных и контрольных крыс после наркотизации для исследования брали кровь, тимус, селезенку, две бедренные кости.

В крови животных на гемоанализаторе определяли количество эритроцитов, гемоглобина, лейкоцитов, тромбоцитов, общий белок, альбумины, глобулины. Готовили мазки крови, которые фиксировали смесью спирта и эфира и окрашивали по Романовскому-Гимза и использовали для подсчета форменных элементов крови с помощью программного обеспечения «Image J».

Взятые органы использовали для изготовления гистологических микропрепаратов, которые окрашивали гематоксилином и эозином и использовали для изучения клеточности и структуры органов.

Количество эритробластических островков в костном мозге определяли по методу Захарова [2]. У подо-

Таблица 1. Влияние полисахарида календулы на изменения массы тела и кроветворных органов подопытных животных

Масса	Контроль	3 сутки	5 сутки	7 сутки	10 сутки	12 сутки
тела	276,18±0,1	285,81 ±1,9	287,28±2,3	293,12±2,7	301,58±2,9	286,15 ± 2,4
тимуса	0,584 ± 1,7	0,612 ± 1,1	0,638 ± 1,6	0,793 ± 2,3	0,752 ± 1,9	0,708 ± 2,1
селезёнки	0,652 ± 0,7	0,725 ± 1,5	0,962 ± 3,1	0,912 ± 0,5	0,858 ± 2,9	0,723 ± 1,3

пытных и контрольных животных извлекали бедренные кости, очищали от мышц, сухожилий, соединительной ткани. Вскрывали бедренную кость и выделяли из нее костный мозг в питательную среду, состоящую из 10% раствора альбумина в среде 199 в которую добавляли антибиотик и гепарин. Костный мозг суспензировали в 1 мл питательной среды, брали 0,1 мл суспензии добавляли в него 0,1 мл среды и 0,1 мл 1% раствора нейтрального красного. Полученную смесь наносили на камеру Горяева и выдерживали 10 минут во влажной среде. Общее количество эритробластических островков считали в 220 квадратов камеры. Расчет проводили по формуле:

$$A = \frac{n \cdot 2 \cdot 2000}{0,9 \cdot 3}$$

- где, n — число эритробластических островков;
- 2000 — общий объем взвеси клеток;
- 0,9 — объем камеры Горяева;
- 2 — две бедренные кости;
- 3 — разведение взвеси костного мозга в три раза.

Все полученные данные обрабатывали методом математической статистики.

### Результаты и обсуждения

При введении полисахарида цветков календулы здоровым крысам линии Вистар было установлено, что у животных в течение всего времени эксперимента увеличивается масса тела и, достигнет максимума на 10 сутки опыта, превосходя изменения массы тела контрольных животных в среднем на 5,5% (p<0,05). Масса тимуса подопытных животных ежедневно получавших полисахарид в дозе 0,1 г/кг массы тела увеличивается на 7 сутки на 12,5% (p<0,05), а на 10–12 превышает контроль на 13,8% (p<0,05). Масса селезенки животных получавших полисахарид возрастает максимально на 5 сутки опыта, превышая контрольные значения на 32,3% (p<0,05). На 10 сутки эксперимента масса селезенки подопытных крыс снижалась, но превосходила контрольные значения на 23,1% (p<0,05), а на 12 сутки на 15,2% (p<0,05) была больше чем в контроле. Все полученные данные обработаны методами математической статистики и представлены в таблице 1.

Увеличение массы кроветворных органов подопытных животных происходит в связи с активацией процессов лимфопоэза и гемопоэза.

В костном мозге бедренной кости происходит увеличение общего количества эритробластических островков, которое максимально возрастает на 5 сутки опыта, превосходя контрольные значения на 14,62% (p<0,05). На 7 сутки опыта общая численность эритробластических островков превосходит контрольные показатели на 6,43% (p<0,05). К 10 дню опыта количество эритробластических островков снижается, но превышает контрольные значения на 2,92% (p<0,05), а на 12 сутки опыта уменьшается до контрольных показателей. Полученные данные по динамике изменения количества эритробластических островков представлены на рисунке 1.

Увеличение клеточности кроветворных органов связано с процессами пролиферации и дифференцировки гемопоэтических и лимфоидных клеток и выходом в периферическую кровь зрелых форменных элементов. Под влиянием полисахарида календулы в периферической крови экспериментальных животных численность эритроцитов максимально увеличивается на 5 сутки опыта на 19,9% (p<0,05) по сравнению с контролем. На 7–10 сутки опыта количество эритроцитов уменьшается, но на 8,64%-9,89% (p<0,05) соответственно больше чем в контроле. После 12 дня опыта число эритроцитов снижается до уровня контрольных значений.

Количество гемоглобина максимально увеличивается на 5 сутки введения полисахарида подопытным животным на 9,35% (p<0,05) по сравнению с контролем. На 7 сутки опыта уровень гемоглобина в крови экспериментальных крыс на 8,43% (p<0,05) превышает контрольные значения. На 10 день эксперимента количество гемоглобина снижается, но на 5,26% (p<0,05) больше чем в контроле, а на 12 сутки опыта количество гемоглобина снижается до уровня контрольных значений.

Средняя концентрация гемоглобина в эритроцитах под влиянием полисахаридов незначительно увеличивается на 7–10 сутки эксперимента, превосходя кон-

Таблица 2. Динамика изменения численности эритроцитов, количества гемоглобина и показателей среднего объема эритроцитов, средней концентрации гемоглобина под действием полисахарида цветков календулы

Исследуемые показатели, г/л	Контроль (n=5)	3 сутки (n=5)	5 сутки (n=5)	7 сутки (n=5)	10 сутки (n=5)	12 сутки (n=5)
Эритроциты *10 <sup>12</sup> /л	5,92 (5,8; 6)	6,5* (6,43; 6,52)	7,1* (6,98; 7,2)	6,93* (6,8; 7,1)	6,4* (6,3; 6,44)	6* (5,8; 6,01)
Гемоглобин, г/л	126 (121; 127)	136* (132; 138)	139,33* (133,2; 142,1)	137,6* (132,1; 139,3)	130,67* (125; 131)	125,2* (123,1; 128,1)
Средний объём эритроцитов, fl	50,6 (49,5; 50,8)	56,3* (55,7; 57,1)	54,53* (54,1; 55,2)	54,26* (54,0; 55,1)	55,7* (55,3; 56,0)	56,76* (55,9; 56,8)
Средняя концентрация гемоглобина, г/л	372,67 (371,9; 373,1)	383,4* (383,0; 383,4)	382,6* (381,9; 383,2)	396,2* (395,8; 396,5)	391,3* (391,0; 391,5)	369,6* (369,2; 369,8)

Примечание: здесь и далее \*- статистические достоверные различия по сравнению с контролем (p<0,05).

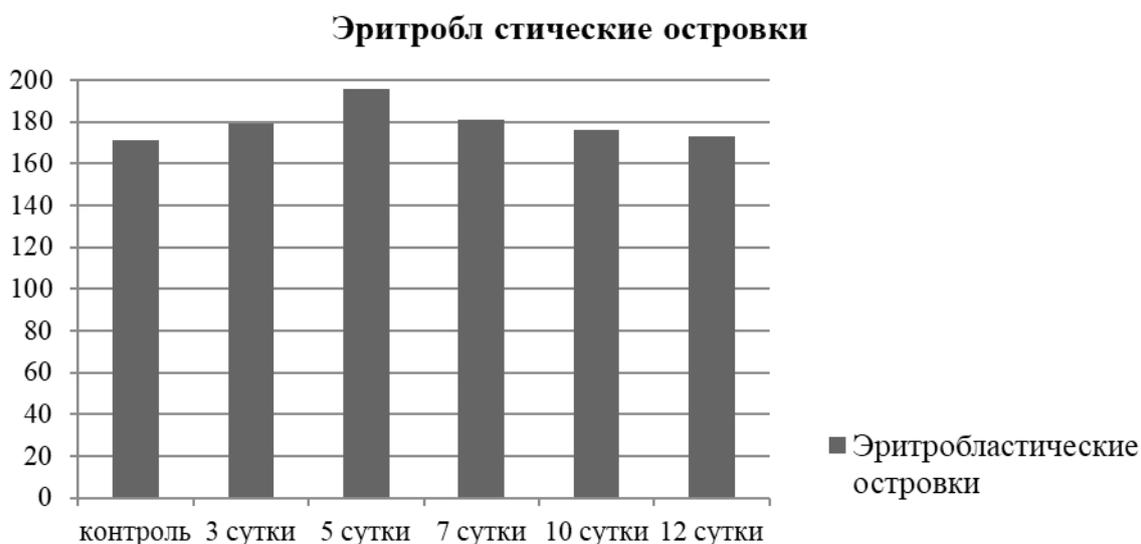


Рис. 1. Изменение общего числа эритробластических островков костного мозга крыс под действием полисахарида календулы.

контрольные значения соответственно на 3,2% (p<0,05) и на 2,95% (p<0,05), а на 12 сутки введения препарата этот показатель у подопытных крыс приходит в норму. Эти изменения отражаются на изменении среднего объема эритроцитов, который увеличивается на 5 день эксперимента на 3,86% (p<0,05), на 7 день опыта на 6,75% (p<0,05), а на 10–1,8% (p<0,05). На 12 день опыта этот показатель снижается до уровня контроля. Полученные результаты представлены в таблице № 2.

Полисахарид календулы увеличивает количество лимфоцитов в крови подопытных крыс на 3 сутки опыта на 8,18% (p<0,05) по соотношению с контролем. А на 5 сутки введения полисахарида численность лимфоцитов увеличивается максимально и на 13,22% (p<0,05) превышает контрольные показатели. После 7 суток введения полисахарида количество лимфоцитов уменьшается, и только на 3,63% (p<0,05) больше чем в контроле. На 10–12 день эксперимента под действием

Таблица 3. Изменение количества белой крови лейкоцитов, лимфоцитов, моноцитов под влиянием полисахарида цветков календулы

Исследуемые показатели, г/л	Контроль (n=5)	3 сутки (n=5)	5 сутки (n=5)	7 сутки (n=5)	10 сутки (n=5)	12 сутки (n=5)
Лейкоциты *10 <sup>9</sup> /л	8,18 (8,15; 8,2)	8,21* (8,17; 8,22)	8,93* (8,91; 9,05)	8,11* (8,06; 8,12)	6,23* (6,21; 6,25)	7,98* (7,95; 8)
Лимфоциты,%	52,1 (50; 52,2)	74,03* (72; 74,05)	75,4* (74; 75,9)	70,21* (70; 71,2)	68,66* (67,9; 68,7)	50,76* (50; 51,01)
Моноциты,%	2,9 (2,4; 3,4)	3,9* (2,9; 3,9)	3,6* (3,1; 4,1)	3,2* (2,7; 3,7)	3,1* (2,6; 3,6)	3* (2,0; 3,0)
Гранулоциты,%	45 (44,5; 45,0)	22,07* (21,07; 23,07)	21* (21; 21,05)	26,59* (25,59; 27,59)	28,24* (27,74; 28,24)	46,24* (45,74; 46,74)

Примечание: здесь и далее \*- статистические достоверные различия по сравнению с контролем (p<0,05).

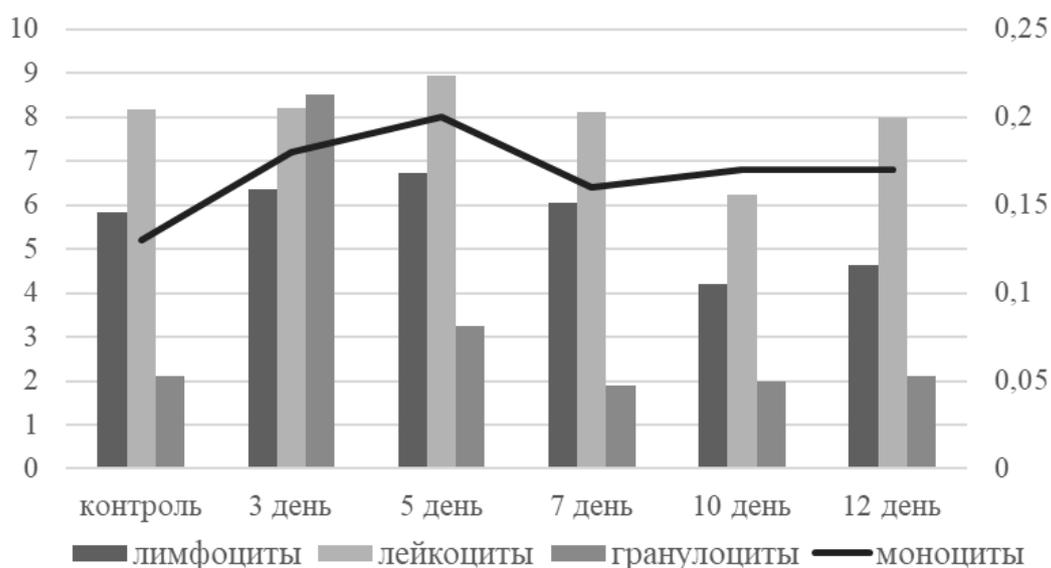


Рис. 2. Динамика изменения количества лимфоцитов, лейкоцитов, моноцитов под влиянием полисахарида цветков календулы

введения препарата количество лимфоцитов снижается и на 20,55% (p<0,05) меньше чем в контроле.

Введение полисахаридов календулы приводит к увеличению количества лейкоцитов в крови подопытных крыс максимально на 5 день опыта на 8,1% (p<0,05) по сравнению с контролем. На 7 день опыта численность лейкоцитов у экспериментальных животных снижается до уровня контроля. После 10 дня введения полисахарида количество лейкоцитов значительно уменьшается и становится на 32,76% (p<0,05) меньше

чем в контроле. После 12 суток введения препарата численность лейкоцитов в крови подопытных животных возрастает, но остается на 3,55% (p<0,05) меньше чем в контроле.

Максимальное увеличение количества моноцитов наблюдается после введения 3 доз полисахарида и на 31,2% (p<0,05), превышает контрольные значения. Введение 5,7,10,12 доз полисахарида вызывает постепенное снижение этого показателя до уровня контроля. Все полученные данные представлены в таблице № 3.

Все данные полученные по динамике изменения количества клеток белой крови здоровых животных под действием полисахарида цветков календулы представлены на рисунке № 2.

## Выводы

Нашими исследованиями впервые установлено, что полисахарид цветков календулы стимулирует процессы гемопоэза в организме здоровых животных.

1. Введение препарата полисахарида цветков календулы в организм здоровых животных стимулирует процессы кроветворения.
2. Полисахарид цветков календулы достоверно увеличивает общее количество эритробластиче-

ских островков костного мозга подопытных крыс на 5–10 сутки эксперимента.

3. Под влиянием полисахарида в крови подопытных крыс количество эритроцитов увеличивается максимально на 19,9%, а уровень гемоглобина на 10,6%.
4. Препарат полисахарида при введении в организм животных изменяет относительное содержание в крови подопытных крыс, отдельных популяций клеток белой крови:
  - ◆ общее количество лимфоцитов максимально возрастает на 5 день опыта на 13,22%;
  - ◆ численность лейкоцитов уменьшается;
  - ◆ количество моноцитов максимально увеличивается на 3 день опыта на 31,2%, превышая контроль.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Pharmacological evaluation polysaccharide complex flowers tansy / E.E. Engalycheva [et al.] // Research result: pharmacology and clinical pharmacology. 2016. Vol. 2, № 4. P. 45–54.
2. Захаров Ю.М., Рассохин А.Г. Эритробластический островок. М.: Медицина, 2002. С. 264–280.
3. Иванычева Ю.Н., Чурилов Г.И. Исследование биологически активных полисахаридов, выделенных из лекарственного растения *Geranium pretense* L., применяемого при различных нарушениях обмена веществ // Материалы научной конференции рязанского государственного медицинского университета имени академика И.П. Павлова / Ряз. Гос. мед. ун-т им. И.П. Павлова; ред. В.Г. Макарова. Рязань: РязГМУ, 2005. Ч 1. С. 20–22.
4. Йорданов Д., Николов П., Бойчинов А.С.П. Фитотерапия. София: Медицина и физкультура, 1976. 349 с.
5. Калинкина О.В., Сычев И.А. Действие полисахарида крапивы двудомной на кровь и кроветворение // Вестник ТГУ. Серия биология и экология. 2017. № 1. С. 62–67.
6. Калинкина О.В. Изменение количества эритробластических островков костного мозга крыс под действием полисахарида крапивы двудомной: // Всероссийская конференция университета с Международным участием, посвященная 70-летию основания Рязанского университета им. акад. И.П. Павлова. Рязань: РИО РязГМУ, 2013. С. 347–348.
7. Комарова Н.С., Николашкин А.Н. Плавающие лекарственные формы, характеристика, особенности состава и технологии // Наука молодых (Eruditio Juvenium). 2013. № 3. С. 80–85.
8. Коссиор Л.А., Караваева А.В., Ананьева Е.П. Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения // Четвертый Международный съезд Фитофарм 2003 (Великий Новгород, 29 июня-1 июля 2000 г.): материалы съезда. СПб., 2000. С. 168–172.
9. Криштанова Н.А. Перспективы использования растительных полисахаридов в качестве лечебных и лечебно-профилактических средств // Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация. 2005. № 1. С. 212–221.
10. Кузнецова М.А., Рыбачук И.З. Фармакогнозия. М.: Медицина, 1989. 560 с.
11. The analgesic and anti-inflammatory effects of *Portulaca oleracea* L. subsp. *Sativa* (Haw.) / K. Celak Chan [et al.] // Journal of Ethnopharmacology. 2000. Vol. 73. P. 445–451.
12. Polysaccharide biological response modifiers / M.Y.K. Leung [et al.] // Immunology Letters. 2006. Vol. 105. P. 101–114.
13. Фармакологическое действие полисахаридов некоторых плодовых и ягодных растений / В.Г. Макарова [и др.] // Вопросы диагностики и коррекции физического состояния организма / ПОД ред. Проф. М.Ф. Сауткина и проф. В.А. Кирышина. Рязань, 1996. С. 83–87.
14. Ooi V.E.C., Liu F. Immunomodulation and anticancer activity of polysaccharide protein complexes // Current Medicinal Chemistry. 2000. Vol. 7. P. 715–729.
15. Сычев И.А., Лаксаева Е.А., Калинкина О.В. Биологическая активность растительных полисахаридов // Рос. медико-биол. вестн. им. акад. И.П. Павлова. 2009. № 4. С. 143–148.
16. Изучение фармакологической активности полисахаридного комплекса цветков пижмы обыкновенной / Е.Н. Якушева [и др.] // Фундаментальные исследования. 2014. Т. 5, № 7. С. 1070–1074.

© Сироткина Дарья Сергеевна (sirotkina.dashulya@inbox.ru), Сычев Игорь Анатольевич (i.sytchev@rzgmu.ru), Черданцева Татьяна Михайловна (cherdan.morf@yandex.ru), Колосова Татьяна Юрьевна (tkkolosova@gmail.com).

Журнал «Современная наука: актуальные проблемы теории и практики»