

УДК 615.25.252.349.7:615.451.16:582.894.6

В. А. РИБАК, Л. М. МАЛОШТАН

*Національний фармацевтичний університет*

## ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ГУСТОГО ЕКСТРАКТУ КВАСОЛІ ТА ЛІКАРСЬКИХ ПРЕПАРАТІВ НА ЙОГО ОСНОВІ НА СТАН КОАГУЛЯЦІЙНОГО ГЕМОСТАЗУ У ЩУРІВ ІЗ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ 2-ГО ТИПУ

*На підставі проведених досліджень встановлено, що використання у лікуванні щурів із ЦД 2-го типу густого екстракту квасолі, таблеток «Гліфасонорм» і капсул «Гліфасолін» у порівняльному аспекті з ацетилсаліциловою кислотою і кверцетином підтвердило наявність більш виразної дії у капсул «Гліфасолін» на час згортання крові, час рекальцифікації плазми крові, протромбіновий індекс та кількість фібриногену. Таким чином, використання таблеток «Гліфасонорм» і капсул «Гліфасолін» у лікуванні ЦД 2-го типу дасть можливість попередити порушення рівноваги протромботичної і фібринолітичної властивості крові.*

*Ключові слова:* стрептозотоциновий діабет; коагуляційний гемостаз; кверцетин; ацетилсаліцилова кислота; густий екстракт квасолі; таблетки «Гліфасонорм»; капсули «Гліфасолін»

### ВСТУП

Підвищена активність тромбоцитів – це один із багатьох факторів серцево-судинного ризику при цукровому діабеті (ЦД), одна із складових розвитку метаболічного синдрому, а також важливий показник для терапевтичного втручання. У хворих з ЦД рівень таких активаторів тромбоцитів як аденозинотрифосфат (АТФ) і аденозинодифосфат (АДФ), а також ступінь агрегації тромбоцитів на 18-80 % вище, ніж у здорових осіб [1, 2, 11].

Одним із можливих механізмів підвищення рівня смертності у хворих на ЦД є підвищена схильність до розвитку повторних синдромів у разі характерних для цієї патології порушень коагуляційних властивостей крові [22].

Вплив гіперглікемії на атерогенез у судинній стінці реалізується через розвиток генералізованої дисфункції ендотелію судин і сполоху окиснювального стресу [2, 15]. Важливу роль у хворих з ЦД набувають порушення функціонально-структурних компонентів гемостазу – тромбоцитарно-судинної ланки і ферментативних систем плазми крові (згортальної, фібринолітичної, калікреїн-кінінової і комплементу) [1, 2, 4].

Підвищена агрегаційна здатність тромбоцитів у сполученні з дисфункцією ендотелію – початкові етапи у розвитку тромбозів. Порушення функції тромбоцитів у хворих з проявами метаболічного синдрому пов'язують з впливом метаболічних факторів –

гіперінсулінемії і гіперглікемії, яка, в свою чергу, викликає глікозилювання колагену судинної стінки і клітинних мембран тромбоцитів [22]. Вищевикладене диктує необхідність використання у хворих з ЦД антитромботичних засобів – антиагрегантів.

Тому актуальним при виборі антидіабетичних препаратів є не тільки їх гіпоглікемічна активність та безпека, а й екстраглікемічні ефекти – вплив на реологічні властивості крові, зниження факторів ризику кардіоваскулярних захворювань та дисліпідемію.

У якості лікарських засобів використовуються флавоноїди рутин і кверцетин, а ацетилсаліцилова кислота – у якості засобу як первинної, так і вторинної профілактики серцево-судинних захворювань [11]. Флавоноїд кверцетин, який є природним інгібітором гіалуронідази – ферменту, що підвищує проникність судинної стінки, чинить капіляропротекторну дію (зменшує проникність і ламкість капілярів), поліпшує мікроциркуляцію. Вплив кверцетину на рецепторний апарат тромбоцитів веде до зниження активності тромбоксанів, зменшує тромбогенний потенціал кров'яних пластинок [13, 14, 16].

Розробка лікарських препаратів на основі природних біофлавоноїдів є перспективним напрямком розширення арсеналу лікарських засобів політропної дії.

Метою роботи було визначення впливу густого екстракту квасолі та лікарських препаратів на його основі на реологічні показники крові щурів з експериментальним стрептозотоциновим діабетом.

© Рибак В. А., Малоштан Л. М., 2016

Для дослідження був обраний густий екстракт квасолі, отриманий доктором фармацевтичних наук, професором кафедри фармакогнозії НФаУ Ковальовим В. М., та створені на його основі таблетки «Гліфасонорм» і капсули «Гліфасолін», розроблені доктором фармацевтичних наук, професором кафедри заводської технології ліків НФаУ Дмитрієвським Д. І.

До складу густого екстракту квасолі входять фенольні сполуки, представлені флавонолами, ізофлавононами, ізофлаванонами, ізофлаванами, птерокарпанами, оксикоричними кислотами, кумаринами, амінокислотами.

Раніше проведені фармакологічні дослідження встановили наявність у таблеток «Гліфасонорм» і капсул «Гліфасолін» гіпоглікемічної активності [7], гіполіпемічних, антиатерогенних та антигіпертензивних ефектів [8].

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Експериментальні дослідження проводили відповідно до «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», що відповідають положенням «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985) [5].

Вивчення впливу густого екстракту квасолі, таблеток «Гліфасонорм», капсул «Гліфасолін», ацетилсаліцилової кислоти та кверцетину на показники згортання крові були проведені на 70 білих щурах, які були розподілені на сім груп: перша група (інтактний контроль) і 2 група (діабетичний контроль) внутрішньошлунково отримували еквівалентну кількість питної води, 3 група – ацетилсаліцилову кислоту, 4 група – кверцетин, 5 група – густий екстракт квасолі, 6 група – таблетки «Гліфасонорм» і 7 група – капсули «Гліфасолін».

Показниками I, II і III фаз згортання крові були: час зсідання, час рекальцифікації плазми, протромбіновий час та кількість фібриногену. Швидкість згортання крові визначали за методом Альтгаузена А. Я. [9] *in vitro*, час рекальцифікації – за методом Бегерхофа з використанням 0,025 М розчину  $\text{CaCl}_2$  [12], протромбіновий час – за допомогою набору реактивів «Техпластінтест», кількість фібриногену – за допомогою набору реактивів «МультиТехфібриноген» фірми «Технология-Стандарт» (Росія).

Густий екстракт квасолі, таблетки «Гліфасонорм» і капсули «Гліфасолін» дозою 40 мг/кг і референс-препарати – ацетилсаліцилову кислоту дозою 100 мг/кг і кверцетин дозою 5 мг/кг вводили перорально тваринам протягом 7 діб. Дози біологічно активних речовин, що вивчалися, та препаратів порівняння розраховували з використанням коефіцієнту видової стійкості Ю. Р. Риболовлева [10].

Нікотинамід вводили внутрішньоочеревинно в дозі 230 мг/кг маси тіла щурів за 15 хвилин до внутрішньовенної ін'єкції стрептозотоцину в дозі 65 мг/кг,

що призводило до помірної та стабільної гіперглікемії та 40 % збереження запасів панкреатичного інсуліну [18].

Отримані дані обробляли методом варіаційної статистики [6].

### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Стан нормального гемостазу потребує збереження інтактними тваринами трьох компонентів: тромбоцитів, факторів коагуляції і цілісності судинної стінки. У випадку порушення хоча б одного з компонентів активується процес, що призводить до підвищеного тромбоутворення. Численними дослідженнями підтверджено, що при ЦД 1-го та ЦД 2-го типів порушуються всі три складові, необхідні для збереження нормального згортання крові [2, 11].

У групі щурів з експериментальним стрептозототициновим діабетом відбувалося порушення показників коагуляційного гемостазу: зменшення часу згортання крові на 26,7 с та часу рекальцифікації плазми крові на 13,1 с, збільшення протромбінового часу на 4,5 с та гальмування фібриноутворення – збільшення на 5,7 г/л у порівнянні з показниками інтактних тварин (див. табл.).

При ЦД ендотелій починає активно продукувати речовини, що стимулюють адгезію і агрегацію тромбоцитів (ендотелін-1, тромбоксан  $A_2$ , фактор Вільбранда), процес згортання крові (тканинний тромбoplastин), інгібітори фібринолізу – PAI-1 та ін. У результаті тривалого впливу гіперглікемії, гемодинамічних факторів, окиснювального стресу пошкоджуються ендотеліальне вистилання судин [11, 15, 22].

Використання у лікуванні щурів із стрептозототициновим діабетом густого екстракту квасолі, таблеток «Гліфасонорм», капсул «Гліфасолін» дозою 40 мг/кг і препарату порівняння кверцетину дозою 5 мг/кг вірогідно подовжувало час згортання крові (на 14,6 с, 21,0 с 28,8 с і 6,7 с) та час рекальцифікації плазми крові (на 8,5 с, 7,4 с, 11,3 с і 5,9 с), зменшувало протромбіновий час (на 5,2 с, 3,3 с, 4,2 і 3,2 с) і рівень фібриногену (на 3,8 г/л, 4,5 г/л, 5,3 г/л і 4,8 г/л) у порівнянні з показниками тварин контрольної патології (табл.).

Препарат порівняння ацетилсаліцилової кислота у дозі 100 мг/кг на моделі стрептозототицинового діабету у щурів проявила виражені антиагрегаційні властивості – збільшувала час згортання крові на 23,9 с та час рекальцифікації плазми крові на 12,8 с, скорочувала протромбіновий час на 6,7 с і рівень фібриногену на 6,3 г/л щодо показників контрольної патології.

Густий екстракт квасолі, таблетки «Гліфасонорм» і капсули «Гліфасолін» на експериментальній моделі стрептозототицинового діабету у щурів проявили більш виражений вплив, ніж кверцетин на час згортання крові (вищий на 7,9 с, 14,3 с і 22,1 с) та час рекальцифікації плазми крові (вищий на 2,6 с, 7,4 с і

Таблиця

**ВПЛИВ ГУСТОГО ЕКСТРАКТУ КВАСОЛІ, ТАБЛЕТОК «ГЛІФАСОНОРМ», КАПСУЛ «ГЛІФАСОЛІН», АЦЕТИЛСАЛІЦИЛОВОЇ КИСЛОТИ ТА КВЕРЦЕТИНУ НА ПОКАЗНИКИ КОАГУЛЯЦІЙНОГО ГЕМОСТАЗУ У ЩУРІВ ІЗ СТРЕПТОЗОТОЦИНОВИМ ДІАБЕТОМ, (n=10), ( $\bar{x}\pm S_x$ )**

Групи тварин/мг/кг	Показники коагуляційного гемостазу			
	час згортання крові, с	час рекальцифікації плазми крові, с	протромбіновий індекс, с	фібриноген, г/л
Інтактний контроль	153,3±1,33	35,5±0,36	15,2±0,10	11,2±0,31
Контрольна патологія	126,6±1,71 $p_1<0,001$	22,4±0,37 $p_1<0,001$	19,7±0,45 $p_1<0,001$	17,9±0,48 $p_1<0,001$
Ацетилсаліцилова кислота, 100 мг/кг	150,5±1,96 $p_1,0,001$	35,2±0,36 $p_1<0,001$	13,0±0,17 $p_1<0,001$	11,6±0,22 $p_1<0,001$
Кверцетин, 5 мг/кг	133,3±2,04 $p_1<0,05$	28,3±0,63 $p_1<0,001$	16,5±0,59 $p_1<0,01$	13,1±0,21 $p_1<0,001$
Густий екстракт квасолі, 40 мг/кг	141,2±2,79 $p_1<0,01$ , $p_2<0,05$ , $p_3<0,05$	30,9±0,78 $p_1<0,001$ , $p_2<0,001$ , $p_3<0,05$	14,5±0,60 $p_1<0,001$ , $p_2<0,05$ , $p_3<0,05$	14,1±0,47 $p_1<0,001$ , $p_2<0,05$ , $p_3<0,05$
Таблетки «Гліфасонорм», 40 мг/кг	147,6±1,46 $p<0,05$ , $p_1<0,001$	29,8±0,44 $p<0,001$ , $p_1<0,001$ , $p_2<0,001$	16,4±0,28 $p<0,01$ , $p_1<0,001$ , $p_2<0,001$	13,4±0,18 $p<0,001$ , $p_1<0,001$ , $p_2<0,001$
Капсули «Гліфасолін», 40 мг/кг	155,4±2,48 $p_1<0,001$ , $p_3<0,01$	33,7±0,76 $p_1<0,001$ , $p_3<0,001$	15,5±0,45 $p_1<0,001$ , $p_2<0,001$	12,6±0,16 $p<0,01$ , $p_1<0,001$ , $p_2<0,01$

## Примітки:

- 1) p – значущість змін порівняно з групою «Інтактний контроль»;
- 2) p<sub>1</sub> – значущість змін порівняно з групою «Контрольна патологія»;
- 3) p<sub>2</sub> – значущість змін порівняно з групою «Ацетилсаліцилова кислота»;
- 4) p<sub>3</sub> – значущість змін порівняно з групою «Кверцетин».

5,4 с), протромбіновий час (нижчий на 2,0 с проявив густий екстракт квасолі; на рівні кверцетину – таблетки «Гліфасонорм»; нижчий за кверцетин на 1,0 с – капсули «Гліфасолін»).

За зниженням рівня фібриногену у крові щурів із ЦД 2-го типу таблетки «Гліфасонорм» (13,4±0,18) і капсули «Гліфасолін» (12,6±0,16) проявили ефект на рівні кверцетину (13,1±0,21), а у густого екстракту квасолі (14,1±0,47) наближалися до дії препарату порівняння.

Менш виражений вплив визначено у густого екстракту квасолі і таблеток «Гліфасонорм», ніж у ацетилсаліцилової кислоти на час згортання крові (на 9,3 с і 2,9 с) та час рекальцифікації плазми крові (на 4,3 с і 5,4 с), протромбіновий час (на 1,5 с і 3,4 с) та кількість фібриногену у крові (на 2,5 г/л і 1,8 г/л).

Капсули «Гліфасолін» чинили вплив на час згортання крові на рівні ацетилсаліцилової кислоти, а за впливом на час рекальцифікації плазми крові, на протромбіновий індекс і кількість фібриногену їх вплив наближався до дії препарату порівняння.

За літературними даними, біофлавоноїд кверцетин сприяє поліпшенню кровообігу, так як перешкоджає згущенню крові, знижуючи вірогідність утворення тромбів, пригнічуючи синтез тромбоксану. У кверцетину виявлені антикоагулянтні властивості, що пояснюють його кардіопротекторну активність.

Крім того, кверцетин пригнічує каталітичну активність тромбіну, збільшуючи час рекальцифікації [Zlukowa A. V., 1994], відновлює антиоксидантний статус, нормалізує ліпідний обмін при ЦД 1-го і ЦД 2-го типу [Швец М. І., 2006] [3, 13, 14, 16].

Квасолеві стулки містять флавоноїди – похідні кверцетину і кемпферолу: рутин, робінін, кемпферол-3-глюкокорозид, ізокверцитрин [Ковальов С. В. та співавт., 2008]. Так як до складу густого екстракту квасолі входить рутин, а він є глікозидом кверцетину, у лікарських препаратах на його основі встановлені не тільки виражені гіпоглікемічні, гіполіпідемічні, антиатерогенні та антигіпертензивні ефекти [7, 8], а й покращення реологічних властивостей крові, що є актуальним при лікуванні хворих на ЦД.

### ВИСНОВКИ

1. Використання у лікуванні щурів із ЦД 2-го типу густого екстракту квасолі, таблеток «Гліфасонорм» і капсул «Гліфасолін» у порівняльному аспекті з ацетилсаліциловою кислотою і кверцетином підтвердило наявність більш виразної дії у капсул «Гліфасолін» на час згортання крові, час рекальцифікації плазми крові, протромбіновий індекс та кількість фібриногену.
2. Таблетки «Гліфасонорм» і капсули «Гліфасолін» при лікуванні ЦД 2-го типу попереджають по-

рушення рівноваги протромботичної і фібринолітичної властивості крові.

3. Результати фармакологічних досліджень довели актуальність впровадження нових лікарських препаратів на основі густого екстракту квасолі в промислове виробництво та медичну практику як антидіабетичних засобів для застосування у комплексній фармакотерапії ЦД легкої та середньої важкості, а також ЦД 2-го типу зі схильністю до ожиріння.

#### ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Аметов А. С. Сердечно-сосудистый риск при сахарном диабете / [А. С. Аметов, Е. Я. Парнес, Н. А. Черикова и др.] // Эндокринология. – 2013. – № 2. – С. 17-26.
2. Баркаган З. С., Момот А. П. Диагностика и контролируемая терапия нарушенной гемостаза. – М.: «Ньюдиамед-АО», 2008. – 292 с.
3. Богачев В. Ю. Биофлавоноиды и их значение в ангиологии. Фокус на диосмин / [В. Ю. Богачев, О. В. Голованова, А. Н. Кузнецова и др.] // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2013. – № 19 (1). – С. 73-81.
4. Дедов И. И. Сахарный диабет: [руководство для врачей] / И. И. Дедов, М. В. Шестакова. – М., 2003. – 455 с.
5. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах // Эндокринология. – 2003. – Т. 8, № 1. – С. 142-145.
6. Иванов Ю. И. Статистическая обработка данных медико-биологических исследований / Ю. И. Иванов, О. Н. Погорелюк. – М.: Медицина, 1990. – 224 с.
7. Рибак В. А. Вивчення гіпоглікемічної активності таблеток «Гліфасонорм» і капсул «Гліфасолін» на моделі стрептозотоцинового діабету у щурів / В. А. Рибак, Л. М. Малоштан // Медична і клінічна хімія. – 2015. – Т. 17, № 3 (64). – С. 23-28.
8. Рибак В. А. Визначення гіполіпідемічних, антиатерогенних і антигіпертензивних ефектів таблеток «Гліфасонорм» і капсул «Гліфасолін» на моделі стрептозотоцинового діабету у щурів / В. А. Рибак, Л. М. Малоштан // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2015. – № 2, 3 (23). – С. 121-126.
9. Руководство к практическим занятиям по физиологии / Под ред. проф. Г. И. Косицкого и проф. В. А. Полянцева. – М.: Медицина, 1988. – С. 142-143.
10. Рыболовлев Ю. Р. Дозирование веществ для млекопитающих по константе биологической активности / Ю. Р. Рыболовлев // Журн. АН СССР. – 1979. – Т. 247, № 6. – С. 1513-1516.
11. Сахарный диабет 2 типа: скрининг и факторы риска / [Н. А. Кравчун, А. В. Казаков, Ю. И. Караченцев и др.] – Х. : Новое слово, 2010. – 256 с.
12. Справочник по клиническим лабораторным методам исследования / Под ред. проф. Е. А. Коста. – М.: Медицина, 1975. – 383 с.
13. Флавоноид кверцетин – мощное оружие против комплекса болезней цивилизации // Природная медицина. – 2013. – № 1 (13). – С. 6-9.
14. Шимановский Н. Л. Перспективы применения препаратов кверцетина для профилактики и лечения атеросклероза / Н. Л. Шимановский, А. И. Матюшин, В. С. Роговский // Природная медицина. – 2014. – № 2 (14). – С. 66-69.
15. Azuma K. Repetitive fluctuations in blood glucose enhance monocyte adhesion to the endothelium of rat thoracic aorta / [K. Azuma, R. Kowamori, Y. Toyofuku et al.] // Arterioscler. Tromb. Vasc. Biol. – 2006. – Vol. 26. – P. 2275-2280.
16. Bogachev V. Yu. Can Micronized Purified Flavonoid Fraction (MPFF) improve outcomes of lower extremity varicose vein endovenous treatment? First results from the DECISION study / V. Yu. Bogachev, O. V. Golovanova, A. N. Kuznetsov, A. O. Shekoyan // Phlebology. – 2013. – № 20 (4). – P. 181-187.
17. Cox F. L. Heart rate-corrected QT interval is an independent predictor of all-cause and cardiovascular mortality in individuals with type 2 diabetes: the Diabetes Heart Study / [F. J. Cox, A. Azeem, J. Veboah et al.] // Diabetes care. – 2014. – № 37 (5). – P. 1454-1461.
18. Kohl T. Diabetic liver injury from streptozotocin is regulated through the caspase-8 homolog cFLIP involving activation of JNK2 and intrahepatic immunocompetent cells / T. Kohl, N. Gehrke, A. Schad // Cell Death and Dis. – 2013. – doi:10.1038/cddis.2013.228.
19. Lars Ryben E. S. C. Guidelines on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases developed in collaboration with the EASD / [Ryben Lars, Peter J. Grant, Stefan D. Anker et al.] // Eur. Heart J. – 2013. – № 34. – P. 3035-3087.
20. New concepts in diabetes and its treatment / Ed. by F. Belfore and C. Mogensen. – Karger AG, 2000.
21. Vascular disease in diabetes. A report of hemovascular study group / Ed. by J. Tooke. – Servier, France, 2001.
22. Vascular endothelium. Physiology, pathology and therapeutic opportunities / Ed. by G. Born and C. Schwartz. – Schattauer Stuttgart-New York. – Germany, 1997.

**УДК 615.25.252.349.7:615.451.16:582.894.6****В. А. Рыбак, Л. Н. Малоштан****ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ГУСТОГО ЭКСТРАКТА ФАСОЛИ И ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ЕГО ОСНОВЕ НА СОСТОЯНИЕ КОАГУЛЯЦИОННОГО ГЕМОСТАЗА У КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2-ГО ТИПА**

На основании проведенных исследований установлено, что использование в лечении животных с СД 2-го типа густого экстракта фасоли, таблеток «Глифасонорм» и капсул «Глифасолин» в сравнительном аспекте с ацетилсалициловой кислотой и кверцетином подтвердило наличие более выраженного действия у капсул «Глифасолин» на время свертывания крови, время рекальцификации плазмы крови, протромбиновый индекс и количество фибриногена. Таким образом, использование таблеток «Глифасонорм» и капсул «Глифасолин» при лечении СД 2-го типа даёт возможность предупредить нарушения равновесия протромботических и фибринолитических свойств крови.

**Ключевые слова:** стрептозотоциновый диабет; коагуляционный гемостаз; кверцетин; ацетилсалициловая кислота; густой экстракт фасоли; таблетки «Глифасонорм»; капсулы «Глифасолин»

**UDC 615.25.252.349.7:615.451.16:582.894.6****V. A. Rybak, L. N. Maloshtan****THE STUDY OF THE INFLUENCE OF BEANS THICK EXTRACTS AND REMEDIES BASED ON IT ON THE CONDITION OF COAGULATION HOMEOSTASIS IN THE RATS WITH EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS TYPE 2**

On the basis of the conducted studies we have found that during the use in the treatment of the rats with diabetes type 2 the thick extract beans, pills "Hlifasonorm" and capsules "Hlifasolin" in a comparative aspect with acetylsalicylic acid and quercetin has confirmed the presence of a coherent action in capsules "Hlifasolin" on time blood clotting, blood plasma recalcification time, prothrombin index and quantity of fibrinogen. Thus, the use of pills "Hlifasonorm" and caps "Hlifasolin" in the treatment of diabetes type 2 will make it possible to prevent imbalance prothrombotic and fibrinolytic properties of blood.

**Key words:** streptozotocin-induced diabetes; coagulation hemostasis; quercetin; acetylsalicylic acid; a thick bean extract; pills "Hlifasonorm"; capsules "Hlifasolin"

Адреса для листування:  
61002, м. Харків, вул. Куликівська, 12.  
E-mail: vitarybak@mail.ru.  
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 29.09.2016 р.