

# ИЗУЧЕНИЕ ГИПОГЛИКЕМИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ГУСТОГО ЭКСТРАКТА ФАСОЛИ НА МОДЕЛИ ДИТИЗОНОВОГО ДИАБЕТА

*[В. А. Рыбак, Л. Н. Малоштан](#)*

*Национальный фармацевтический университет (г. Харьков, Украина)*

Изучено влияние густого экстракта фасоли (ГЭФ), метформина и глибенкламида на изменения массы тела, уровня глюкозы и  $HbA_{1c}$  в крови у животных на модели дитизонового диабета. Установлено, что при длительном введении (на протяжении 14-ти дней) ГЭФ, метформин и глибенкламид не оказывали влияния на секреторную способность  $\beta$ -клеток поджелудочной железы, но улучшали метаболические процессы в эритроцитах за счет снижения уровня  $HbA_{1c}$  в крови. ГЭФ является перспективным гипогликемическим средством в комплексной терапии острой инсулиновой недостаточности, а также лечения СД 2-го типа.

*Ключевые слова:* гипогликемическая активность, дитизоновый диабет, метформин, глибенкламид, густой экстракт фасоли.

---

**Рыбак Виктория Анатольевна** — кандидат биологических наук, доцент кафедры биологии Национального фармацевтического университета, г. Харьков, рабочий телефон: (057) 706-23-42, e-mail: vitarybak@mail.ru

**Малоштан Людмила Николаевна** — доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой физиологии и анатомии человека Национального фармацевтического университета, г. Харьков, рабочий телефон: (057) 706-30-73, e-mail: physio@ukrfa.kharkov.ua

---

*Введение.* Сахарный диабет (СД) 2-го типа является одним из наиболее распространенных хронических заболеваний. В настоящее время около 200 млн человек в мире страдают СД, характеризующимся ранней инвалидизацией и высокой смертностью среди больных вследствие сосудистых осложнений, вызванных СД [3]. В основе развития СД лежат два основных дефекта: инсулинорезистентность и нарушение функции  $\beta$ -клеток поджелудочной железы. Как известно, улучшение гликемического контроля имеет важнейшее значение для снижения риска микро- и макрососудистых осложнений СД, приводящих к инфарктам, инсультам. В связи с этим интенсивный подход к терапии является в настоящее время основной концепцией лечения СД. Этот подход предполагает

достижение целевых показателей компенсации углеводного обмена у больных как с впервые выявленным заболеванием, так и с диабетом различной степени тяжести [2].

Все чаще для лечения СД с осложненным патогенезом требуется комбинированная терапия. На практике наиболее распространенным вариантом комбинированной сахароснижающей терапии является сочетание синтетических препаратов и растительных сборов, диетотерапии и физических нагрузок [7, 8].

Больные на протяжении всей жизни вынуждены принимать много лекарств, которые нередко проявляют побочные эффекты (в частности нефро- и гепатотоксичность), поэтому в комплексе с антидиабетическими пероральными средствами патогенетически обосновано применение фитотерапии [6, 11].

В настоящее время в медицинской практике используют более 200 лекарственных растений с сахароснижающим эффектом. В состав растений наряду с пищевыми ингредиентами (белки, липиды, углеводы) входят и биологически активные вещества, среди которых ведущую роль играют сахароснижающие соединения (галегин, инозин, инулин). В народной и официальной медицине используют семена льна, солому овса, створки фасоли, листья (побеги) черники, корень лопуха. Установлено, что такие растения как фасоль, черника, заманиха, топинамбур, цикорий, козлятник могут использоваться как дополнительное средство при лечении СД 1-го типа или как основное лечебное и диетическое средство при СД 2-го типа [8, 11].

Большое значение имеет всестороннее фармакологическое и химическое изучение растений и биологически активных соединений, полученных из них для дальнейшей разработки и создания гипогликемических препаратов растительного происхождения. Поэтому вышеизложенное стало обоснованием для фармакологического изучения густого экстракта фасоли (ГЭФ).

Биологически активными веществами рода фасоль являются фенольные соединения, представленные флавонолами, изофлавононами, изофлаванонами, изофлаванами, птерокарпанами, оксикоричными кислотами, кумаринами, а также аминокислотами, соединениями Ni, Cr, Mo, V и Zn [7].

*Целью работы* было изучение гипогликемической активности ГЭФ на модели дитизинового диабета у кроликов.

*Методы исследования.* Экспериментальные исследования были проведены на 25-ти кроликах породы Шиншилла массой 2,5–3,0 кг в соответствии с требованиями комиссии по биоэтике и «Общих этических принципов экспериментов на животных» (Киев, 2001), что соответствует положениям «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, что используются для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1985) [1].

Дитизиновый диабет (абсолютную инсулиновую недостаточность прямого бета-цитотоксического генеза) индуцировали внутривенной инъекцией дитизона (35 мг/кг массы тела) самцам кроликам, которые предварительно голодали на протяжении 16–18 часов [1].

При изучении гипогликемической активности все животные были разделены на 5 групп (по 5 в каждой). Животные 1-й и 2-й групп (интактный контроль и диабетический контроль) внутрижелудочно получали эквивалентное количество питьевой воды, 3-й группы — препарат сравнения метформин, 4-й группы — глибенкламид и 5-й группы — ГЭФ.

При изучении влияния ГЭФ и препаратов сравнения — метформина и глибенкламида на уровень гликозилированного гемоглобина ( $HbA_{1c}$ ) все животные были разделены на 4 группы (по 5 в каждой). Животные 1-й группы (диабетический контроль) внутривенно получали эквивалентное количество питьевой воды, 2-й группы — препарат сравнения метформин, 3-й группы — глибенкламид и 4-й группы — ГЭФ.

Начиная со 2-х суток исследований, животным с дитизиновым диабетом вводили перорально (два раза в день) на протяжении двух недель ГЭФ в дозе 40 мг/кг и препараты сравнения — метформин в дозе 30 мг/кг и глибенкламид в дозе 5 мг/кг.

В качестве референс-препаратов были выбраны метформин (диаформин, табл. 0,5 г) и глибенкламид (табл. 0,005 г) производства ОАО «Фармак», Украина, в пересчете на животное [5].

Влияние ГЭФ, препаратов сравнения — метформина и глибенкламида на динамику массы тела животных с дитизиновым диабетом изучали через 3 и 14 дней исследования.

Гипогликемическую активность ГЭФ в сравнении с метформином и глибенкламидом на модели дитизинового диабета изучали при длительном введении (через 3, 5, 7, 10, 12 и 14 дней).

В качестве показателей углеводного обмена определяли в сыворотке крови животных концентрацию глюкозы (глюкозооксидазным методом при помощи наборов реактивов фирмы «Филисит-Диагностика», Украина) и  $HbA_{1c}$  (гемоглобинцианидным методом при помощи набора реактивов «Агат-Мед», Россия) [4].

Глюкозооксидазный метод (метод Drabkin) основан на реакции ее окисления в присутствии фермента глюкозооксидазы с образованием перекиси водорода, которая в свою очередь в присутствии пероксидазы окисляет ортотолидин с образованием окрашенных продуктов. О концентрации глюкозы судили по количеству окрашенных продуктов.

Гемоглобинцианидный метод заключается во взаимодействии  $Hb$  железосинеродистым калием, который окисляется в метгемоглобин, образуя гемиглобинцианид. По интенсивности окраски гемиглобинцианида оценивается содержание  $HbA_{1c}$ .

Статистическую обработку полученных результатов проводили при помощи программы «Statistica, v.6,0».

*Результаты и обсуждение.* Общее состояние животных в опытных и контрольных группах оценивали по динамике массы тела. Через 3 дня исследования после моделирования дитизинового диабета происходило снижение массы тела у животных во всех группах. У животных без лечения (контрольная патология) — на 9,1 %, получавших в лечении метформин — на 5,9 %, глибенкламид — на 3,7 % и ГЭФ — на 4,3 % по сравнению с исходными данными (табл. 1).

К концу эксперимента наибольшая потеря массы тела наблюдалась у животных контрольной группы (на 20,0 %) по сравнению с исходными данными. Согласно литературным данным, снижение синтеза и увеличение катаболизма белка способствует снижению массы тела и гипотрофии мышц при СД 1-го типа [3].

В группе животных, получавших в лечении метформин, масса тела снизилась на 14,0 %. В это же время, применение в лечении глибенкламида и ГЭФ у животных привело к незначительному снижению массы тела на 6,7 и 8,5 % по сравнению с исходными данными, что свидетельствовало о более активном поведении животных, чем

в контрольной группе, и группе животных, получавших в лечении метформин.

Таблица 1

**Влияние ГЭФ на динамику массы тела кроликов на модели дитизинового диабета (n = 5)**

Исследуемый объект/мг/кг	Динамика массы тела (кг)		
	исходные данные	через 3 дня	через 14 дней
Контрольная патология	2,65 ± 0,009	2,41 ± 0,011*	2,12 ± 0,006*
Метформин (30 мг/кг)	2,87 ± 0,008	2,70 ± 0,005*	2,47 ± 0,007*
Глибенкламид (5 мг/кг)	3,00 ± 0,005	2,89 ± 0,007*	2,80 ± 0,009*
ГЭФ (40 мг/кг)	2,58 ± 0,008	2,47 ± 0,009*	2,36 ± 0,007*

Примечание: \* —  $p < 0,001$  — достоверно по отношению к исходным данным

Уровень глюкозы в крови является интегральным показателем компенсации углеводного обмена. Поэтому состояние гликемии оценивали в динамике на протяжении всего эксперимента.

Результаты исследований показали, что через 3 дня после индуцирования дитизинового диабета у животных контрольной группы наблюдалось резкое повышение базальной гипергликемии ( $21,0 \pm 0,10$  ммоль/л), а через 5 дней и до окончания исследования происходило незначительное снижение уровня глюкозы в крови ( $20,4 \pm 0,05$  ммоль/л) (табл. 2).

Через 3 дня исследования уровень глюкозы в крови у животных, получавших в лечении метформин и глибенкламид, был высоким ( $20,8 \pm 0,09$  и  $20,7 \pm 0,11$  ммоль/л) по сравнению с исходными данными и сохранялся на протяжении 7-ми дней.

В группе животных, получавших в лечении ГЭФ, уровень глюкозы в крови повышался до 5-ти дней исследования и соответствовал  $20,0 \pm 0,13$  ммоль/л, а после 7-ми дней незначительно снижался ( $19,8 \pm 0,11$  ммоль/л).

Через 10 и 12 дней исследования происходило незначительное уменьшение уровня глюкозы в крови у животных под действием препаратов сравнения (метформина, глибенкламида) и ГЭФ.

Через 14 дней лечения животных ГЭФ наблюдалось незначительное снижение гипергликемии ( $18,7 \pm 0,09$  ммоль/л), что приближалось к показателям в группе животных, получавших глибенкламид ( $18,9 \pm 0,14$  ммоль/л), и превышало показатели в группе животных, получавших метформин ( $19,9 \pm 0,05$  ммоль/л).

Таким образом, гипогликемическая активность ГЭФ как и препаратов сравнения — метформина и глибенкламида не способствовала нормализации уровня глюкозы в крови до исходного уровня и не оказывала влияния на острую инсулиновую недостаточность у животных, вызванную блокадой инсулина в  $\beta$ -клетках поджелудочной железы.

Таблица 2

**Гипогликемическая активность ГЭФ на модели дитизинового диабета (n = 5)**

Исследуемый объект/мг/кг	Динамика содержания глюкозы (ммоль/л)						
	исходные данные	через 3 дня	через 5 дней	через 7 дней	через 10 дней	через 12 дней	через 14 дней
Интактные животные	17,8 ± 0,07	17,5 ± 0,09	17,7 ± 0,14	17,6 ± 0,10	17,9 ± 0,15	17,7 ± 0,14	17,6 ± 0,10
Контрольная патология	17,9 ± 0,14	21,0 ± 0,10	20,9 ± 0,07	20,9 ± 0,05	20,7 ± 0,11	20,6 ± 0,06	20,4 ± 0,05
Метформин (30 мг/кг)	18,5 ± 0,16	20,8 ± 0,09	20,7 ± 0,04	20,6 ± 0,06***	20,3 ± 0,07***	20,0 ± 0,07**	19,9 ± 0,05**
Глибенкламид (5 мг/кг)	17,7 ± 0,11	20,7 ± 0,11	20,4 ± 0,07**	20,2 ± 0,13**	19,8 ± 0,06**	19,3 ± 0,07*	18,9 ± 0,14*
ГЭФ (40 мг/кг)	17,3 ± 0,13	19,2 ± 0,06*/#/^	20,0 ± 0,13**/##	19,8 ± 0,11*/##	19,5 ± 0,05*/#/^	19,1 ± 0,09*/##	18,7 ± 0,09*/#

Примечание: \* —  $p < 0,001$ , \*\* —  $p < 0,01$ , \*\*\* —  $p < 0,05$  — достоверно по отношению к контрольной патологии; # —  $p < 0,001$ , ## —  $p < 0,01$ , — достоверно по отношению к метформину; ^ —  $p < 0,001$ , ^^ —  $p < 0,05$  — достоверно по отношению к глибенкламиду

HbA<sub>1c</sub> имеет прямую корреляционную зависимость с уровнем глюкозы в крови и является интегральным показателем компенсации углеводного обмена при длительном исследовании, а также характеризует состояние сердечно-сосудистой системы у больных СД. Доказано, что увеличение уровня HbA<sub>1c</sub> на 1-2 % приводит к риску развития макро- и микроангиопатий, инфаркту, повышению артериального давления, развитию инсульта [10].

На протяжении всего исследования уровень HbA<sub>1c</sub> в группе животных с дитизиновым диабетом и без лечения (контрольная патология) сохранялся повышенным (табл. 3), как и уровень глюкозы в крови (табл. 2).

У животных, леченных ГЭФ, метформинном и глибенкламидом, с гипергликемией на  $19,2 \pm 0,06$ ;  $20,8 \pm 0,09$  и  $20,7 \pm 0,11$  ммоль/л (табл. 1) через 3 дня исследований было зарегистрировано повышение HbA<sub>1c</sub> на уровне  $9,0 \pm 0,11$ ;  $8,8 \pm 0,07$  и  $9,2 \pm 0,09$  мкмоль/л (табл. 3), что референтно значению компенсированного СД [10].

Таблица 3

### Влияние ГЭФ на уровень HbA<sub>1c</sub> в крови у кроликов с дитизиновым диабетом (n = 5)

Исследуемый объект/мг/кг	Динамика содержания HbA <sub>1c</sub> (мкмоль/л)					
	через 3 дня	через 5 дней	через 7 дней	через 10 дней	через 12 дней	через 14 дней
Контрольная патология	9,0 ± 0,14	8,8 ± 0,12	8,5 ± 0,14	8,6 ± 0,10	8,7 ± 0,10	8,8 ± 0,07
Метформин (30 мг/кг)	8,8 ± 0,07	8,6 ± 0,04	8,0 ± 0,07***	7,9 ± 0,10**	7,7 ± 0,09**	7,3 ± 0,07*
Глибенкламид (5 мг/кг)	9,2 ± 0,09	8,0 ± 0,09**	6,7 ± 0,07*	6,5 ± 0,14*	6,3 ± 0,14*	6,0 ± 0,09*
ГЭФ (40 мг/кг)	9,0 ± 0,11	8,3 ± 0,10***/###	7,2 ± 0,09**/##	6,9 ± 0,10*/##	6,5 ± 0,10*/#	6,3 ± 0,12*/##

*Примечание:* \* —  $p < 0,001$ , \*\* —  $p < 0,01$ , \*\*\* —  $p < 0,05$  — достоверно по отношению к контрольной патологии; # —  $p < 0,001$ , ## —  $p < 0,01$ , ### —  $p < 0,05$  — достоверно по отношению к метформину

Через 5 дней исследований в группе животных, получавших в лечении ГЭФ и метформин, наблюдалось незначительное снижение уровня  $HbA_{1c}$  на 5,7 и 2,3 % в сравнении с контролем, но его высокий уровень в крови еще сохранялся. В этот период только под действием глибенкламида наблюдается тенденция к снижению  $HbA_{1c}$  на 9,1 % в сравнении с контролем.

Через 7 и 10 дней исследований происходило снижение уровня  $HbA_{1c}$  в крови у животных под действием метформина на 6,3 и 8,1 %, глибенкламида на 21,2 и 24,4 %, ГЭФ на 15,3 и 19,8 % в сравнении с контролем.

Через 12 и 14 дней исследований наблюдалось активное снижение уровня  $HbA_{1c}$  в крови у животных под действием глибенкламида (на 27,5 и 31,8 %) и ГЭФ (на 25,3 и 28,4 %), а под действием метформина уровень  $HbA_{1c}$  в крови у животных снижался незначительно на 11,5 и 17,0 % в сравнении с контролем.

Таким образом, можно сделать вывод, что применение ГЭФ у животных на модели дитизинового диабета снижает риск развития микро- и макроангиопатий с уменьшением  $HbA_{1c}$ , преобладает над действием метформина и уступает активности глибенкламида.

#### *Выводы*

1. В течение всего периода исследования гипогликемическая активность ГЭФ как и препаратов сравнения — глибенкламида и метформина — не привела к нормализации гликемии у животных на модели дитизинового диабета.
2. Через 7, 10, 12 и 14 дней лечения животных ГЭФ снижал уровень  $HbA_{1c}$  в крови и преобладал над действием метформина на 9,0; 11,7; 13,8 и 11,4 %, но уступал действию глибенкламида на 5,9; 4,6; 2,2 и 3,4 %.
3. ГЭФ, метформин и глибенкламид не оказывали влияния на секреторную способность  $\beta$ -клеток поджелудочной железы, но улучшали метаболические процессы в эритроцитах за счет снижения уровня  $HbA_{1c}$  в крови.
4. ГЭФ является перспективным гипогликемическим средством в комплексной терапии острой инсулиновой недостаточности, а также лечения СД 2-го типа.

#### *Список литературы*

1. Доклинические исследования лекарственных средств : методические рекомендации / Под ред. чл.-кор. НАМН Украины А. В. Стефанова. — К. : Авицена, 2001. — 528 с.
2. Джанашия Л. К. Глюкофаж — профилактика сердечно-сосудистых заболеваний при сахарном диабете / Л. К. Джанашия, Е. Ю. Мирина // Рус. мед. журн. — 2009. — № 3. — С. 14-17.
3. Каминский А. В. Сахарный диабет. Ч. 3. Инициация лечения СД 2-го типа / А. В. Каминский // Практикующему эндокринологу. — 2012. — № 5 (45). — С. 43-46.
4. Камышников В. С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике / В. С. Камышников. — М. : МЕДпресс-информ, 2009. — 889 с.
5. Рыболовлев Ю. Р. Дозирование веществ для млекопитающих по константе биологической активности / Ю. Р. Рыболовлев // Журн. АН СССР. — 1979. — Т. 247, № 6. — С. 1513-1516.
6. Gehrmann W., Ellsner M., Lenzen S. // Diabetes Obes. Metab. — 2010. — N 2. — P.

149-158.

7. Handbook of medicinal herbs / J. A. Duke, M. J. Bogenschutz-Godwin, J. du Cellier, P.-A.K. Duke. — CRC Press, Boca Raton, 2002. — 737 p.
8. Hoffmann D. Medical herbalism: the science principles and practices of herbal medicine / D. Hoffmann. — Healing Arts Press, 2003. — 672 p.
9. Jung M. Antidiabetic agents from medicinal plants / M. Jung, M. Park, H. C. Lee // *Curr. Med. Chem.* — 2006. — Vol. 13, N 10. — P. 1203-1218.
10. Depression as a risk faktor for the onset of thype 2 diabetes mellitus. A meta-analysis / M. J. Knol, J. W. Twisk, A. T. F. Bukman [et al.] // *Diabetol.* — 2006. — Vol. 49. — P. 837-845.
11. Mapanga R. F. The renal effects of blood glucose-lowering plant-derived extracts in diabetes mellitus — an overview / R. F. Mapanga, C. T. Musabayane // *Ren. Fail.* — 2010. — Vol. 32, N 1. — P. 132.

# STUDYING OF HYPOGLYCEMIC ACTIVITY OF DENSE EXTRACT OF HARICOT ON DITHIZONE MODEL OF DIABETES

*V. A. Rybak, L. N. Maloshtan*

*National Pharmaceutical University (Kharkov, the Ukraine)*

Influence of the dense extract of haricot (DEH), Metforminum and Glibenclamidum on changes of body weight, level of glucose and HbA1c in blood of animals on model of dithizone diabetes is studied. It is established that at long-lasting insertion (for 14 days) DEH, Metforminum and Glibenclamidum had no impact on secretory ability of pancreas  $\beta$ -cells, but it improved metabolic processes in erythrocytes due to depression of HbA1c level in blood. DEH is a perspective hypoglycemic agent in complex therapy of acute insulinic failure, and also treatment of DM of the 2<sup>nd</sup> type.

**Keywords:** hypoglycemic activity, dithizone diabetes, Metforminum, Glibenclamidum, dense extract of haricot.

---

## **About authors:**

**Rybak Victoria Anatolyevna** — candidate of biological science, assistant professor of biology chair at National Pharmaceutical University, office phone: (057) 706-23-42, e-mail: vitarybak@mail.ru

**Maloshtan Lyudmila Nikolaevna** — doctor of biological science, professor, head of physiology and human anatomy chair at National Pharmaceutical University, office phone: (057) 706-30-73, e-mail: physio@ukrfa.kharkov.ua

## **List of the Literature:**

1. Preclinical researches of medicines: methodical references / Under the editorship of the member correspondent of Ukraine NAMS A. V. Stefanov. — K: Avicenna, 2001. — 528 P.
2. Dzhanashiya L. K. Glucofage — prophylaxis of cardiovascular diseases at diabetes mellitus / L. K. Dzhanashiya, E. Y. Mirina // Russian medical journal. — 2009. — № 3. — P. 14-17.
3. Kaminsky A. V. Diabetes mellitus. P. 3. Initiation of treatment of DM of the 2<sup>nd</sup> type / A. V. Kaminsky // Practicing endocrinologist. — 2012. — № 5 (45). — P. 43-46.
4. Kamyshnikov V. S. Reference book on clinico-biochemical researches and laboratory diagnostics / V. S. Kamyshnikov. — M.: Medical press inform, 2009. — 889 P.
5. Rybolovlev Y. R. Dosage of substances for mammals on constant of biological activity / Y. R. Rybolovlev // Zhurn. Academy of Sciences of the USSR. — 1979. — V. 247, № 6. — P. 1513-1516.
6. Gehrman W., Ellsner M., Lenzen S. // Diabetes Obes. Metab. — 2010. — N 2. — P. 149-158.
7. Handbook of medicinal herbs / J. A. Duke, M. J. Bogenschutz-Godwin, J. du Cellier, P.-A.K. Duke. — CRC Press, Boca Raton, 2002. — 737 p.



8. Hoffmann D. Medical herbalism: the science principles and practices of herbal medicine / D. Hoffmann. — Healing Arts Press, 2003. — 672 p.
9. Jung M. Antidiabetic agents from medicinal plants / M. Jung, M. Park, H. C. Lee // *Curr. Med. Chem.* — 2006. — Vol. 13, N 10. — P. 1203-1218.
10. Depression as a risk faktor for the onset of thype 2 diabetes mellitus. A meta-analysis / M. J. Knol, J. W. Twisk, A. T. F. Bukman [et al.] // *Diabetol.* — 2006. — Vol. 49. — P. 837-845.
11. Mapanga R. F. The renal effects of blood glucose-lowering plant-derived extracts in diabetes mellitus — an overview / R. F. Mapanga, C. T. Musabayane // *Ren. Fail.* — 2010. — Vol. 32, N 1. — P. 132.