

© Коллектив авторов, 2021

УДК 612.115.3-612.115.064

Успенская М.С., Ляпина М.Г., Калугина М.Д.

Влияние на антикоагулянтную активность и степень полимеризации фибрина экстрактов из нового пиона «Иван Горожанкин» и пиона «молочноцветковый» в сравнительном аспекте

ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова»

119234, Москва, Россия, Ленинские горы, д. 1, стр. 12

Введение. Актуальность темы исследования обусловлена проблемой борьбы с тромбозами и тромбоэмболиями безопасными для организма методами. Во многих растениях обнаружены антикоагулянты разной природы (гепариноподобные, пептиды).

Цель исследования – изучение возможности проявления синергических эффектов на антикоагулянтную и фибринолитическую активность крови и процессы полимеризации фибрина экстракта из корней пиона «Иван Горожанкин» в сравнительном аспекте с действием экстракта из корней пиона «молочноцветковый».

Методика. Объектом исследования служили корни пионов «Иван Горожанкин» и «молочноцветковый», произрастающих в Ботаническом саду МГУ. Пион «Иван Горожанкин» был создан скрещиванием пиона «молочноцветкового» и «лекарственного». Разработаны методы получения экстрактов из корней различных пионов. При различных разведениях экстрактов (0,1, 1, 5%) определены антикоагулянтная активность по тестам, характеризующим внутренний, внешний и общий пути свертывания крови, а также степень полимеризации фибрина плазмы крови крыс. Для сравнения был использован стандартный препарат низкомолекулярного гепарина (LMWH) животного происхождения фирмы «Celsus» (США). Проведены выделение и очистка активного начала (гепариноидов) из сухих препаратов и измерены их активности.

Результаты. Показано, что экстракты из обоих препаратов пионов обладали антикоагулянтной и суммарной фибринолитической активностью на нестабилизированном фибрине, но в разной степени. В экстрактах из корней пиона «Иван Горожанкин» отмечались преимущественные синергические эффекты, а именно превышение антикоагулянтной активности на 20-30%, суммарной фибринолитической – на 18% по сравнению с таковыми, отмечаемыми в экстрактах из корней пиона «молочноцветковый». Подобные результаты выявлены и при изучении степени полимеризации фибрина под влиянием очищенных препаратов из пионов. Рассмотрены возможные механизмы активирующего действия экстракта из пиона «Иван Горожанкин» на антикоагулянтные свойства плазмы, суммарную фибринолитическую активность и степень полимеризации фибрина. Это связано с блокадой активности тромбина и факторов внутреннего механизма свертывания крови. При этом антикоагулянтный эффект от применения экстракта из пиона «Иван Горожанкин» по тесту АРТТ (activated partial thromboplastin time) превышал на 20-30% ту же активность, выявленную у пиона «молочноцветковый», которая соответствовала антикоагулянтной активности препарата сравнения LMWH. В экстракте из пиона «Иван Горожанкин» впервые обнаружено наличие антикоагулянтного гепариноподобного вещества.

Заключение. Впервые установлена способность экстракта из корней пиона «Иван Горожанкин» проявлять синергические антикоагулянтные и фибриндеполимеризационные эффекты, превышающие таковые у экстракта из пиона «молочноцветковый». На основе полученных данных возникает необходимость исследования пиона «Иван Горожанкин» в качестве анти-тромботического, а возможно, и антиатеросклеротического агента.

Ключевые слова: экстракт пиона; система гемостаза; тромбоз; антикоагулянт; гепариноид; синергические эффекты

Для цитирования: Успенская М.С., Ляпина М.Г., Калугина М.Д. Влияние на антикоагулянтную активность и степень полимеризации фибрина экстрактов из нового пиона «Иван Горожанкин» и пиона «молочноцветковый» в сравнительном аспекте. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2021; 65(4): 47-53.

DOI: 10.25557/0031-2991.2021.04.47-53

Для корреспонденции: Успенская Марианна Сергеевна, e-mail: lyapinal@mail.ru

Участие авторов: концепция и дизайн исследования – Успенская М.С.; написание текста – Ляпина М.Г.; редактирование – Калугина М.Д.; определение параметров крови – Ляпина М.Г., Калугина М.Д. Утверждение окончательного варианта статьи – все авторы.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 20.12.2020

Принята к печати 02.11.2021

Опубликована 20.12.2021

Uspenskaya M.S., Lyapina M.G., Kalugina M.D.

Comparative effects on anticoagulant activity and degree of fibrin polymerization of extracts from the new peony «Ivan Gorozhankin» and «*Paeonia lactiflora*»M.V. Lomonosov Moscow State University,
Leninskie Gory 1, Bld. 12, Moscow 119234, Russian Federation

Introduction. The research topic is relevant due to the problem of safely combating thrombosis and thromboembolism. Anticoagulants of various kinds, e.g., heparin-like and peptides, have been found in many plants. **Aim.** To investigate the possibility of synergistic effects on the blood anticoagulant and fibrinolytic activity and on processes of fibrin polymerization by an extract from the roots of the «Ivan Gorozhankin» peony compared with the root extract from «*Paeonia lactiflora*».

Methods. The focus of the study was the roots of the “Ivan Gorozhankin” peony and the *Paeonia lactiflora* growing in the Botanical Garden of the Moscow State University. The “Ivan Gorozhankin” peony was created by crossing *P. lactiflora* and the “medicinal” peony. Methods for obtaining extracts from the roots of various peonies have been developed. In 1%, 3%, and 5% dilutions of the extracts, the anticoagulant activity was determined according to tests characterizing the internal, external and general blood coagulation pathways, as well as by the degree of polymerization of rat blood plasma fibrin. For comparison, we used a standard preparation of low molecular weight heparin (LMWH) of animal origin (Celsus, USA). Isolation and purification of the active substances, heparinoids, were isolated from dry preparations and purified, and their activities were measured.

Results. Extracts from both peony preparations had anticoagulant and total fibrinolytic activity on unstabilized fibrin, but to different extents. In the extracts from the roots of the “Ivan Gorozhankin” peony, preferential synergistic effects were noted, namely, the anticoagulant activity was higher by 20-30%, and the total fibrinolytic activity was higher by 18% compared to those of extracts from *Paeonia lactiflora* roots. Similar results were obtained when studying the degree of fibrin polymerization as influenced by purified peony preparations. Possible mechanisms of the activating action of the «Ivan Gorozhankin» peony extract on the anticoagulant properties of plasma, the total fibrinolytic activity, and the degree of fibrin polymerization are considered. This action is due to the inhibition of thrombin activity and factors of the internal mechanism of blood coagulation. According to the activated partial thromboplastin time (APTT) test, the anticoagulant effect of extracts from the «Ivan Gorozhankin» peony exceeded by 20-30% the activity of *Paeonia lactiflora* extract, which corresponded to the anticoagulant activity of the LMWH comparator drug. Using the described biochemical methods, the presence of an anticoagulant heparin-like substance in an extract from the peony «Ivan Gorozhankin» has been discovered.

Conclusion. For the first time, the ability of an extract from the roots of the «Ivan Gorozhankin» peony to exhibit synergistic anticoagulant and fibrin-depolymerization effects was demonstrated. These effects exceeded those of the *Paeonia lactiflora* extract. Based on these data, it appears necessary to study the «Ivan Gorozhankin» peony as an antithrombotic, and possibly as an anti-atherosclerotic agent.

Keywords: peony extract; hemostasis system; thrombosis; anticoagulant; heparinoid; synergistic effects

For citation: Uspenskaya M.S., Lyapina M.G., Kalugina M.D. Comparative effects on anticoagulant activity and degree of fibrin polymerization of extracts from the new peony «Ivan Gorozhankin» and «*Paeonia lactiflora*». *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy Journal)*. 2021; 65(4): 47-53. (in Russian).

DOI: 10.25557/0031-2991.2021.04.47-53

For correspondence: *Marianna S. Uspenskaya*, cand. of Biol. Scien., senior scientific researcher Ph.D. in Biology, Principal Researcher Botanical Garden of M.V. Lomonosov Moscow State University, e-mail: lyapinal@mail.ru

Contribution: concept and design of the study – Uspenskaya M.S.; writing of the text – Lyapina M.G.; editing – Kalugina M.D.; determination of blood parameters – Lyapina M.G., Kalugina M.D. Approval of the final version of the article – all authors.

Conflict of interest. The authors declare that there is no conflict of interest.

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

Received 20.12.2020

Accepted 02.11.2021

Published 20.12.2021

Введение

Нормальный гемостаз обеспечивается регуляторными взаимоотношениями свертывающей и противосвертывающей систем крови [1]. В случае нарушения этих взаимоотношений возможно возникновение тромботических осложнений. Для борьбы с ними

в настоящее время используются новые оральные антикоагулянты непрямого действия [2], которые по скорости действия уступают прямым низкомолекулярным гепаринам (LMWH). В то же время препараты LMWH относительно безопасны и не вызывают кровоточивости [3]. Получают эти препараты или путем деполиме-

ризации высокомолекулярного гепарина животного происхождения, или непосредственно из тканей животных (свиней, крупного рогатого скота). Отмечается, что LMWH проявляет значительную антитромботическую активность. Обычно эти препараты применяют подкожно или внутривенно [4]. Значительный интерес представляет поиск пероральных препаратов растительной природы. Известно, что многие растения служат источником лекарственного сырья для получения антикоагулянтов, фибринолитиков и тромболитиков [5-8].

Некоторые растения содержат компоненты, являющиеся составной частью гепарина и других гликозаминогликанов [9, 10]. Из коры березы был получен антикоагулянт гепариновой природы, который ингибировал активность фактора Ха и тромбина [11]. В корнях травянистых пионов также обнаружено гепариноподобное вещество, оказывающее антикоагулянтное действие в исследованиях *in vitro* и при внутривенном введении животным [12]. На современном уровне борьбы с Covid-19 препаратам LMWH отводится особая роль, поскольку они активно применяются при этом заболевании. Разработка препаратов LMWH разной природы без побочных отрицательных эффектов приобретает в настоящее время значение особой актуальности.

Цель работы – изучение возможности проявления синергических эффектов на антикоагулянтную и фибринолитическую активность крови и процессы полимеризации фибрина экстракта из корней пиона «Иван Горожанкин» в сравнительном аспекте с действием экстракта из корней пиона «молочноцветковый».

Методика

Использованы крысы-самцы Wistar массой 220-250 г, выращенные в питомнике станции «Столбовая» Московской области. До начала экспериментов и в период проведения опытов животные находились на стандартном лабораторном рационе и содержались в условиях вивария биологического факультета МГУ при свободном доступе к воде и пище с соблюдением 12-часового светового режима дня. Все эксперименты осуществлялись в соответствии с этическими принципами и документами, соответствующими требованиям Директивы ЕС 2010/63/ЕС (используется в научных целях с 1 января 2013 г.) для экспериментов на животных. Исследование одобрено локальным Комитетом по этике биомедицинских исследований Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова (протокол № 97а от 30 октября 2019 г.).

В качестве препаратов использовали экстракты из травянистых пионов «Иван Горожанкин», который

был получен в результате скрещивания «*Paeonia peregrina* Mill» (лекарственного) с «*Paeonia lactiflora* Pall» (молочноцветковый), Корни пионов (*lactiflora* и *Горожанкин*) были получены из экологически чистых растений, произрастающих в Ботаническом саду МГУ (Москва, Россия). Виды пионов определяли сотрудники Ботанического сада МГУ под руководством М.С. Успенской. Сырье заготавливали в осенний период (с конца августа до середины октября) и хранили при температуре +3-5 °С. Для экспериментов готовили исходный 5%-й экстракт из сухих чистых корней, которые растирали в фарфоровой ступке до порошкообразного состояния. В экстракте определяли наличие гепариноподобных компонентов (ГП) [12] с использованием фотоэлектроколориметрического метода при применении Азура А (красителя на гепарин) и протаминсульфата (ингибитора гепарина). ГП из обоих видов пионов растворяли в физиологическом растворе натрия хлорида (по 0,5 мг в 0,5 мл NaCl), подобные образцы содержали от 37,5 МЕ до 40 МЕ гепарина. Далее экстракты, содержащие ГП, разводили в 5 и 50 раз, и исследовали на наличие антикоагулянтно-фибринолитической активности и изменение степени полимеризации фибрина. Препаратом сравнения служил LMWH фирмы «Celsus» (США). Для проведения исследований кровь у крыс брали из яремной вены (*vena jugularis*). Использовали анестезию телазолом (общепринятый метод для взятия крови у животных). В качестве консерванта использовали 3,8% цитрат натрия в соотношении 9:1. Для получения бедной тромбоцитами плазмы кровь центрифугировали при 3000 g в течение 10-12 мин.

Проведено 2 серии. В 1-й серии исследовали экстракты растений в одинаковых концентрациях (5, 1 и 0.1%). Во 2-й серии производили выделение и очистку гепариноидов из сухих препаратов по методу М.Г. Ляпиной [12]. К плазме крови (0.2 мл) добавляли по 0.05 мл экстрактов каждого разведения (1-я серия), или в том же объеме растворы очищенных препаратов ГП (2-я серия). Пробы инкубировали в течение 10-12 мин при 37 °С, после чего их использовали для проведения анализов. По каждому разведенному образцу плазмы с экстрактами или очищенными препаратами ГП делали от 5 до 7 повторов.

Для характеристики параметров фибринолитического звена противосвертывающей системы (ПСС) крови готовили пластины нестабилизированного фактором XIIIa фибрина, характеризующиеся наличием непрочных водородных связей в растворимом фибрин-полимере. В плазме крови определяли следующие биохимические параметры гемостаза: на нестабилизированных фибриновых пластинах – суммар-

ную фибринолитическую активность (SFA), включающую активность комплексов гепарина с компонентами плазмы крови и активность плазмина; степень полимеризации под влиянием препаратов измеряли в тесте фибриндеполимеризационной активности (FDPA), отражающей процессы деполимеризации фибрина; Об антикоагулянтной активности плазмы судили по увеличению времени свертывания в тестах активированного частичного тромбопластинового времени (АРТТ), характеризующему внутренний механизм свертывания крови, протромбинового времени (РТ), относящегося к внешнему пути свертывания, и тромбинового времени (ТТ), отражающему общий путь свертывания крови. Кроме того, проводили измерение концентрации фибриногена [1].

Статистический анализ данных осуществляли, используя пакет статистических программ Statistica 8 (StatSoft Inc., США), а также графических программ Microsoft Excel. Эмпирические распределения проводили с использованием критерия Шапиро–Уилка. Для полярного сравнения независимых групп применяли непараметрический критерий Манна–Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p < 0.05$.

Результаты

Как видно из **таблицы 1**, при разных разведениях экстрактов из корней пионов «*Иван Горожанкин*» (ЭПГ) или «*молочноцветковый*» (ЭПМ) отмечается увеличение параметров АРТТ, ТТ и РТ по сравнению с контролем, где вместо экстрактов к плазме крови был добавлен физиологический раствор NaCl. При сравнении действия обоих экстрактов выявлен наибольший антикоагулянтный эффект у ЭПГ. При этом АРТТ увеличивалось на 19–25–46% под влиянием ЭПМ и на 26–55–66% при действии ЭПГ, РТ – на 13–30–42% (ЭПГ) и на 13–19–22% (ЭПМ) соответственно, а ТТ соответственно – на 17–19–20% (ЭПГ) и 17–16% (ЭПМ).

SFA увеличилась на 41–53–70% (ЭПГ), а при действии ЭПМ в разных концентрациях только на 12–18%. Особый интерес представляет изменение степени полимеризации фибрина по тесту FDPA, которая по сравнению с контролем повышалась при действии каждого из экстрактов на 50–116% с максимальными значениями после действия ЭПГ. Концентрация фибриногена в обоих случаях не имела статистически значимых изменений, хотя следует отметить тенденцию к снижению, особенно при действии ЭПГ.

Итак, максимальные изменения после воздействия экстрактов из пионов по сравнению с контролем отмечались у пиона «*Иван Горожанкин*». Значительные от-

личия от контроля в этих условиях обнаружены по активности FDPA, которая также существенно превысила контрольный уровень (**табл. 1**).

Вторая серия экспериментов предусматривала выделение из экстрактов очищенного гепариноподобного компонента и определение его антикоагулянтной активности по тестам АРТТ, ТТ и FDPA (**табл. 2**). Выделение ГП осуществляли из 5%-ных экстрактов корней пионов, при этом содержание ГП в них составляло от 37.5 до 40 мкг//мл. Готовили раствор коммерческого препарата, содержащего 40 мкг в мл физиологического раствора.

У гепариноидов из пионов (ГПГ, ГПМ) была увеличена антикоагулянтная активность по тесту АРТТ и незначительно по тесту ТТ с максимальными показателями у ГПГ. Препарат сравнения повышал АРТТ, но не изменял ТТ, что характерно для LMWH. Однако, в препарате ГПГ все же отмечается тенденция к повышению ТТ, что указывает на ингибирование тромбина этим препаратом, видимо, за счет дополнительных компонентов, которые подлежат дальнейшему изучению. Это же можно сказать и в отношении влияния препаратов на степень полимеризации фибрина: стандартный коммерческий LMWH ее не изменял, в то время как исследуемые растительные гепариноиды снижали степень полимеризации фибрина, обладая достаточной фибриндеполимеризационной активностью.

Обсуждение результатов

Анализируя полученные результаты, необходимо отметить, что экстракт из корней пиона молочноцветкового, как и LMWH [13], оказывает не только антикоагулянтный эффект, но и фибриндеполимеризационное действие. По данным литературы при действии других растительных антикоагулянтов [14] выявлено их фибринолитическое действие. Нами впервые установлен факт, что растительный гепариноид из пиона «*Иван Горожанкин*» препятствует полимеризации фибрина, вследствие чего увеличивается его FDPA в плазме крови более чем на 50–60%. Ранее [15] сообщалось об ограничении взаимодействия тромбина с фибриногеном под влиянием ингибиторов растительного происхождения, что мы и наблюдали в наших исследованиях. Возможными механизмами активирующего действия экстракта из пиона «*Иван Горожанкин*» на антикоагулянтные свойства плазмы и суммарную фибринолитическую активность является блокада активности фермента тромбина и факторов внутреннего механизма свертывания крови. При этом антикоагулянтный эффект по тесту АРТТ при применении экстракта из корней пиона «*Иван Горожанкина*» превышал

на 20–30% ту же активность у пиона *молочноцветкового*. Экстракт из корней пиона *молочноцветкового* был равноценен по антикоагулянтной активности препарату сравнения LMWH. Установлена способность экстракта из пиона «Иван Горожанкин» снижать степень полимеризации фибрина, о чем свидетельствует высокая фибриндеполимеризационная активность. По данным биохимического метода с использованием ингибиторов гепарина и изменением метахромазии обнаружено наличие гепариноподобного вещества в экстракте из пиона «Иван Горожанкин». Этот гепариноид представляет фармакологический интерес в плане его применения для профилактики заболеваний, осложняющихся тромбозами.

Многие растения обладают способностью модифицировать гемостаз. Антикоагулянтная активность извлечений из растений обусловлена содержанием в них гликопептидов, механизм действия которых имеет сходство с N-концевыми аналогами участка а-цепи фибриногена, ограничивающими ферментативное превращение фибриногена в фибрин. Интересен тот факт, что антикоагулянты растительного происхождения по механизму действия принципиально отличаются от используемых в настоящее время прямых антикоагулянтов [15], они не обладают выраженным токсическим действием на организм лабораторного животного и вызывают продолжительную гипокоагулемию. Таким образом, можно заключить, что остается акту-

Таблица 1/Table 1

Изменение временных интервалов свертывания плазмы с включением экстрактов из корней пионов «Иван Горожанкин» (ЭПГ) или «молочноцветковый» (ЭПМ) по тестам АРТТ, РТ, ТТ и степени полимеризации фибрина по тесту FDPA, а также концентрации фибриногена, ($M \pm m$)

Changes in plasma coagulation time intervals with the inclusion of extracts from the roots of Ivan Gorozhankin peonies (EPG) or *Paeonia lactiflora* (EPL) according to APTT, PT, TT tests and the degree of fibrin polymerization according to the FDPA test and fibrinogen concentration ($M \pm m$)

Показатели крови при концентрациях экстрактов в плазме – 5%, 1% и 0,1% Blood parameters at concentrations of extracts in plasma – 5%, 1%, 0.1%	Экстракты из Extracts from		Контроль 0,85%-й раствор натрия хлорида The Control 0.85% sodium Chloride solution
	корней пиона «Иван Горожанкин» (peony roots «Ivan Gorozhankin» (EPG))	корней пиона «молочноцветковый» (ЭПМ) peony roots <i>lactiflora</i> (EPL)	
АРТТ, с (%) <i>APTT</i> (sec, %)			
5%	52,7±0,8** (166%)	44,5±1,4** (146%)	31,6±1,7 (100%)
1%	49,0±0,6 (155%)	39,7±1,4** (125%)	
0,1%	40,0±1,4** (126%)	37,6 ±2,0** (119%)	
РТ, с (%) <i>PT</i> (sec, %)			
1. 5%э	42,7±0,8** (142%)	36,5±1,4** (122%)	30,0±0,7 (100%)
2. 1%	39,0±0,6** (130%)	35,7±1,4** (119%)	
3. 0,1%	34,0±1,4 (113%)	34,0±0,9 (113%)	
ТТ, с (%) <i>TT</i> (sec, %)			
1. 5%	34,0±1,1 (120%)	33,0±0,9 (116%)	28,3±1,5 (100%)
2. 1%	33,5±1,0 (118%)	33,0±0,9 (116%)	
3. 0,1%	33,4±0,9 (117%)	33,1±0,9 (117%)	
<i>SFA</i> (мм ² , %) <i>SFA</i> (mm ² , %)			
1. 5%	72,0±1,2** (170%)	64,5±1,1* (152%)	423±1,3 (100%)
2. 1%	65,0±10,0 (153%)	60,0±1,1** (141%)	
3. 0,1%	60,0±11,3 (141%)	54,5±8,3 (129%)	
FDPA, мм ² (%) <i>FDPA</i> (mm ² , %)			
1. 5%	26,0±1,1** (216%)	20,9±1,3** (175%)	12±1,1 (100%)
2. 1%	25,0 ±1,1** (208%)	20,0±1,0** (166%)	
3. 0,1%	20,0 ±1,1** (166%)	18,0±0,8* (150%)	
Концентрация фибриногена, мг, % (Fibrinogen concentration, mg, %)			
1. 5%	182,0±13,2* (86%)	190,0±9,8 (90,4%)	210±7,0 (100%)
2. 1%	184,0±5,2 (88%)	190,3±9,8 (90,4%)	

Примечание. Статистические показатели рассчитаны относительно соответствующих проб контроля, принятых за 100%. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$. Обозначения: АРТТ – активированное частичное тромбопластиновое время, РТ – протромбиновое время, ТТ – тромбиновое время, SFA – суммарная фибринолитическая активность, FDPA – фибриндеполимеризационная активность.

Note. Statistical comparisons were made relative to the corresponding control samples taken as 100%. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; APTT, activated partial thromboplastin time; PT, prothrombin time; TT, thrombin time; SFA, total fibrinolytic activity, FDPA, fibrin-depolymerizing activity.

Таблица 2/Table 2

Антикоагулянтная активность (по тестам АРТТ и ТТ), степень полимеризации по тесту FDPА гепариноподобного компонента из корней пиона «Иван Горожанкин» (ГПГ) и «молочноцветковый» (ГПМ) сравнительно с препаратом LMWH «Celsus»

Anticoagulant activity (APTT and TT tests) and the degree of fibrin polymerization (FD test) of the heparin-like component from the roots of the peony «Ivan Gorozhankin» (HPG) and *Paeonia lactiflora* (HPL) compared with the LMWH

Показатели крови Blood parameters	ГПГ (HPG)	ГПМ (HPL)	Препарат сравнения «Celsus» (Comparison drug «Celsus»)	Контрольная плазма (Control blood plasma)
Антикоагулянтная активность (с, %) Anticoagulant activity (sec, with (%))				
по тесту АРТТ according to the АРТТ	40,5±1,8** (128,5%)	40,5±1,4** (128,5%)	42,0±1,1** (132,6%)	31,6 ±1,7 (100%)
по тесту ТТ test according to the test TT	31,0±1,1 (110%)	30,0±0,9 (107%)	29,0±0,9 (102%)	28,3±1,5 (100%)
Степень полимеризации (мм ² , %) Degree of polymerization				
FDPА, (мм ² , %) FDPА, (mm ² , %)	26,0 ±1,1** (216%)	20,5±1,4** (170%)	12,5±1,4** (102%)	12±1,1 (100%)

Примечание. Статистические показатели рассчитаны относительно соответствующих проб контроля, принятых за 100%. **p* < 0.05; ** *p* < 0.01.
Note. Statistical comparisons were made relative to the corresponding control samples taken as 100%. **p* < 0.05; ** *p* < 0.01.

альным поиск и изучение новых средств направленного воздействия на гемостаз, оказывающих быстрый и достаточно продолжительный эффект, т.е. новых антикоагулянтов прямого действия. Значительное место в этих исследованиях занимают растения, прежде всего потому, что содержащиеся в них фармакологически активные соединения прошли через своеобразный биологический фильтр и вследствие этого, по сравнению с синтетическими, отличаются наиболее благоприятным воздействием на организм человека.

Заключение

Впервые установлена способность экстракта из корней пиона «Иван Горожанкина» проявлять синергические антикоагулянтное и фибриндеполимеризационные эффекты, превышающие таковые у экстракта из корней пиона «молочноцветковый» в тех же концентрациях.

Исследованный нами гепариноид из пиона «Иван Горожанкин» обладает как ингибирующим эффектом на внутренний механизм свертывания, так и, возможно, антитромботической активностью.

Литература

(п.п. 2; 4-9; 13; 14 см. References)

1. Ляпина Л.А., Григорьева М.Е., Оберган Т.Ю., Шубина Т.А. *Теоретические и практические вопросы изучения функционального состояния противосвертывающей системы крови.* М.; Адвансед Солюшнз. 2012.
3. Кричевский Л.А. Низкомолекулярные гепарины в современной системе управления свертываемостью крови. *Анестезиология и реаниматология. Медицинская реабилитация.* 2015; 117(16): 42–8.

10. Криштанов Н.А., Сафонова М.Ю., Болотова В.Ц., Павлова Е.Д., Саканян Е.И. Перспективы использования растительных полисахаридов в качестве лечебных и лечебно-профилактических средств. *Вестник ВГУ, сер. Биология. Химия. Фармация.* 2005; 1: 212–21.
11. Кузнецова С.А., Дрозд Н.Н., Кузнецов Б.Н., Макаров В.А., Левданский В.А., Мифтаков Н.Т. Антикоагулянтное, средство Патент № 2399377. Россия. 2009.
12. Ляпина М.Г., Успенская М.С., Майстренко Е.С. О механизме антикоагулянтного действия экстракта из корней пиона молочноцветкового. *Межд. журн. прикл. и фундамент. исследований.* 2016; 11: 1091–93.
15. Бышевский А.Ш., Галян С.Л., Калинин Е.П., Карпова И.А., Русакова О.А., Самойлов М.А. и др. Ингибиторы самосборки фибрина растительного происхождения. *Медицинская наука и образование Урала.* 2012; 13(1): 163-70.

References

1. Lyapina L.A., Grigorieva M.E., Obergan T.Yu., Shubina T.A. *Theoretical and practical issues of studying the functional state of the Anticoagulant, blood system. [Teoreticheskie i prakticheskie voprosy izucheniya funktsional'nogo sostoyaniya protivosvertvyayushchey sistemy krovi].* Moscow: Advanced Solutions. 2012. (in Russian)
2. Buerke M., Hoffmeister H.M. Management of NOAK administration during invasive or surgical interventions. When and how to pause and when to restart? *Med Klin Intensivmed Notfmed.* 2017; 112(2): 105–10. Epub 2017 Jan 10
3. Krichevsky L.A. Low Molecular weight heparins in the modern blood coagulation control system. *Anesthesiology and resuscitation. Medical rehabilitation.* 2015; 15(116) – № 16(117): 42-8. (in Russian)
4. Xiao C., Lian W., Zhou L., Gao N., Xu L., Chen J., et al. Interactions between depolymerized fucosylated glycosaminoglycan and coagulation proteases or inhibitors. *Thromb Res.* 2016. 146. 59–68. <http://doi.org/10.1016/j.thromb.2016.08.027>. Epub 2016 28 avg
5. Ustyuzhanina N.E., Bilan M.I., Gerbst A.G., Ushakova N.A., Tsvetkova E.A., Dmitrienko A.S., et al. Anticoagulant and antithrombo-

- tic activity of modified xylophone sulfate from the brown Alga *Punctaria plantaginea*. *Carbohydr. Polym.* 2016; 136: 826–33. <http://doi.org/10.1016/j.carboh.2015.09.102>. Epub 2015
6. Bilan M.I., Shashkov A.S., Usov A.I. Structure of a sulfated xylofucan from the brown alga *Punctaria plantaginea*. *Carbohydr Res.* 2014; 393: 1–8. Epub 2014 May 10
 7. Wu M., Xu L., Zhao L., Xiao C., Gao N., Luo L., et al. Structural analysis and anticoagulant activities of the novel sulfated fucan possessing a regular well-defined repeating unit from sea cucumber. *Mar. Drugs.* 2015; 13(4): 2063–84. <http://doi.org/10.3390/md13042063>
 8. Zhang S.B. In vitro antithrombotic activities of peanut protein hydrolysates *Food Chem.* 2016; 202: 1–8. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.108>. Epub 2016 27 yanv
 9. Pomin V.H., Mourão P.A. Specific sulfation and glycosylation—a structural combination for the anticoagulation of marine carbohydrates. *Front Cell Infect Microbiol.* 2014; 4 (33). Epub 2014 Mar 6
 10. Krishtanov N.A., Safonova M.Yu., Bolotova V.Z., Pavlova E.D., Sakanian E.I. Perspektivi ispolzovania rastitelnykh polisacharidov v kachestve lechebnykh i lechebno-profilacticheskikh sredstv. *Vestnik VGU, ser. Biologia. Chimia. Farmacia.* 2005; 1: 212–21. (in Russian)
 11. Kuznetsova S.A., Drozd N.N., Kuznetsov B.N., Makarov V.A., Levdansky V.A., Miftakhov N.T. *Anticoagulant remedy*. 2009; Patent No. 2399377. Russia. (in Russian)
 12. Lyapina M.G., Uspenskaya M.S., Maystrenko E.S. O mekhanizme antikoagulantnogo deistvia ekstrakta iz korney pionia molochnozvetkovogo *Mekhdunar.churnal prikladnich i fundamentalnich issledovaniy.* 2016; 11: 1091–93. Russia. (in Russian)
 13. Van Montfoort M L., Meijers J.C. Anticoagulation beyond direct thrombin and factor Xa inhibitors: indications for targeting the intrinsic pathway. *Thromb. Haemost.* 2013; 110(2): 223–32. <http://doi.org/10.1160/TH12-11-0803>. Epub 2013 6 Jun
 14. Nsimba M.M., Yamamoto C., Lami J.N., Hayakawa Y., Kaji T. Effect of a Congolese herbal medicine used in sickle cell anemia on the expression of plasminogen activators in human coronary aortic endothelial cells culture. *J. Ethnopharmacol.* 2013; 146(2): 594–99. <http://doi.org/10.1016/j.ethnoph.2013.01.031>. Epub 2013
 15. Byshevsky A.Sh., Galyan S.L., Kalinin E.P., Karpova I.A., Rusakova O.A., Samoïlov M.A., et al. Inhibitors of self-Assembly of fibrin of plant origin. *Medical science and education of the Urals.* 2012; 13(1): 163–70. (in Russian)

Сведения об авторах:

Успенская Марианна Сергеевна, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. Ботанического сада биологического факультета МГУ, e-mail: ms-uspenskaya@yandex.ru;

Ляпина Маргарита Григорьевна, вед. специалист лаб. защитных систем крови им. проф. Б.А. Кудряшова кафедры физиологии человека и животных биологического факультета МГУ, e-mail: lyapinal@mail.ru;

Калугина Марина Дмитриевна, науч. сотр. лаб. защитных систем крови им. проф. Б.А. Кудряшова кафедры физиологии человека и животных биологического факультета МГУ, e-mail: laboratory7@mail.ru