

ИЗУЧЕНИЕ САХАРОСНИЖАЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ ЛИПОСОМАЛЬНОЙ ФОРМЫ ФУМАРАТА 3-ГИДРОКСИПИРИДИНА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Уланова Т.В., Инчина В.И., Худойкина С.В., Семенова Е.В., Семенов А.В.

ФГБОУ ВПО «Мордовский национально-исследовательский университет им. Н.П. Огарева», Саранск, e-mail: tatyana_304@mail.ru

Изучалась гипогликемическая активность липосомальной формы нового препарата с антиоксидантной активностью из группы 3-гидроксипиридина – фумарата 3-гидроксипиридина на экспериментальной модели стероидного диабета. Исследование проведено на 60 белых нелинейных крысах массой 180-220 г, содержащихся в стандартных условиях вивария. Стероидный диабет моделировали внутримышечным введением дексаметазона фосфата из расчета 800 мкг/кг, после чего животным опытных групп одновременно с инъекциями дексаметазона на протяжении 15 суток вводили сравниваемые соединения. Определение уровня глюкозы в крови подопытных животных проводили с помощью электронного глюкометра. В рамках исследования получены данные, свидетельствующие о выраженной гипогликемической активности фумарата 3-гидроксипиридина и его липосомальной формы, что подтверждалось улучшением внешних признаков и отсутствием летальности животных, получавших исследуемое соединение.

Ключевые слова: диабет, гипергликемия, производные 3- гидроксипиридина

STUDY OF GLUCOSE-LOWERING ACTIVITY OF LIPOSOMAL FORM OF FUMARATE 3-HYDROXYPYRIDINE IN EXPERIMENT

Ulanova T.V., Inchina V.I., Khudoykina S.V., Semenova E.V., Semenov A.V.

FGBOU VPO "Mordovia National Research University. N.P. Ogarev ", Saransk, e-mail: tatyana_304@mail.ru

Studied the hypoglycemic activity of liposomal form a new drug with antioxidant activity from the group of 3-hydroxypyridine - 3-hydroxypyridine fumarate on an experimental model of steroid diabetes. The study was conducted on 60 white non-linear rats, weighing 180-220 g, kept under standard vivarium conditions. Steroid diabetes simulated intramuscular dexamethasone phosphate rate of 800 mg / kg, then animal experimental group concurrently with dexamethasone injections for 15 days comparative compounds were administered. Determination of glucose in the blood of the experimental animals were carried out by the electronic glucometer. The study obtained data showing severe hypoglycemic activity of fumarate of 3-hydroxypyridine and its liposomal form, It confirmed that the improvement of the external signs and the absence of mortality of animals receiving test compound.

Keywords: diabetes hyperglycemia 3-hydroxypyridine derivatives

Диабет стероидный — это внепанкреатический диабет, развивающийся при избыточном содержании глюкокортикоидов в крови вследствие их повышенной секреции (например, при болезни Иценко — Кушинга) или при длительном применении их препаратов.

Частыми провокаторами развития стероидного диабета становятся пероральные контрацептивы, мочегонные средства, многочисленные лекарства для терапии бронхиальной астмы, артрита, болезни коллагеноза. Постепенно такие лечебные средства приводят к нарушению белкового и углеводного обмена, вызывая повышение сахара в крови.

Диабетогенная активность глюкокортикоидов показана в эксперименте у разных животных. Известно, что эти препараты вызывают гипергликемию за счет подавления тканевой утилизации глюкозы и активации глюконеогенеза [1].

Стероидный диабет развивается в среднем у 10-20% пациентов, вынужденных по жизненным показаниям в течение длительного времени принимать глюкокортикостероиды [2].

В связи с этим актуален поиск фармакологических препаратов, способных корректировать метаболические нарушения на фоне приема стероидных препаратов. Рядом исследований установлена способность препаратов антиоксидантного типа действия, в частности производных 3-гидроксипиридина (3-ГП), корректировать метаболические нарушения на фоне диабета [3-6].

В рамках данного исследования изучалась способность фумарата 3-ГП и его липосомальной формы корректировать нарушения углеводного обмена на фоне стероидного диабета.

Материалы и методы. Исследование проведено на 60 белых нелинейных крысах массой 180-220 г, содержащихся в стандартных условиях вивария. Манипуляции с животными проводились с соблюдением «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных».

Стероидный диабет моделировали внутримышечным введением дексаметазона фосфата из расчета 800 мкг/кг, после чего животным опытных групп одновременно с инъекциями дексаметазона на протяжении 15 суток вводили сравниваемые соединения. 1-ю группу составили интактные животные; 2-я – контрольная, крысы с моделированным стероидным диабетом, которым перорально в течение 14 дней вводили 0,9%-ный раствор NaCl в дозе 0,1 мл; крысы 3-й группы получали фумарат 3-ГП в дозе 50 мг/кг per os; крысы 4-й группы получали липосомальную форму фумарата 3-ГП в дозе 50 мг/кг внутривентрально; крысы 5-й группы получали мексидол в дозе 50 мг/кг per os; 6-й группы – манинил в дозе 5 мг/кг per os.

Фумарат 3-ГП синтезирован на кафедре органической химии ФГБОУ ВПО «МГУ им. Н.П. Огарева» города Саранска к.х.н. Семеновым А.В. Его структура была подтверждена путем анализа спектра ЯМР ¹H, спектра ЯМР ¹³C и спектра ИК.

Получение липосомальной дисперсии с фумаратом 3-ГП проводилось студентом факультета фармации ФГБОУ ВПО «МГУ им. Н.П. Огарева» В. Агеевым. Липосомы получали методом обращения фаз из лецитина и холестерина. Препарат инкапсулировался методом пассивной загрузки.

Препараты сравнения: мексидол и манинил были приобретены в аптечной сети.

По истечении эксперимента животных каждой группы декапитировали под фторотановым наркозом. В крови определяли уровень глюкозы с помощью электронного глюкометра «One Touch Ultra». Содержание малонового диальдегида (МДА) определяли по

методу С.Г. Конюховой, активность каталазы – по методу М.А. Королюка. Статистическая обработка материала осуществлялась с помощью пакета статистических программ Excel на персональном компьютере. Математическая обработка включала расчеты средних арифметических значений (M), их ошибок ($\pm m$), достоверности различия средних арифметических (p) с помощью t -критерия Стьюдента при 5%-ном уровне значимости, а также критерия χ^2 хи-квадрат.

Результаты и обсуждение

Введение дексаметазона сопровождалось развитием достоверной гипергликемии: уровень глюкозы в сыворотке крови крыс из группы контроля был почти в 4 раза выше, чем у интактных животных ($3,69 \pm 0,06$ ммоль/л у интактных крыс и $14,5 \pm 1,49$ ммоль/л в группе контроля). На фоне терапии манинилом уровень глюкозы в сыворотке крови подопытных животных находился в пределах нормы и составил $4,52 \pm 0,27$ ммоль/л. На фоне введения мексидола уровень глюкозы был ниже, чем в контрольной группе животных, на 41%. Фумарат 3-ГП и его липосомальная форма вызывали достоверное снижение уровня глюкозы, превосходящее действие мексидола, на 50 и 54% соответственно по отношению к контрольной группе животных (табл. 1).

Таблица 1

Показатели гликемии сыворотки крови подопытных животных

Серия	Средний уровень глюкозы в сыворотке крови, ммоль/л ($M \pm m$)	Степень достоверности (* - по отношению к интактным животным; ** - по отношению к контролю)
Интактные животные	$3,69 \pm 0,06$	
Контроль	$14,5 \pm 1,49$	$p^* < 0,001$
Фумарат 3-ГП 50 мг/кг per os	$7,18 \pm 0,6$	$p^{**} < 0,001$
Фумарат 3-ГП липосомальная форма 50 мг/кг внутрибрюшинно	$6,65 \pm 0,16$	$p^{**} < 0,001$
Мексидол 50 мг/кг в/м	$8,58 \pm 0,4$	$p^{**} < 0,001$
Манинил 5 мг/кг per os	$4,52 \pm 0,27$	$p^{**} < 0,05$

Для максимальной полноты исследования были введены новые критерии оценки эффективности исследуемых препаратов – по их влиянию на внешние признаки, отражающие состояние внутренних метаболических процессов. Производилась оценка следующих внешних признаков: состояние шерсти животных, количество жировой

прослойки, масса тела; также оценивался уровень двигательной активности. Была разработана специальная условная оценочная шкала, где каждому признаку были присвоены определенные баллы, в зависимости от характеристики признака (табл. 2).

Таблица 2

Критерии оценки внешних признаков подопытных животных

Признак	Количество баллов		
	1	2	3
Состояние шерстки животных	Неудовлетворительное (шерстка тусклая, взъерошенная)	Удовлетворительное (шерстка тускловатая, неровная)	Хорошее (шерстка гладкая, блестящая, без проплешин)
Упитанность животных	Низкая (масса < 180 граммов)	Умеренная (масса 180-220 граммов)	Повышенная (масса >220 граммов)
Уровень двигательной активности животных	Низкий (животные вялые, адинамичные, не предпринимают попыток вылезти из клетки, при манипуляциях оказывают незначительное сопротивление)	Умеренный (животные умеренно подвижны, при манипуляциях оказывают значительное сопротивление, попыток вылезти из клетки не предпринимают)	Высокий (животные активные, подвижные, предпринимают многократные попытки вылезти из клетки, быстро устремляются к кормушке при кормлении, энергично сопротивляются при манипуляциях)

Согласно этой шкале были получены следующие результаты, отраженные в табл. 3.

Таблица 3

Влияние исследуемых соединений на суммарную среднюю оценку некоторых внешних признаков белых нелинейных крыс при экспериментальном стероидном диабете

Серия	Количество баллов (M±m)
Интактные животные	8,57±0,30
Контроль	3,33±0,21*
Фумарат 3-ГП 50 мг/кг per os	7,7±0,31**
Фумарат 3-ГП липосомальная форма 50 мг/кг внутрибрюшинно	8,0±0,26**
Мексидол 50 мг/кг в/м	7,2±0,74**
Манинил 5 мг/кг per os	7,4±0,74**

Примечание: * – достоверность по отношению к интактным крысам, ** – достоверность по отношению к контрольной группе животных

Наименее низкие баллы наблюдались в контрольной группе животных, следует отметить также, что летальность в данной группе составила 20%. Оценочный балл в группах крыс, получавших препараты сравнения мексидол и манинил, был примерно одинаков, на 19 и 15% меньше по отношению к интактным животным. Максимальные баллы были отмечены на фоне введения липосомальной формы фумарата 3-ГП в дозе 50 мг/кг внутривентриально. Летальность белых крыс на фоне введения всех исследуемых соединений и среди интактных животных составила 0%.

Таким образом, фумарат 3-ГП и его липосомальная форма в дозах 50 мг/кг проявляют выраженную гипогликемическую активность на экспериментальной модели стероидного диабета, что сопровождается улучшением внешних признаков и отсутствием летальности белых нелинейных крыс, получавших исследуемое соединение.

С целью изучения антиоксидантной активности липосомальной формы фумарата 3-ГП и препаратов сравнения в сыворотке крови подопытных животных уровень МДА и активность каталазы сыворотки крови.

Фумарат 3-ГП и его липосомальная форма проявляют выраженную антиоксидантную активность на модели стероидного диабета. Уровень МДА в группе крыс, получавших фумарат 3-ГП, был в 2 раза меньше, чем в контрольной группе; липосомальная форма фумарата 3-ГП – в 2,1 раза. Активность каталазы при этом достоверно возросла до $17,6 \pm 1,13$ мкКат/сек.л в группе крыс, получавших фумарат 3-ГП, и до $16,8 \pm 1,43$ мкКат/сек.л (в контрольной группе – $11,6 \pm 1,48$ мкКат/сек.л) (табл. 4).

Таблица 4

Уровень МДА и каталазы в сыворотке крови белых крыс при стероидном диабете на фоне терапии липосомальной формой фумарата 3-ГП и препаратами сравнения

Серия	МДА сыворотки крови, ммоль/л	Каталаза сыворотки крови, мкКат/сек.л
Контроль	$16,72 \pm 0,08$	$11,6 \pm 1,48$
Фумарат 3-ГП 50 мг/кг per os	$8,3 \pm 2,08$	$17,6 \pm 1,13$
Фумарат 3-ГП липосомальная форма 50 мг/кг внутривентриально	$8,0 \pm 1,57$	$16,8 \pm 1,34$
Мексидол 50 мг/кг в/м	$8,0 \pm 2,17$	$16,12 \pm 0,54$

Манинил 5 мг/кг per os	12,1 ± 0,71	13,24 ± 0,86
------------------------	-------------	--------------

Примечание: степень достоверности: * - по отношению к интактным животным; ** - по отношению к группе контроля

Выводы:

1. Фумарат 3-ГП в дозе 50 мг/кг оказывает достоверное гипогликемическое действие на экспериментальной модели стероидного диабета.
2. Применение липосомальной формы фумарата 3-ГП приводило к более выраженному сахароснижающему эффекту.
3. Фумарат 3-ГП в дозе 50 мг/кг и его липосомальная форма улучшают внешнее состояние подопытных животных на экспериментальной модели стероидного диабета.
4. На фоне введения фумарата 3-ГП в дозе 50 мг/кг и его липосомальной формы отсутствует летальность белых нелинейных крыс на экспериментальной модели стероидного диабета.
5. Фумарат 3-ГП в дозе 50 мг/кг и его липосомальная форма проявляют выраженную антиоксидантную активность на модели стероидного диабета.

Полученные нами данные свидетельствуют о перспективном применении фумарата 3-ГП с целью снижения гипергликемии на фоне сахарного диабета, причем применение его липосомальной формы оказывало более выраженный эффект.

Обсуждая механизмы гипогликемической активности фумарата 3-ГП и его липосомальной формы следует отметить выраженную антиоксидантную активность, цито- и мембранопротекторное действие, а также способность улучшать энергетический обмен любой клетки соединений из группы 3-ГП. Это сопровождается улучшением внешних признаков и отсутствием летальности в группах крыс, получавших исследуемые соединения.

Список литературы

1. Астэмирова Х.С., Ахманов М.С. Настольная книга диабетика. - Эксмо, 2006. - С. 123-170.
2. Бутов Ю.С. Наружные кортикостероиды в терапии алергодерматозов / Ю.С. Бутов, Ю.А. Родина. - М., 2005. – С. 2-8.
3. Уланова Т.В., Инчина В.И., Семенова Е.В., Семенов А.В. Использование новых производных 3-гидроксипиридина с целью коррекции метаболических нарушений

при сахарном диабете // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. - 2009. - Т. 11, № 1 (6). – С. 1315-1317.

4. Уланова Т.В., Инчина В.И., Семенова Е.В., Семенов А.В. Фармакологическая коррекция атерогенных дислипидемий препаратами метаболического типа действия в эксперименте : материалы Российского национального конгресса кардиологов (6-8 октября 2009 г., Москва) // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2009. - № 8 (6). – С. 364.

5. Уланова Т.В., Инчина В.И., Семенова Е.В., Семенов А.В. Оценка гипогликемической активности новых экспериментальных соединений из группы 3-гидроксипиридина на фоне экспериментального стероидного диабета // Материалы Российского национального Конгресса «Человек и лекарство», Москва, 12-16 апреля 2010. – С. 278.

6. Уланова Т.В., Инчина В.И., Семенова Е.В., Семенов А.В. Возможности коррекции побочных эффектов глюкокортикостероидов в эксперименте // Вестник новых медицинских технологий. - 2010. - Т. 17, № 4. - С. 83-85.