

## СРАВНЕНИЕ ГИПОГЛИКЕМИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ НИКОТИНАТА 3-ГИДРОКСИПИРИДИНА И ЕГО ЛИПОСОМАЛЬНОЙ ФОРМЫ НА ФОНЕ ИНДУЦИРОВАННЫХ ДЕКСАМЕТАЗОНОМ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ

Уланова Т.В.<sup>1</sup>, Инчина В.И.<sup>1</sup>, Шокина С.В.<sup>1</sup>, Семенова Е.В.<sup>1</sup>, Русейкин Н.С.<sup>1</sup>, Семенов А.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева», Саранск, e-mail: tatyana\_304@mail.ru

Сравнивалась гипогликемическая активность липосомальной формы нового препарата с антиоксидантной активностью из группы 3-гидроксипиридина – никотината 3-гидроксипиридина на фоне экспериментального стероидного диабета. Исследование проведено на 50 белых нелинейных крысах массой 280-320 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 никотината 3-гидроксипиридина и его липосомальной формы, что подтверждалось улучшением внешних признаков и отсутствием летальности животных, получавших исследуемое соединение.

Ключевые слова: антиоксиданты, никотинат 3- гидроксипиридина, липосомальная форма, стероидный диабет.

## COMPARISON OF HYPOGLYCEMIC ACTIVITY OF NICOTINATE 3-HYDROXYPYRIDINE AND ITS LIPOSOMAL FORM AT DEXAMETHASONE INDUCED METABOLIC DISORDERS

Ulanova T.V.<sup>1</sup>, Inchina V.I.<sup>1</sup>, Shokina S.V.<sup>1</sup>, Semenova E.V.<sup>1</sup>, Ruseikin N.S.<sup>1</sup>, Semenov A.V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>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 nicotinate on an experimental model of steroid diabetes. The study was conducted on 50 white non-linear rats, weighing 280-320 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 nicotinate 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: antioxidants, nicotinate 3-hydroxypyridine, liposomal form, steroid diabetes.

Одним из наиболее распространенных социально значимых заболеваний, приводящих к высокому уровню инвалидизации и смертности, продолжает быть сахарный диабет 2 типа. Согласно расчётам ВОЗ число больных, страдающих диабетом, будет неуклонно расти и достигнет в 2035 году 592 млн, и из них до 95% будут составлять пациенты с сахарным диабетом 2 типа. Как известно, в основе этиопатогенеза сахарного диабета 2 типа лежит нарушение инсулинового гомеостаза, инсулинорезистентность и дисфункция инсулинпродуцирующих бета-клеток поджелудочной железы. Это приводит к возникновению таких патологических феноменов, как глюкозотоксичность, липотоксичность, которые в свою очередь провоцируют развитие сосудистых осложнений.

К общепризнанным факторам риска развития сахарного диабета 2 типа, помимо ожирения, артериальной гипертензии, генетической предрасположенности, относят также длительный прием глюкокортикоидных лекарственных препаратов, которые вызывают гипергликемию как за счет прямой стимуляции глюконеогенеза, так и, в дальнейшем, путем повреждающего действия на бета-клетки поджелудочной железы. Высокие дозы глюкокортикоидных препаратов нарушают секреторную функцию бета-клеток и приводят к развитию инсулинорезистентности. При моделировании дексаметазонового диабета у крыс было отмечено развитие умеренной базальной гипергликемии, двукратного возрастания концентрации инсулина и жирных кислот в крови, нарушение толерантности к углеводам и снижение чувствительности к инсулину [10]. Было установлено, что дексаметазон оказывает прямое влияние на экспрессию транспортеров глюкозы GLUT1 и GLUT4, что приводит к инсулинорезистентности, снижению утилизации глюкозы адипоцитами [9]. Кроме того, предполагается, что дексаметазон способен инактивировать митохондриальную ФАД-глицерофосфатдегидрогеназу, регулирующую индуцированную глюкозой секрецию инсулина [9].

В ряде проведенных ранее работ было изучено гипогликемическое действие производных 3-гидроксипиридина [6-8]. Механизм данного эффекта, вероятно, связан с антиоксидантным, мембранопротективным и непосредственным бета-цитопротективным действием соединений данного ряда. Указанные свойства были подтверждены как на различных экспериментальных моделях сахарного диабета, так и на моделях других патологических состояний [1; 2; 4; 5]. В последние годы все больше внимания уделяется так называемым таргетным лекарственным препаратам, в том числе липосомальным формам лекарственных средств [3]. В проведенной нами ранее работе была выявлена более выраженная гипогликемическая активность липосомальной формы фумарата 3-гидроксипиридина по сравнению со стандартной формой препарата. Целью данной работы было сравнить гипогликемическую активность стандартной и липосомальной формы никотината 3-гидроксипиридина на дексаметазоновой модели сахарного диабета. Никотинат 3-гидроксипиридина был синтезирован на кафедре органической химии нашего университета, его структура подтверждена результатами ЯМР  $^1\text{H}$ , ЯМР  $^{13}\text{C}$  и ИК-спектроскопии. Липосомальную форму никотината 3-гидроксипиридина получали методом обращения фаз из лецитина и холестерина, препарат инкапсулировали методом пассивной загрузки.

**Материалы и методы.** Работа была выполнена на 50 белых нелинейных половозрелых крысах обоего пола, содержащихся в стандартных условиях вивария.

Манипуляции с лабораторными животными осуществлялись в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных».

С целью моделирования сахарного диабета крысам внутримышечно вводили дексаметазон фосфат в дозе 800 мкг/кг, затем на протяжении 15 суток животным опытных групп параллельно с инъекциями дексаметазона вводили исследуемые препараты. Животные были разделены на следующие группы: 1-я группа - интактные животные (здоровые референсные животные без диабета); 2-я – контрольная, крысы с дексаметазоновым диабетом, которым в течение 15 дней вводили 0,9%-ный раствор NaCl в дозе 0,1 мл per os; крысы 3-й группы получали никотинат 3-гидроксипиридина в дозе 50 мг/кг per os; крысы 4-й группы получали липосомальную форму никотината 3-гидроксипиридина в дозе 50 мг/кг per os; крысы 5-й группы получали препарат сравнения - мексидол в дозе 50 мг/кг per os; 6-й группы – препарат сравнения глибенкламид в дозе 5 мг/кг per os. Препараты сравнения (мексидол и глибенкламид) были закуплены в аптечной сети.

По истечении эксперимента животных выводили из эксперимента декапитированием под фторотановым наркозом. Уровень глюкозы в крови определяли с помощью электронного глюкометра One Touch Ultra. Об активности окислительных процессов судили по уровню малонового диальдегида (МДА) и активности каталазы в крови. Содержание МДА определяли по методу С.Г. Конюховой, а активность каталазы – по методу М.А. Королюка. Статистическая обработка материала осуществлялась с помощью пакета статистических программ Excel на персональном компьютере. Статистическая обработка результатов включала расчеты средних арифметических значений ( $M$ ), ошибок средних ( $\pm m$ ), достоверности различия средних арифметических ( $p$ ) с помощью  $t$ -критерия Стьюдента. Значимыми считали различия при  $p < 0,05$ .

### **Результаты и обсуждение**

В контрольной группе животных, получавших дексаметазон, отмечалась достоверная гипергликемия (уровень глюкозы в сыворотке крови  $3,29 \pm 0,16$  ммоль/л у интактных крыс по сравнению с  $14,4 \pm 1,04$  ммоль/л в группе контроля). Терапия глибенкламидом позволила сохранить уровень глюкозы в сыворотке крови подопытных животных в пределах нормы (средний уровень глюкозы в крови в данной группе составил  $4,52 \pm 0,27$  ммоль/л). На фоне терапии мексидолом уровень глюкозы в крови был на 41% ниже, чем таковой в контрольной группе животных. Никотинат 3-гидроксипиридина проявлял сопоставимый с мексидолом гипогликемический эффект (средний уровень глюкозы в крови в группе никотината 3-гидроксипиридина -  $8,28 \pm 0,58$  ммоль/л, в группе мексидола -  $8,58 \pm 0,4$  ммоль/л,  $p > 0,05$ ). При введении липосомальной формы никотината 3-гидроксипиридина средний уровень глюкозы находился на верхней границе нормы (табл. 1) и был на 26% ниже, чем в группе терапии

стандартной формой данного препарата ( $p < 0,05$ ). Различия в эффектах разных форм препарата могут быть связаны с более высокой биодоступностью липосомальной формы препарата, а также с собственным мембранопротективным эффектом липосомальной капсулы, состоящей из фосфолипидов и лецитина. Для уточнения механизма усиления гипогликемического эффекта при применении липосомальной формы никотината 3-гидроксипиридина необходимо проведение дальнейших исследований.

Таблица 1

Показатели гликемии сыворотки крови белых крыс

Группа	Средний уровень глюкозы в сыворотке крови, ммоль/л ( $M \pm m$ )	Степень достоверности (* - по отношению к интактным животным; ** - по отношению к контролю)
Интактные крысы	3,3 $\pm$ 0,2	
Контроль	14,4 $\pm$ 1,0	$p^* < 0,001$
Никотинат 3-гидроксипиридина 50 мг/кг per os	8,3 $\pm$ 0,6	$p^{**} < 0,001$
Никотинат 3-гидроксипиридина липосомальная форма 50 мг/кг per os	6,1 $\pm$ 0,4	$p^{**} < 0,001$
Мексидол 50 мг/кг per os	8,6 $\pm$ 0,4	$p^{**} < 0,001$
Глибенкламид 5 мг/кг per os	4,5 $\pm$ 0,3	$p^{**} < 0,05$

В связи с выраженным воздействием глюкокортикостероидных гормонов на процессы метаболизма, а именно катаболическим действием, происходит нарушение всех видов обмена веществ. На фоне приема глибенкламида достаточно часто развиваются побочные эффекты, обусловленные минералокортикоидной активностью: задержка жидкости и натрия (периферические отеки), гипернатриемия, гипокалиемический синдром (гипокалиемия, аритмия, миалгия или спазм мышц, необычная слабость, повышение потоотделения и, как следствие, утомляемость). Повышенная мышечная утомляемость также объясняется гипокальциемией (т.к. кальций необходим для нормального мышечного сокращения), а также усиленным распадом белка.

Поэтому в рамках данного исследования также производилась оценка некоторых фенотипических признаков как отражение внутренних изменений. Была разработана

специальная условная оценочная шкала, где каждому признаку были присвоены определенные баллы в зависимости от характеристики признака (табл. 2).

Таблица 2

Критерии оценки фенотипических признаков подопытных животных

Изучаемый признак	Количество баллов		
	1	2	3
Состояние шерстки белых крыс	Неудовлетворительное (шерстка тусклая, взъерошенная, есть проплешины)	Удовлетворительное (шерстка тускловатая, неровная)	Хорошее (шерстка гладкая, блестящая, ровная)
Масса тела	Значительное снижение веса (более чем на 30% от первоначального значения)	Умеренное снижение веса (на 10-20% от первоначального значения)	Сохранение исходной массы тела или увеличение веса
Подвижность	Низкая (животные вялые, малоподвижные, не предпринимают попыток покинуть клетку, при проведении манипуляций оказывают незначительное сопротивление)	Умеренная (животные умеренно подвижны, при манипуляциях оказывают значительное сопротивление)	Высокая (животные активные, подвижные, быстро устремляются к кормушке при кормлении, энергично сопротивляются при манипуляциях)

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

Таблица 3

Влияние исследуемых соединений на суммарную среднюю оценку некоторых фенотипических признаков белых нелинейных крыс при экспериментальном дексаметазоновом диабете

Группа	Количество баллов (M±m)
Интактные животные	8,8±0,3
Контроль	3,4±0,2*
Никотинат 3-гидроксипиридина 50 мг/кг per os	7,6±0,2**
Никотинат 3-гидроксипиридина липосомальная форма 50 мг/кг per os	8,1±0,3**
Мексидол 50 мг/кг per os	7,2±0,7**
Глибенкламид 5 мг/кг per os	7,4±0,7**

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

Наименее низкие баллы наблюдались в контрольной группе животных, что обусловлено усилением распада белков, жиров и углеводов и снижением процессов синтеза на фоне высоких доз глюкокортикостероидов. Следует также отметить, что летальность в данной группе составила 20%. В группах крыс, получавших препараты сравнения (мексидол и глибенкламид), оценочный балл был сопоставим (на 18% и 16% меньше по сравнению с интактными животными). Максимальные баллы были отмечены на фоне введения липосомальной формы никотината 3-гидроксипиридина в дозе 50 мг/кг per os. Снижение массы тела в контрольной группе животных, вероятно, обусловлено выраженным катаболическим действием дексаметазона в дозе 800 мкг/кг на жировую ткань. Летальных исходов на фоне введения всех изучаемых препаратов соединений и среди интактных животных выявлено не было.

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

С целью изучения антиоксидантной активности липосомальной формы никотината 3-гидроксипиридина и препаратов сравнения в сыворотке крови подопытных животных определяли уровень МДА (как продукта перекисного окисления липидов) и активность каталазы сыворотки крови (как основного фермента антиоксидантной системы).

Изучаемое соединение никотинат 3-гидроксипиридина и его липосомальная форма обладают выраженной антиоксидантной активностью, что было установлено на экспериментальной модели дексаметазонового диабета. Уровень МДА в группе крыс, получавших никотинат 3-гидроксипиридина, был в 2,2 раза ниже, чем в контрольной группе; на фоне введения липосомальной формы никотината 3-гидроксипиридина – в 2,3 раза ниже. Активность каталазы при этом достоверно (по отношению к контрольной группе животных) возросла на 31% в группе крыс, получавших никотинат 3-гидроксипиридина, и на 32% в группе животных, получавших его липосомальную форму. Полученные результаты сопоставимы с антиоксидантной активностью мексидола. В группе крыс, получавших глибенкламид, также наблюдались изменения в показателях МДА и активности каталазы, однако различия не достигали статистически значимого уровня (таблица 4).

Таблица 4

Показатели МДА и каталазы в сыворотке крови белых нелинейных крыс при

дексаметазоновом диабете на фоне терапии никотинатом 3-гидроксипиридина, его липосомальной формой и препаратами сравнения

Группа	МДА сыворотки крови, ммоль/л	Каталаза сыворотки крови, мкКат/сек.л
Контрольная	16,8±0,2	11,4 ±1,4
Никотинат 3- гидроксипиридина 50 мг/кг per os	7,6 ±2,0*	16,4 ±1,4*
Никотинат 3- гидроксипиридина липосомальная форма 50 мг/кг per os	7,3±1,6*	16,8 ±1,4*
Мексидол 50 мг/кг per os	8,2±1,2*	16,2±0,6*
Глибенкламид 5 мг/кг per os	13,2 ± 0,7	12,2 ± 0,9

Примечание: степень достоверности: \*- по отношению к контрольной группе животных ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, применение изучаемого соединения и его липосомальной формы приводит в соответствие скорость перекисного окисления липидов с резервами антиоксидантной системы защиты.

### Выводы

1. Никотинат 3-гидроксипиридина в дозе 50 мг/кг оказывает достоверное снижение гипергликемии на экспериментальной модели дексаметазонового диабета.
2. Применение липосомальной формы никотината 3-гидроксипиридина оказывало более выраженный гипогликемический эффект по сравнению со стандартной формой никотината 3-гидроксипиридина.
3. Никотинат 3-гидроксипиридина в дозе 50 мг/кг и его липосомальная форма оказывают положительное влияние на фенотипические признаки подопытных животных на экспериментальной модели стероидного диабета.
4. На фоне введения никотината 3-гидроксипиридина в дозе 50 мг/кг и его липосомальной формы отсутствует летальность белых нелинейных крыс на экспериментальной модели стероидного диабета, в отличие от контрольной группы животных с диабетом без терапии, где летальность составляла 20%.
5. Никотинат 3-гидроксипиридина в дозе 50 мг/кг и его липосомальная форма проявляют выраженную антиоксидантную активность на модели стероидного диабета,

достоверно снижая уровень малонового диальдегида и повышая активность каталазы.

Полученные нами результаты свидетельствуют о высоком потенциале применения никотината 3-гидроксипиридина с целью коррекции нарушений обмена веществ на фоне дексаметазонового диабета, а также о наличии возможных преимуществ применения его липосомальной формы.

### Список литературы

1. Власов А.П., Тарасова Т.В., Суслов А.В., Власова Т.И., Кормишкин А.Е. Роль гипоксических процессов в патогенезе острого панкреатита // Доктор.ру «Русмедикал групп». - М., 2015. – С. 2-3.
2. Замотаева М.Н., Сульдин А.М., Павлов Д.А., Зайцева Е.Н. Анализ влияния производных 5-гидроксибензимидазола и 3-гидроксипиридина на биохимический состав крови крыс при экспериментальном хроническом повреждении сердечной мышцы // Вопросы современной науки: проблемы, тенденции и перспективы : материалы Международной (заочной) научно-практической конференции. - 2016. – С. 132-135.
3. Куликов О.А., Агеев В.П. Синтез и анализ липосомальной формы дексаметазона с осмотически направленным высвобождением // Материалы XX научно-практической конференции молодых ученых, аспирантов и студентов Национального исследовательского Мордовского государственного университета им. Н.П. Огарёва. - 2016. – С. 224-229.
4. Скопин П.И., Зорькина А.В., Скопина Ю.А., Минаева О.В. Производные 3-оксипиридина оптимизируют применение этопозида на модели карциномы легких Льюис // Современные проблемы науки и образования. – 2012. – № 6. - URL: <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=8026>.
5. Скопин П.И. Антиоксидантная коррекция эндогенной интоксикации при дистанционном гамма-облучении экспериментальной опухоли // Аспирантский вестник Поволжья. – 2010. – № 3-4. – С. 236-239.
6. Уланова Т.В., Инчина В.И., Худойкина С.В., Семенова Е.В., Семенов А.В. Изучение сахароснижающей активности липосомальной формы фумарата 3-гидроксипиридина в эксперименте // Современные проблемы науки и образования. – 2016. – № 3. - URL: <http://www.scienceeducation.ru/article/view?id=24463>.
7. 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.

8. Уланова Т.В., Инчина В.И., Худойкина С.В., Русейкин Н.С. Проведение тестов функциональной диагностики на модели аллоксанового диабета // Научный альманах. – 2015. – № 7. – С. 926-929.
9. Buren J., Ereksso J. Dexamethasone decreases GLUT 1 and GLUT 4 content in primary cultured rat adipocytes // Diabetol. - 1999. – 42 (1). - P. A170.
10. Novelli M., Barbera M., Fierabracci V. et al. Effect of the age and dexamethasone treatment on insulin secretion from isolated perfused rat pancreas // Diabetol. - 1996. - 1. - P. A124.