

УДК 615.252.349.7:616.379 – 008.64

О. М. Чікіткіна, Н. М. Кононенко, І. В. Ковалевська

Національний фармацевтичний університет

## ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ДОЗИ ВОГЛІБОЗУ У СКЛАДІ НОВОГО ПРОТИДІАБЕТИЧНОГО ЗАСОБУ ГЛІКВЕРИНУ

На нормоглікемічних щурах за умови аліментарного навантаження вуглеводами доведено, що у діапазоні доз 0,02-0,06 мг/кг відсутня достовірною дозозалежність гіпоглікемічної дії воглібозу, що дозволило включити останній до складу комбінованого протидіабетичного засобу «Глікверин» у найменшій з вивчених доз 0,02 мг/кг. За здатністю знижувати рівень глікемії в умовах крохмального та мальтозного навантаження Глікверин у дозі 50 мг/кг кверцетину + 0,02 мг/кг воглібозу суттєво переважає окремі складові компоненти та препарат порівняння акарбозу.

*Ключові слова:* протидіабетичні засоби; воглібоз; кверцетин; гіпоглікемічна дія; крохмаль; мальтоза

### ВСТУП

Цукровий діабет (ЦД) характеризується тяжкими ускладненнями, що призводять до ранньої інвалідизації хворих та підвищення смертності. Тому сучасна терапія ЦД повинна бути спрямована не лише на усунення проявів декомпенсації вуглеводного обміну, а й на профілактику розвитку пізніх судинних ускладнень, чого не можна досягти, використовуючи лише монотерапію. Однак застосування декількох засобів часто призводить до несприятливого перенавантаження організму та поліпрагмазії [8].

Вирішенням даної проблеми може стати створення комбінованих препаратів з різними механізмами антигіперглікемічної та профілактичної дії щодо вторинних ускладнень. Існуючі комбінації цукрознижувальних препаратів, які поєднують секретогоги та сенситайзери, поряд з високою ефективністю мають низку протипоказань та побічних реакцій, тому актуальним залишається створення безпечних комбінованих засобів.

З огляду на вищевказане в Національному фармацевтичному університеті розроблено комбінований протидіабетичний засіб Глікверин, в якому поєднано інгібітор  $\alpha$ -глюкозидаз воглібоз та антиоксидант кверцетин.

Цукрознижувальна дія воглібозу пов'язана з порушенням всмоктування вуглеводів із кишечника, в результаті чого знижується постпрандіальна гіперглікемія, а у подальшому – постпрандіальна гіперінсулінемія – фактори ризику серцево-судинних ускладнень [5, 8], хоча рекомендовані дози воглібозу часто

викликають побічні реакції з боку шлунково-кишкового тракту (ШКТ) [5].

Фармакологічні ефекти кверцетину пов'язані з його здатністю зменшувати інсулінорезистентність, гіперглікемію, дисліпідемію, пригнічувати оксидативний стрес [1, 7]. Але недостатня розчинність кверцетину в ШКТ обмежує використання та створення на його основі комбінованих препаратів.

Отже, воглібоз та кверцетин поряд з достатньою ефективністю мають певні недоліки, які обмежують їх застосування у фармакотерапії ЦД.

Запропонований в НФаУ Глікверин передбачувано буде позбавлений вказаних недоліків завдяки зниженню дози воглібозу у його складі та використанню твердої дисперсії з ПЕО та з додаванням неусиліну, який посилює розчинність кверцетину та пролонгує період вивільнення обох компонентів. Таким чином, збільшується біодоступність Глікверину та вираженість гіпоглікемічних властивостей [4].

Метою даної роботи було вивчення ефективності воглібозу в найменшій терапевтичній дозі для включення його до складу комбінації Глікверин та дослідження гіпоглікемічної дії комбінації воглібозу з кверцетином на нормоглікемічних щурах в умовах вуглеводного навантаження.

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Утримання та маніпуляції з тваринами проведені з дотриманням правил «Європейської конвенції із захисту хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та наукових цілей» (Страсбург, 1986р.).

Дослідження проведені на 75 білих нелінійних щурах обох статей масою 180-200 г за умов пост-

© Чікіткіна О. М., Кононенко Н. М., Ковалевська І. В., 2015

прандіальної гіперглікемії, яку моделювали вуглеводним навантаженням крохмалем (крохмальний оральний тест (КОТ) [2]. Щурам після 16-годинного голодування внутрішньошлунково вводили суспензію крохмалу у дозі 2 г/кг. Концентрацію глюкози у крові, яку отримували з хвостової вени тварин, визначали до вуглеводного навантаження та через 30, 60 та 120 хвилин глюкозооксидазним методом з використанням тест-систем «Філісіт», Україна.

На першому етапі проводили визначення мінімальної ефективної дози субстанції воглібозу. Для скринінгу були обрані дози субстанції воглібозу, еквівалентні добовим дозам, які пропонуються для терапії ЦД. Тварин поділили на 5 груп по 6 щурів у кожній: 1 група – тварини позитивного контролю (ПК); 2 група – тварини, яким вводили субстанцію воглібозу у дозі 0,06 мг/кг, яка відповідає максимальній добовій дозі для людини 0,9 мг; 3 група – тварини, яким вводили субстанцію воглібозу у дозі 0,04 мг/кг, яка відповідає середній добовій дозі для людини 0,6 мг; 4 група – тварини, яким вводили субстанцію воглібозу у дозі еквівалентній мінімальній (початковій) добовій дозі для людини (0,3 мг) – 0,02 мг/кг; 5 група – тварини, яким вводили препарат порівняння (ПП) –інгібітор  $\alpha$ -глюкозидаз акарбозу в дозі 10 мг/кг.

Наступним етапом роботи стало визначення гіпоглікемічної дії композиції Глікверин у порівнянні з її окремими складовими компонентами. Тварин поділили на 4 групи: 1 група – тварини ПК; 2-4 групи – тварини, яким вводили композицію Глікверин в дозі 50 мг/кг кверцетину і 0,02 мг/кг воглібозу або субстанції кверцетину (50 мг/кг) або воглібозу (0,02 мг/кг). Досліджувані засоби вводили внутрішньошлунково за 1 годину до крохмального навантаження. Тварини ПК отримували еквівалентну кількість питної води. Антигіперглікемічну активність засобів оцінювали за здатністю знижувати рівень гіперглікемії за умов КОТ.

З метою встановлення одного з механізмів гіпоглікемічної дії Глікверину вивчали його вплив на всмоктування олігосахаридів у кишечнику за методом Н. Luo [3]. Тварин поділили на 5 груп: 1 група – тварини ПК; 2-4 групи – тварини, яким вводили композицію Глікверин (50 мг/кг кверцетину + 0,02 мг/кг воглібозу); субстанції кверцетину (50 мг/кг) або воглібозу (0,02 мг/кг); 5 група – тварини, яким вводили ПП акарбозу (10 мг/кг). Досліджувані засоби вводили щурам внутрішньошлунково однократно за 1 годину до проведення мальозного орального тесту (МОТ). Мальтозу вводили внутрішньошлунково у вигляді 50 % розчину в дозі 3 г/кг. Концентрацію глюкози визначали до вуглеводного навантаження та через 30, 60, 90 та 120 хвилин глюкозооксидазним методом. Уповільнення процесів всмоктування і розщеплення мальтози оцінювали за здатністю знижувати постпрандіальне підвищення рівня глюкози крові та за величиною інтегрального показника площі під глікеміч-

ними кривими (AUC<sub>glu</sub> (ммоль/л·хв), яку розраховували за допомогою пакету статистичних програм «MedCalc, v. 9.3.7.0». Отримані експериментальні дані обробляли за допомогою стандартного пакету статистичних програм «Statistica 6,0», відмінності вважали статистично значущими при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

На першому етапі визначали найменшу ефективну дозу воглібозу за умов КОТ (рис. 1). Встановлено, що у відповідь на вуглеводне навантаження у тварин групи ПК достовірно підвищувався рівень глюкози у крові на 30-й хвилині тесту, перевищуючи вихідні значення у 2,2 рази. Глікемічна крива, яка відображає процеси розщеплення та всмоктування крохмалу, була дещо розтягнута у часі, що пов'язано з більш повільним перетравленням в кишечнику полісахариду, ніж глюкози [2].

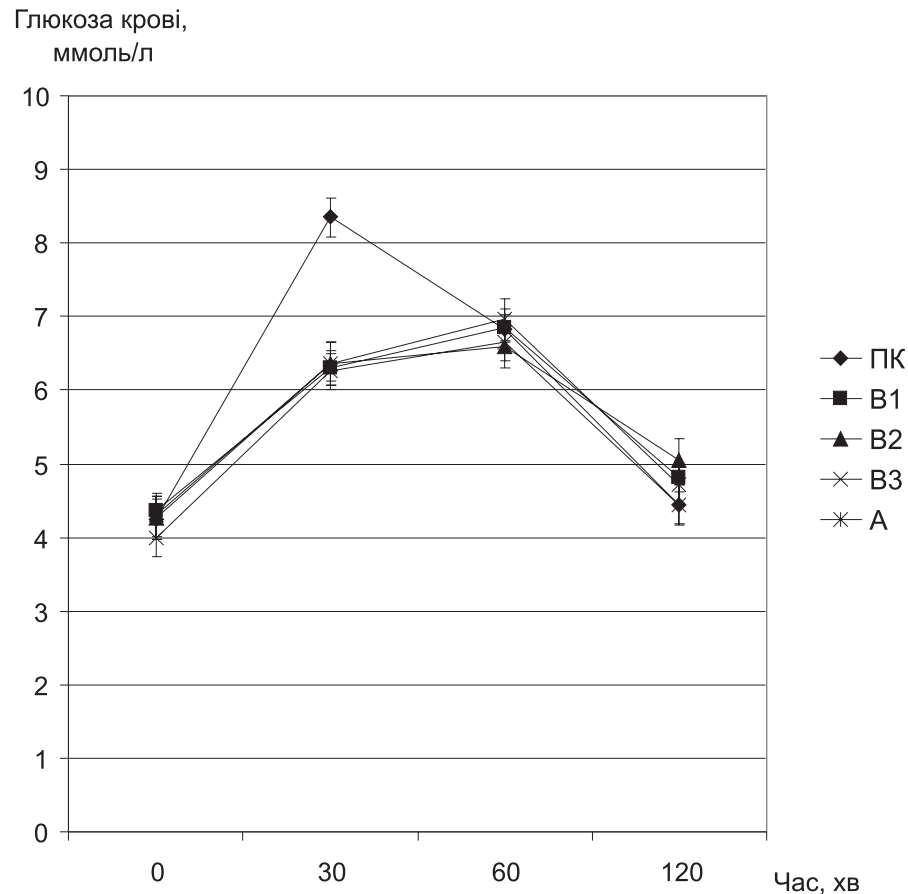
Під дією субстанції воглібозу в діапазоні доз 0,02-0,06 мг/кг відбувалось однакове пригнічення гіперглікемії, викликаній навантаженням крохмалем. На 30-й хвилині спостереження рівень глюкози у крові тварин знижувався на 24 % у порівнянні зі значеннями у групі тварин ПК. За виразністю фармакологічної дії субстанція воглібозу не поступалася ПП (рис. 1).

Аналізуючи отримані дані, можна зробити висновки про відсутність залежності гіпоглікемічної дії субстанції воглібозу від дози. Отже, для подальшого дослідження у складі композиції Глікверин була обрана найменша доза субстанції воглібозу – 0,02 мг/кг, що, ймовірно, забезпечить зниження побічної дії без втрати фармакологічної ефективності засобу.

В наступній серії дослідів оцінювали антигіперглікемічні властивості комбінації Глікверин у порівнянні з її окремими складовими компонентами – субстанціями кверцетину та воглібозу за умов крохмального навантаження. Відповідно до отриманих даних, як і в першій серії, пероральне введення розчину крохмалу в дозі 2 г/кг викликало статистично значуще підвищення рівня ендогенної глюкози на 30-й хвилині тесту у 2 рази відносно вихідних даних. У подальші терміни відзначали поступове зниження рівня глюкози у крові (табл). Під дією композиції Глікверин відбувалось достовірне щодо значень тварин з групи ПК зниження глікемії на 39 % (табл).

Окремі складові досліджуваної композиції виявили меншу антигіперглікемічну активність. Під впливом субстанцій кверцетину та воглібозу спостерігали зниження постпрандіальної гіперглікемії лише на 21 % і 17 % відповідно. Слід зазначити, що за виразністю антигіперглікемічної дії композиція Глікверин достовірно переважала субстанції кверцетину та воглібозу.

Отже, на підставі отриманих даних можна стверджувати, що нова композиція Глікверин прискорює утилізацію глюкози за умов аліментарної гіперглі-



**Рис. 1.** Гіпоглікемічна дія субстанції воглібозу в умовах крохмального навантаження при однократному введенні нормоглікемічним щурам ( $n = 5$ ).

Примітка. ПК – позитивний контроль; B1 – субстанція воглібозу, 0,02 мг/кг; B2 – субстанція воглібозу, 0,04 мг/кг; B3 – субстанція воглібозу, 0,06 мг/кг; A – акарбоза, 10 мг/кг.

кемії у щурів, викликаній навантаженням крохмалю. Поєднання двох компонентів – кверцетину і воглібозу у складі Глікверину призводить до синергізму гіпоглікемічної дії останнього. Більш виражена дія нової композиції, ймовірно, обумовлена кверце-

тином, який здатен пригнічувати активність глюкозидаз у кишечнику [7].

Результати МОТ підтвердили здатність композиції Глікверин пригнічувати розщеплення та всмоктування вуглеводів у кишечнику (рис. 2, 3). Під дією

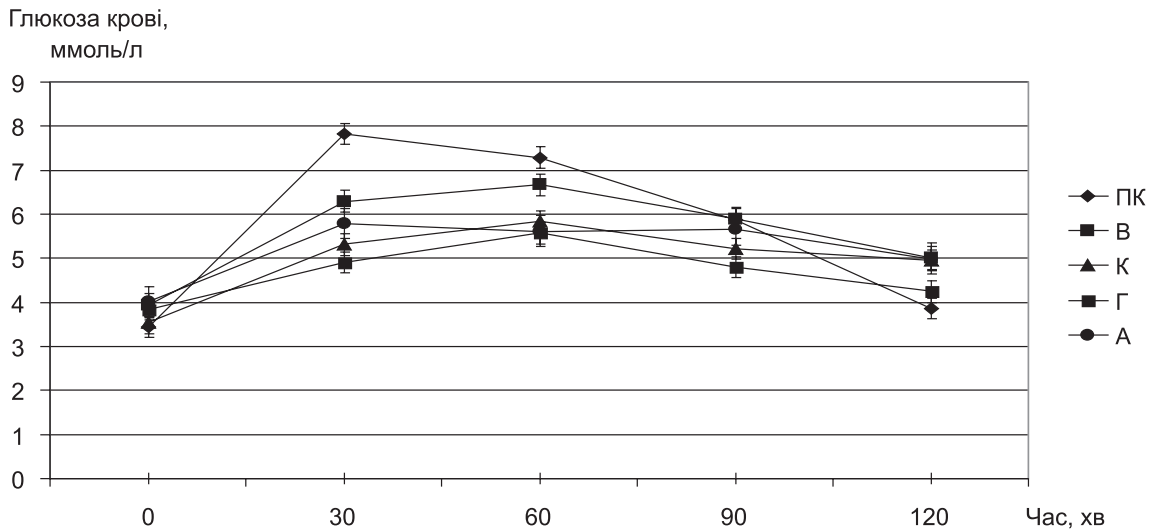
Таблиця

**ГІПОГЛІКЕМІЧНА ДІЯ ГЛІКВЕРИНУ ПРИ ОДНОКРАТНОМУ ВВЕДЕННІ НОРМОГЛІКЕМІЧНИМ ЩУРАМ В УМОВАХ КРОХМАЛЬНОГО НАВАНТАЖЕННЯ (mean  $\pm$  SE,  $n = 5$ )**

Групи тварин	Рівень глікемії (ммоль/л)				
	вихідні дані	30 хв	60 хв	90 хв	120 хв
Позитивний контроль (крохмаль, 2 г/кг)	4,34 $\pm$ 0,20	8,60 $\pm$ 0,21 <sup>*/**</sup>	6,13 $\pm$ 0,11 <sup>*</sup>	5,77 $\pm$ 0,40	5,19 $\pm$ 0,24
Глікверин (50 мг/кг кверцетину + 0,02 мг/кг воглібозу) + крохмаль	4,21 $\pm$ 0,22	5,22 $\pm$ 0,26 <sup>*/**/vk</sup>	5,55 $\pm$ 0,20	5,04 $\pm$ 0,26	4,88 $\pm$ 0,24
Субстанція кверцетину, 50 мг/кг + крохмаль	4,48 $\pm$ 0,12	6,80 $\pm$ 0,28 <sup>*/**</sup>	6,00 $\pm$ 0,44	5,34 $\pm$ 0,23	5,12 $\pm$ 0,14
Субстанція воглібозу, 0,02 мг/кг + крохмаль	4,30 $\pm$ 0,18	7,11 $\pm$ 0,24 <sup>*/**</sup>	6,48 $\pm$ 0,43	5,65 $\pm$ 0,27	5,09 $\pm$ 0,21

Примітки:

1. \* – відмінності достовірні по відношенню до вихідних даних,  $p < 0,05$ ;
2. \*\* – відмінності достовірні по відношенню до значень позитивного контролю,  $p < 0,05$ ;
3. v – відмінності достовірні по відношенню до значень воглібозу,  $p < 0,05$ ;
4. k – відмінності достовірні по відношенню до значень кверцетину,  $p < 0,05$ .



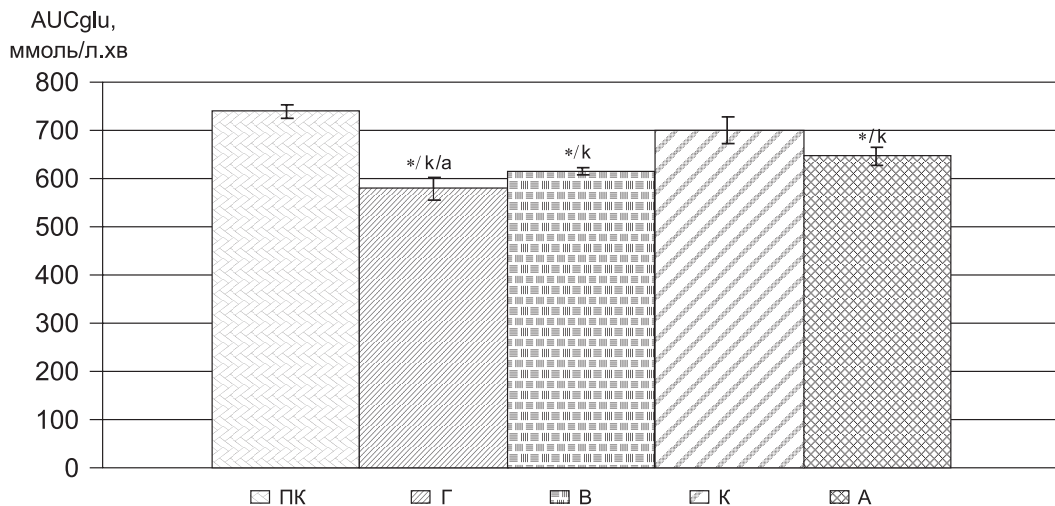
**Рис. 2.** Гіпоглікемічна дія Глікверину в умовах мальтозного навантаження при однократному введенні нормоглікемічним щурам (n = 6).

Примітка. ПК – позитивний контроль; В – субстанція воглібозу, 0,02 мг/кг; К – субстанція кверцетину, 50 мг/кг; Г – Глікверин, 50 мг/кг кверцетину + 0,02 мг/кг воглібозу; А – акарбоза, 10 мг/кг.

нової композиції відбувалося достовірно щодо значень ПК зниження глікемії на 38 %. Розрахунок інтегрального показника AUC<sub>glu</sub>, який характеризує швидкість утилізації глюкози під час навантаження вуглеводами, підтверджує виражену антигіперглікемічну дію комбінації воглібозу та кверцетину (рис. 3). Глікверин, незважаючи на мінімальну дозу воглібозу в його складі, достовірно перевершував ефективність акарбози (рис. 3). Серед усіх досліджуваних засобів найбільший гіпоглікемічний ефект відзначено у композиції Глікверин, найменший – при введенні субстанції кверцетину, ефективність якої вірогідно поступалася дії Глікверину, акарбози та суб-

станції воглібозу. Отже, за результатами мальтозного тесту можна стверджувати, що комбінація воглібоз (0,02 мг/кг) + кверцетин (50 мг/кг) достовірно пригнічує розщеплення та всмоктування дисахаридів.

Таким чином, можна зробити висновок, що субстанція воглібозу в найменшій дозі 0,02 мг/кг виявляє гіпоглікемічну дію на рівні максимальної добової дози і є оптимальною для включення до складу композиції Глікверин. За виразністю гіпоглікемічної дії в умовах крохмального та мальтозного тестів комбінований засіб Глікверин суттєво переважає окремі складові компоненти – субстанцію кверцетину і воглібозу та акарбозу.



**Рис. 3.** Гіпоглікемічна активність Глікверину в умовах мальтозного навантаження при однократному введенні нормоглікемічним щурам (n = 6).

Примітки. ПК – позитивний контроль; Г – таблетки Глікверин, 50 мг/кг кверцетину + 0,02 мг/кг воглібозу; К – субстанція кверцетину, 50 мг/кг; В – субстанція воглібозу, 0,02 мг/кг; А – акарбоза, 10 мг/кг; \* – відмінності достовірні по відношенню до значень позитивного контролю, p < 0,05; k – відмінності достовірні по відношенню до значень групи кверцетину, p < 0,05; a – відмінності достовірні по відношенню до значень групи акарбози, p < 0,05.

**ВИСНОВКИ**

1. На нормоглікемічних щурах за умови аліментарного навантаження вуглеводами доведено, що у діапазоні доз 0,02-0,06 мг/кг відсутня достовірна дозозалежність гіпоглікемічної дії воглібозу, що дозволило включити останній до складу комбінованого протидіабетичного засобу «Глікверин» в найменшій з вивчених доз 0,02 мг/кг.
2. За здатністю знижувати рівень глікемії в умовах крохмального та мальтозного навантаження композиція «Глікверин» в дозі 50 мг/кг кверцетину + 0,02 мг/кг воглібозу суттєво переважає окремі складові компоненти та препарат порівняння акарбозу.
3. Отримані дані обумовлюють доцільність подальших фармакологічних досліджень нової композиції Глікверин з метою створення високоефективного та безпечного протидіабетичного засобу.

**ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ  
ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ**

1. Боріков О. Ю. Вплив кверцетину на метаболічні прояви синдрому інсулінорезистентності за умов дефіциту естрогенів / О. Ю. Боріков, Н. І. Горбенко // Проблеми ендокринної патол. – 2009. – № 2. – С. 65-70.
2. Камышников В. С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике / В. С. Камышников. – 3-е изд. – М.: МЕДпресс-информ., 2009. – 896 с.
3. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. I. – М.: Гриф и К, 2012. – С. 678.
4. Чікіткіна О. М. Експериментальне обґрунтування вибору дози та носія субстанції кверцетину у складі нового протидіабетичного засобу глікверину / О. М. Чікіткіна, І. В. Ковалевська, Н. М. Кононенко, В. В. Чікіткіна // Фармакол. та лікарська токсикол. – 2014. – № 3(39). – С. 57-62.
5. Dabhi A. S. Voglibose: An Alpha Glucosidase Inhibitor / A. S. Dabhi, N. R. Bhatt, M. J. Shah // J. Clin. Diagn. Res. – 2013. – Vol. 7, № 12. – P. 3023-3027.
6. Dardano A. Optimal therapy of type 2 diabetes: a controversial challenge / A. Dardano, G. Penno, S. Del Prato, R. Miccoli // Aging (Albany NY). – 2014. – Vol. 6, № 3. – P. 187-206.
7. Kim J. H. Quercetin attenuates fasting and postprandial hyperglycemia in animal models of diabetes mellitus / [J. H. Kim, M. J. Kang, H. N. Choi et al.] // Nutr. Res. Pract. – 2011. – Vol. 5, № 2. – P. 107-111.
8. Takami K. Effects of dietary treatment alone or diet with voglibose or glyburide on abdominal adipose tissue and metabolic abnormalities in patients with newly diagnosed type 2 diabetes / [K. Takami, N. Takeda, K. Nakashima et al.] // Diabetes Care. – 2002. – Vol. 25, № 4. – P. 658-662.



**УДК 615.252.349.7:616.379 – 008.64****О. М. Чикиткина, Н. Н. Кононенко, И. В. Ковалевская****ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ДОЗЫ ВОГЛИБОЗА В СОСТАВЕ НОВОГО ПРОТИВОДИАБЕТИЧЕСКОГО СРЕДСТВА ГЛИКВЕРИНА**

На нормогликемических крысах в условиях алиментарной нагрузки углеводами доказано отсутствие достоверной дозозависимости гипогликемического действия воглибоза в диапазоне доз 0,02-0,06 мг/кг, что позволило включить последний в состав комбинированного противодиабетического средства «Гликверин» в минимальной из изученных доз 0,02 мг/кг. По способности снижать уровень гликемии в условиях крахмальной и мальтозной нагрузки «Гликверин» в дозе 50 мг/кг кверцетина + 0,02 мг/кг воглибоза существенно превосходит отдельные составные компоненты и препарат сравнения акарбозу.

**Ключевые слова:** противодиабетические средства; воглибоз; кверцетин; гипогликемическое действие; крахмал; мальтоза

**UDC 615.252.349.7:616.379 – 008.64****О. М. Chikitkina, N. N. Kononenko, I. V. Kovalevskaya****EXPERIMENTAL BACKGROUND OF VOGLIBOSE DOSE WITHIN NEW ANTIDIABETIC AGENT GLIKVERIN**

On normoglycemic rats in terms of alimentary carbohydrates loading it was proved that there is no statistically significant dependency from the dose of voglibose in its hypoglycemic action in dose range 0,02-0,06 mg/kg. This allowed to include voglibose in structure of combined antidiabetic agent "Glikverin" in minimally investigated dose – 0.02 mg/kg. "Glikverin" (50 mg/kg of quercetin and 0,02 mg/kg of voglibose) significantly exceeded its' separate components and reference agent acarbose in ability to lower the glycemia level in terms of starch and maltose loading.

**Key words:** antidiabetic agents; voglibose; quercetin; hypoglycemic action; starch; maltose

*Адреса для листування:*  
61002, м. Харків, вул. Мельникова, 12.  
Тел. (057) 706-30-66.  
E-mail: chikitkina.valentina@mail.ru.  
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції  
05.03.2015 р.