

УДК 615.322:615.451.1:616.379

Надія КОНОНЕНКО

доктор медичних наук, професор, завідувачка кафедри нормальної та патологічної фізіології, Національний фармацевтичний університет, вул. Пушкінська, 53, м. Харків, Україна, 61002 (kononenkon76@gmail.com)

ORCID: 0000-0002-3850-6942

SCOPUS: 57193663039

Марія ТАНСЬКА

аспірантка кафедри нормальної та патологічної фізіології, Національний фармацевтичний університет, вул. Пушкінська, 53, м. Харків, Україна, 61002 (patology@nuph.edu.ua)

Бібліографічний опис статті: Кононенко Н., Танська М. (2023). Дослідження антигіперглікемічних властивостей нової фітокомпозиції на моделі цукрового діабету 2-го типу. *Фітотерапія. Часопис*, 4, 22–26, doi: 10.32782/2522-9680-2023-4-22

ДОСЛІДЖЕННЯ АНТИГІПЕРГЛІКЕМІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ НОВОЇ ФІТОКОМПОЗИЦІЇ НА МОДЕЛІ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 2-ГО ТИПУ

Актуальність. У фармакотерапії цукрового діабету 2-го типу (ЦД 2-го типу) та метаболічного синдрому, комплекс порушень яких розвивається на тлі інсулінорезистентності, як важливе профілактичне та лікувальне доповнення застосовують лікарські рослини й амінокислоти, що обумовлює актуальність розробки нових вітчизняних комбінованих антидіабетичних фітопрепаратів.

Мета дослідження – вивчення антигіперглікемічних властивостей фітокомпозиції на основі поліфенольного екстракту з листя журавлини великоплідної та амінокислот (L-аргінін, таурин, гліцин) на експериментальній моделі ЦД 2-го типу.

Матеріали та методи. Цукровий діабет 2-го типу відтворювали шляхом введення щуром розчину стрептозотоцину 65 мг/кг, внутрішньочеревно, одноразово з попереднім (за 15 хв) введенням нікотинамід у інтраперітонеально 230 мг/кг на тлі ожиріння (утримування щурів на висококалорійній дієті впродовж 12 тижнів). Антигіперглікемічну дію оцінювали на 30-ту добу експерименту за концентрацією глюкози й інсуліну в сироватці крові та індексом інсулінорезистентності.

Результати дослідження. Результати дослідження показали, що досліджувана фітокомпозиція чинить виражену антигіперглікемічну дію, яка реалізується, згідно з отриманими результатами, завдяки його здатності покращувати чутливість периферичних тканин до дії інсуліну, а отже, зменшувати прояви інсулінорезистентності. Вираженість антигіперглікемічної дії перевищує ефект відомого полікомпонентного антидіабетичного фітопрепарату «Арфа комбі».

Висновки. Отримані результати обґрунтовують доцільність подальшого вивчення фітокомпозиції як перспективного протидіабетичного засобу.

Ключові слова: цукровий діабет 2-го типу, стрептозоточин, нікотинамід, глікемія, інсулінемія, журавлина великоплідна, амінокислоти.

Nadiia Kononenko

Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Normal and Pathological Physiology, National University of Pharmacy, Pushkinska str., 53, Kharkiv, Ukraine, 61002 (kononenkon76@gmail.com)

ORCID: 0000-0002-3850-6942

SCOPUS: 57193663039

Mariia TANSKA

Graduate student of the Department of Normal and Pathological Physiology, National University of Pharmacy, Pushkinska str., 53, Kharkiv, Ukraine, 61002 (patology@nuph.edu.ua)

To cite this article: Kononenko N., Tanska M. (2023). Study of antihyperglycemic properties of a new phytocomposition on a type 2 diabetes model [Study of antihyperglycemic properties of a new phytocomposition on the type 2 diabetes model]. *Fitoterapiia. Chasopys – Phytotherapy. Journal*, 4, 22–26, doi: 10.32782/2522-9680-2023-4-22

STUDY OF ANTIHYPERGLYCEMICAL PROPERTIES OF A NEW PHYTOCOMPOSITION ON THE TYPE 2 DIABETES MODEL

Actuality. In the pharmacotherapy of type 2 diabetes mellitus and metabolic syndrome, a complex of disorders that develop against the background of insulin resistance, medicinal plants and amino acids are used as an important preventive and therapeutic agent, which makes the development of new domestic combined antidiabetic phytopreparations relevant.

The purpose of the work. Study of the antihyperglycemic properties of a phytocomposition based on a polyphenolic extract from large-fruited cranberry leaves and amino acids (L-arginine, taurine, glycine) on an experimental model of type 2 diabetes.

Material and methods. Type 2 diabetes mellitus was reproduced by administering to rats a solution of streptozotocin 65 mg/kg, intraperitoneally, once with a preliminary (15 min) administration of nicotinamide intraperitoneally 230 mg/kg against the background of obesity (keeping rats on a high-calorie diet for 12 weeks). The antihyperglycemic effect was assessed on the 30th day of the experiment by the concentration of glucose and insulin in the blood serum and the index of insulin resistance.

Research results. The results of the study showed that the studied phytocomposition has a pronounced antihyperglycemic effect, which is realized, according to the results obtained, due to its ability to improve the sensitivity of peripheral tissues to the action of insulin, and thus reduce the manifestations of insulin resistance. The severity of the antihyperglycemic action exceeds the effect of the well-known multicomponent antidiabetic herbal preparation "Harp Combi".

Conclusions. The results obtained substantiate the expediency of further study of the phytocomposition as a promising antidiabetic agent.

Key words: type 2 diabetes mellitus, streptozotocin, nicotinamide, glycemia, insulinemia, large-fruited cranberries, amino acids.

Вступ. Цукровий діабет (ЦД) – одне з найбільш поширених захворювань у світі. За даними Global Burden of Diseases, у 2017 році діабет перебував на 7-му місці у світі за кількістю втрачених років життя з поправкою на якість життя (QALY – quality adjusted life years) (AlOtaibi, Almesned, Alahaideb, 2021, pp. 3481–3489). На 1-му місці за втраченими QALY у світі – серцево-судинні захворювання, при цьому діабет є одним з основних ризик-факторів у розвитку цих захворювань. У 1999 році Американська асоціація лікарів-кардіологів визнала діабет основним ризик-фактором серцевих захворювань поряд із палінням, гіпертонією, надлишковою масою тіла й іншими. Всесвітня організація охорони здоров'я визнає діабет однією з 4 основних неінфекційних хвороб (non-communicable diseases). Зменшити на третину передчасну смертність від цих 4 захворювань за допомогою профілактики й лікування є однією із 17 Цілей сталого розвитку центру «Порядку денного 2030» Організації Об'єднаних Націй, яку разом з іншими країнами поставила перед собою і Україна (Institute for health metrics and evaluation, Seattle, Washington, <http://ghdx.healthdata.org/gbd-2017>).

За даними Міжнародної діабетичної фундації поширеність діабету 2-го типу в 10 разів вища, ніж діабету 1-го типу, 91–96 % пацієнтів із ЦД мають діабет 2-го типу (Cochrane Database Syst Rev, 2020).

ЦД діагностується у все більш молодого населення – у світі кількість нових випадків діабету серед населення молодше 40 років зростає зі значною швидкістю – на 9 % щорічно. Це значно збільшує економічні втрати від ЦД внаслідок передчасного вибуття громадян з економічно активного населення.

Враховуючи мультифакторіальність патогенезу ЦД 2-го типу та його ускладнень, доцільним і перспективним є застосування в комплексній терапії захворювання лікарських рослин і препаратів на їх основі з антигіперглікемічними й іншими фармакологічними властивостями (Kanat, DeFronzo, Abdul-Ghani, 2015, pp. 1207–1222). Лікарські рослини

добре поєднуються з антидіабетичними засобами (McCraith, Bailey, Pearson, 2016, pp. 426–435), посилюючи їх терапевтичний ефект, покращують чутливість тканин до інсуліну, активізують репаративні процеси у β -клітинах підшлункової залози на тлі відсутності токсичності та ризику негативних побічних реакцій у разі тривалого застосування.

Перспективною рослинною сировиною, яку можна використати для розробки антигіперглікемічних засобів, є *Vaccinium macrocarpon* (журавлина великоплідна) – рослина родини вересових (Ericaceae). Вибір листя журавлини великоплідної, як сировини для одержання поліфенольного екстракту, обумовлений значним вмістом у ньому фенольних сполук, які відповідають за гіпоглікемічну активність, що зумовлена наявністю простих фенолів (арбутин); флавоноїдів, які покращують мікроциркуляцію тканин завдяки мембраностабілізуючій та антиоксидантній дії; аскорбінової кислоти; гідроксикоричних кислот, зокрема галової та хлорогенової кислот, які здатні інгібувати глюкозо-6-фосфатазу. Цей фермент каталізує кінцевий етап гліколізу та глікогенезу (Blumberg, Camesano, Cassidy, 2013, pp. 618–632). Актуальним також є посилення гіпоглікемічної активності за модифікації екстракту журавлини великоплідної листя амінокислотами, вплив яких на метаболічні процеси на тлі інсулінорезистентності обґрунтовується даними літератури.

Різносторонній науковий інтерес останнім часом прикутий до сірковмісної амінокислоти таурин (2-аміноетансульфонова кислота, $\text{H NCH}_2\text{-CH}_2\text{-SO}_3\text{H}$). Ця природна амінокислота бере участь у біохімічних перетвореннях, сприяє поліпшенню енергетичних процесів, відіграє суттєву роль в обміні жирів, входить до складу парних жовчних кислот, сприяє емульгуванню жирів у кишечнику. Характерною особливістю таурину є здатність стимулювати репаративні процеси, стабілізувати вуглеводний обмін, знижувати середньодобову глікемію (Schaffer, Won Kim, 2018, pp. 225–241).

Відомо, що чимало захворювань сприяють розвитку дефіциту L-аргініну (серцево-судинні захворювання, ЦД, ожиріння, хронічний стрес тощо). Основним негативним наслідком дефіциту аргініну в організмі є зниження продукції NO, який утворюється з аргініну під дією Ca²⁺-залежного ферменту NO-синтази, що зумовлює виникнення ендотеліальної дисфункції (Menzel, Haller, Wilhelm, 2018, pp. 557–568). Встановлена роль дефіциту L-аргініну в патогенезі ЦД 2-го типу та його ускладнень.

Гліцин є замінною амінокислотою і у здорових молодих людей за умови повноцінного харчування надходить до організму та синтезується в достатніх кількостях (Petrat, Boengler, Schulz, 2012, pp. 2059–2072). Разом із тим у хворих на ЦД здебільшого спостерігається дефіцит гліцину в крові.

У Національному фармацевтичному університеті розроблено поліфенольний екстракт із листя журавлини великоплідної з додаванням амінокислот.

Мета дослідження – вивчення антигіперглікемічних властивостей фітокомпозиції на основі поліфенольного екстракту з листя журавлини великоплідної та амінокислот (L-аргінін, таурин, гліцин) на експериментальній моделі ЦД 2-го типу.

Матеріали та методи дослідження. Експерименти проведено на 40 білих нелінійних щурах-самцях, масою 200–250 г, що утримувались у стандартних умовах віварію Навчально-наукового інституту прикладної фармації НФаУ. Усі маніпуляції проводили з дотриманням принципів біоетики відповідно до положення Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes, Страсбург, 1986), Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (від 15.12.2009 № 1759-VI) і Директиви Європейського Союзу 2010/10/63 ЕУ щодо експериментів на тваринах.

Сухий спиртовий екстракт із листя журавлини великоплідної з додаванням амінокислот отримано на кафедрі фармакогнозії Національного фармацевтичного університету під керівництвом професора О. М. Кошового. В одержаному сухому екстракті з листя журавлини великоплідної міститься не менше ніж 10 % фенольних сполук у перерахунку на галову кислоту, не менше ніж 5 % гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту та не менше ніж 2 % флавоноїдів у перерахунку на рутин.

Референс-фітозасіб «Арфа комбі» (ВАТ «Фармак», Україна, містить таурин, екстракт перикарпію квасолі, екстракт листя чорниці) вво-

дили в дозі 150 мг/кг (дозу для тварин розраховували з використанням коефіцієнта видової стійкості).

Цукровий діабет 2-го типу моделювали за методикою Islam S., Choi H. (Islam, Choi, 2007, pp. 243–249) шляхом введення щурам розчину стрептозотоцину (STZ, Sigma, США) 65 мг/кг, внутрішньочеревно, одноразово з попереднім (за 15 хв) введенням нікотинамідом (N, Sigma – Aldrich, США) інтраперітонеально 230 мг/кг на тлі ожиріння (утримання щурів на висококалорійній дієті впродовж 12 тижнів). Щури протягом 12 тижнів перебували на висококалорійній дієті (дієта з надмірним вмістом насичених жирів: білки – 20,0 %, жири – 60,0 %, вуглеводи – 20,0 % від загального калоражу). Стрептозотозин розчиняли *ex tempore* і вводили на цитратному буфері (рН 4,5), зважаючи на той факт, що в лужному та нейтральному середовищах він швидко деградує до неактивних метаболітів і втрачає свою діабетогенну активність. Тварин шляхом сліпої вибірки було рандомізовано в такі групи (n = 10): 1-ша – інтактний контроль (ІК); 2-га – щури з контрольною патологією (КП); 3-тя – щури, які на тлі стрептозотоцину з попереднім введенням нікотинамідом одержували фітокомпозицію дозою 100 мг/кг внутрішньошлунково; 4-та – тварини із ЦД, які отримували референтний лікарський засіб – Арфа-комбі.

Досліджувану фітокомпозицію та референс-препарат вводили один раз на день протягом 28 діб. Перше введення засобів починали через 24 год після індукції діабету. Тварини групи контролю отримували відповідну кількість цитратного буфера (рН 4,5).

Стан глюкозного гомеостазу тварин на фоні модельної патології оцінювали на 30-ту добу експерименту за рівнем базальної глікемії та базальної інсулінемії (Matthews, 1985, pp. 412–419).

Концентрацію глюкози в сироватці крові визначали натще з використанням глюкозооксидазного методу за допомогою глюкометра One touch ultra easy (виробництва LifeScan, Johnson & Johnson, США).

Концентрацію інсуліну в сироватці крові визначали натще імуноферментним методом із використанням стандартного набору реактивів DRG, Німеччина.

Показник інсулінорезистентності (індекс НОМА-IR) розраховували з огляду на показники глюкози й інсуліну в крові тварин натще з використанням алгоритму НОМА (Matthews, 1985, pp. 412–419).

Статистичну обробку результатів проводили на персональному комп'ютері з використанням пакетів Excel і Statistica 6.0 для Windows. Для визначення вірогідних відмінностей між дослідними групами

застосовували критерій Н'юмена – Кейлса та тест Мана – Уїтні. Відмінності вважали статистично значущими з $p < 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення.
У нашому дослідженні відтворений ЦД 2-го типу

характеризувався вираженою гіперглікемією (достовірне зростання рівня глюкози у 2,13 раза порівняно з ІК) та гіперінсулінемією (достовірне збільшення рівня інсуліну в 1,68 раза порівняно з ІК) на 14-ту добу (табл. 1).

Таблиця 1

Вплив фітокомпозиції на показники вуглеводного обміну в сироватці крові щурів за умов цукрового діабету 2-го типу ($X \pm S_x$, $n = 10$)

Групи тварин	Показники		
	Базальна глікемія, ммоль/л	Базальна інсулінемія, пмоль/л	НОМА-ІР
Інтактний контроль	6,56 ± 0,310	95,52 ± 2,77	1,89
Контрольна патологія	14,03 ± 0,491*	161,03 ± 2,45*	3,86*
Фітокомпозиція, 100 мг/кг	8,10 ± 0,348***	103,22 ± 2,04*/**	2,10**
Арфа комбі, 150 мл/кг	11,80 ± 0,211**/#	124,67 ± 1,77**	2,30**

Примітки:

* – відмінності статистично значущі щодо значень групи ІК ($p \leq 0,05$);

** – відмінності статистично значущі щодо значень групи КП ($p \leq 0,05$);

– відмінності статистично значущі щодо значень групи фітокомпозиції ($p \leq 0,05$).

З метою підтвердження порушень вуглеводного обміну на тлі модельної патології нами було розраховано індекс ІР, який достовірно зростав у 2,04 раза порівняно з ІК, що свідчило про формування у тварин ІР – ключової патогенетичної ланки ЦД 2-го типу (табл. 1).

Уведення досліджуваної фітокомпозиції піддослідним тваринам протягом 28 діб супроводжувалося достовірним зниженням усіх досліджуваних показників. Зокрема, рівень глюкози зменшився на 42,3 % порівняно зі значеннями тварин групи КП, гіперінсулінемія – на 36 % відповідно (табл. 1).

Достовірне зниження індексу НОМА-ІР на 45,6 % у групі тварин, що отримували досліджуваний фітоекстракт, свідчило про підвищення чутливості периферичних тканин до дії інсуліну (табл. 1).

Ключовою ланкою патогенезу ЦД 2-го типу та метаболічного синдрому вважається первинна інсулінорезистентність, за умови якої відбуваються значні порушення вуглеводного й ліпідного обміну, що підвищують ризик розвитку серцево-судинних захворювань, прогресування атеросклерозу та смертність серед хворих на ЦД 2-го типу. Інсулінорезистентність і ендотеліальна дисфункція (ЕД) розглядаються як асоційовані стани – вони формують порочне коло, яке призводить до метаболічних і мікроциркуляторних порушень за наявності ЦД. Біохімічні механізми корегувального впливу досліджуваної фітокомбінації щодо порушень вуглеводного обміну пов'язані з фармакологічними властивостями її складових. Незважаючи на різноманіття

механізмів розвитку, ключова роль у патогенезі ЕД, на думку більшості дослідників, належить дефіциту оксиду азота (NO) та внутрішньоклітинному оксидативному стресу. Треба зауважити, що чимало патологічних станів і захворювань сприяють розвитку дефіциту L-аргініну (серцево-судинні захворювання, цукровий діабет, ожиріння, хронічний стрес тощо). Основним негативним наслідком дефіциту аргініну в організмі є зниження продукції NO, що зумовлює виникнення ендотеліальної дисфункції. Гіпоглікемічна дія таурину пов'язана з його здатністю оборотно та специфічно зв'язуватися з рецепторами інсуліну. Гліцин перешкоджає глюкозозалежній індукції автокаталітичних процесів: збільшує секрецію інсуліну і знижує глюконеогенез у печінці, що має сприяти нормалізації метаболізму на ранніх етапах захворювання.

За антигіперглікемічною дією досліджувана фітокомпозиція перевищувала активність препарату порівняння «Арфа комбі», який зменшував рівень глюкози в сироватці крові щурів на 15,9 % порівняно з КП. За здатністю покращувати чутливість периферичних тканин до дії інсуліну та зменшувати рівень ІР препарат порівняння «Арфа комбі» також поступався досліджуваній фітокомпозиції.

Отже, аналізуючи отримані дані, можна дійти висновку, що на моделі стрептозотоцинового діабету 2-го типу досліджуваний поліфенольний екстракт з амінокислотами поліпшує чутливість периферичних тканин до дії інсуліну та виявляє антигіперглікемічну дію, вираженість якої перевищує ефект

відомого полікомпонентного антидіабетичного фітопрепарату «Арфа комбі».

Висновки. На моделі ЦД 2-го типу, викликаного стрептозотоцином із попереднім введенням нікотинамідів встановлено, що досліджуваний поліфенольний екстракт з амінокислотами чинить виражену антигіперглікемічну дію, яка реалізується, згідно з отриманими результатами,

завдяки його здатності покращувати чутливість периферичних тканин до дії інсуліну, а отже, зменшувати прояви інсулінорезистентності. Вираженість антигіперглікемічної дії фітокомпозиції перевищує дію фітопрепарату «Арфа комбі». Отримані результати обґрунтовують доцільність подальшого вивчення фітокомпозиції як перспективного протидіабетичного засобу.

ЛІТЕРАТУРА

- AlOtaibi, A.A., Almesned, M., Alahaideb, T.M. (2021). Assessment of diabetes-related distress among type 2 diabetic patients. *J Family Med Prim Care*, 10 (9). P. 3481–3489.
- Global Burden of Disease database. Institute for health metrics and evaluation, Seattle, Washington. Retrieved from: https://www.healthdata.org/sites/default/files/files/policy_report/2019/GBD_2017_Booklet.pdf (Date of access: 20.11.2023).
- Screening for Type 2 diabetes mellitus. Cochrane Database Syst Rev. (2020). Retrieved from: <https://www.cochranelibrary.com/cdsr/doi/10.1002/14651858.CD005266.pub2/information> (Date of access: 21.11.2023).
- Kanat, M., DeFronzo, R. A., Abdul-Ghani, M. A. (2015). Treatment of prediabetes. *Diabetes*, 6 (12). P. 1207–1222.
- McCreight, L.J., Bailey, C.J., Pearson, E.R. (2016). Metformin and the gastrointestinal tract. *Diabetologia*, 59 (3). P. 426–435.
- Blumberg, J.B., Camesano, T.A., Cassidy, A. (2013). Cranberries and their bioactive constituents in human health. *Adv. Nutr*, 4. P. 618–632.
- Schaffer, S., Won Kim, H. (2018). Effects and Mechanisms of Taurine as a Therapeutic Agent. *Biomol Ther (Seoul)*, 26 (3). P. 225–241.
- Menzel, D., Haller, H., Wilhelm, M. (2018). L-arginine and B Vitamins Improve Endothelial Function in Subjects with Mild to Moderate Blood Pressure Elevation. *Eur. J. Nutr*, 57 (2). P. 557–568.
- Petrat, F., Boengler, K., Schulz, R. (2012). Glycine, a simple physiological compound protecting by yet puzzling mechanism(s) against ischaemia-reperfusion injury: current knowledge. *British journal of pharmacology*, 165. P. 2059–2072.
- Islam, S., Choi, H. (2007). Nongenetic Model of Type 2 Diabetes: A Comparative Study. *Pharmacology*, 79. P. 243–249.
- Matthews, D.R. (1985). Homeostasis model assessment: insulin resistance and b-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*, 28 (3). P. 412–419.

Стаття надійшла до редакції 05.11.2023

Стаття прийнята до друку 12.11.2023

Конфлікт інтересів: відсутній.

Внесок авторів:

Кононенко Н. М. – ідея, дизайн дослідження, коректування статті;

Танська М. С. – науковий пошук інформації, аналіз інформаційних джерел літератури, проведення експерименту, написання статті, резюме, висновки.

Електронна адреса для листування з авторами:

kononenkonn76@gmail.com