

А. Д. Савина¹, С. В. Иванов², Р. П. Терехов¹, И. А. Селиванова¹

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТЕКТОРНЫХ СВОЙСТВ СФЕРОИДНОЙ ФОРМЫ ДИГИДРОКВЕРЦЕТИНА НА СТРЕПТОЗОТОЦИНОВОЙ МОДЕЛИ ДИАБЕТА

¹ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Россия, г. Москва

²ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В. В. Закусова», Россия, г. Москва

Исследовано влияние дигидрокверцетина на течение сахарного диабета 2 типа, индуцированного внутрибрюшинным введением стрептозотоцина в дозе 45 мг/кг, у 20 крыс линии Wistar. Животные были рандомизированы в 3 группы: экспериментальную (крысы получали стрептозотоцин однократно и дигидрокверцетин в дозе 50 мг/кг на протяжении 28 суток); активного контроля (стрептозотоцин однократно и физраствор ежедневно) и пассивного контроля (цитратный буфер однократно и физраствор ежедневно). Определено, что выживаемость животных в группе активного контроля составила 85,7%, в экспериментальной группе и у здоровых животных – 100%. У всех животных наблюдалось изменение массы тела: увеличение в группе пассивного контроля, снижение в группе активного контроля и экспериментальной группе. Установлено, что введение дигидрокверцетина приводит к статистически значимому снижению уровня гликемии в 1,54 раза, а также уменьшению симптома полифагии на 82,46% в сравнении с группой активного контроля и группой здоровых животных.

Ключевые слова: дигидрокверцетин, сахарный диабет 2 типа, антиоксидантные свойства.

ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на широкое разнообразие существующих антидиабетических средств, поиск новых молекул для лечения и профилактики сахарного диабета (СД) активно продолжается.

Активация перекисного окисления липидов, сочетающаяся с дефицитом антиоксидантов, является одним из факторов развития СД 2 типа [1]. В панкреатических β -клетках эти патологические процессы выражены сильнее, чем в других тканях [2]. Поэтому одним из ключевых направлений экспериментальных исследований является изучение антидиабетической активности соединений, обладающих радикалсвязывающими свойствами.

Дигидрокверцетин (ДКВ) – 2R,3R-дигидро-2-(3,4-дигидроксифенил)-3,5,7-тригидрокси-4H-бензопиран-4-он – природный флавоноид, получаемый из древесины лиственницы даурской (*Larix dahurica* Turcz.). Благодаря выраженным антиоксидантным свойствам и высокому профилю безопасности данное соединение представляет интерес для изучения возможности его применения в терапии СД [3].

ДКВ способен существовать в несколь-

ких фазовых модификациях [4, 5]. Ранее в качестве антидиабетического средства была исследована кристаллическая форма ДКВ, для которой выявлено снижение уровня гликированного гемоглобина [6]. В настоящее время его безводная кристаллическая форма производится в качестве фармацевтической субстанции (ДКВфс) – ФС 42-3854-99. Эта модификация послужила основой для синтеза сфероидной формы (ДКВс) методом распылительной сушки [5]. Преимуществами ДКВс являются повышенная растворимость при комнатной температуре, более высокий профиль безопасности и пролонгированный режим высвобождения из таблеток [7], что позволяет рассматривать её как более предпочтительную форму для длительной терапии. Антидиабетические свойства ДКВс, согласно нашим данным, в литературе не описаны.

Таким образом, цель исследования – изучить влияние ДКВс на протекание экспериментального СД 2 типа на стрептозотоциновой модели у крыс линии Wistar в сравнении с плацебо.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Животные. Эксперименты выпол-

нены на взрослых крысах-самцах линии Wistar, с исходной массой тела 250–270 г, полученных из питомника «Столбовая». Животные имели свободный доступ к корму (за исключением 16 часов, предшествующих введению стрептозотоцина (СТЗ) и проведению перорального теста толерантности к глюкозе (ПТТГ)) и к питьевой воде. Животные содержались в соответствии с ГОСТ 33215-2014.

Материалы. Объект исследования: ДКВс, произведен АО Аметис Благовещенск, Россия). ДКВ растворяли в физиологическом растворе (ФР) (Авексима Сибирь, Анжеро-Судженск, Россия). В качестве диабетогенного токсина применяли СТЗ (Sigma-Aldrich, Берлингтон, США).

Цитратный буфер (Sigma-Aldrich, Берлингтон, США).

Дизайн эксперимента. СД 2 типа моделировали путем однократного внутрибрюшинного введения свежеприготовленного раствора СТЗ в дозе 45 мг/кг, растворенного в холодном цитратном буфере (pH=4,5). Выбор дозы в качестве моделирующей СД2 типа связан с выявленным фактом снижения уровня инсулина в крови на 48% и сохранения 30% жизнеспособных β -клеток в поджелудочной железе [10]. В эксперимент включали животных, у которых уровень глюкозы в крови через 72 часа после введения СТЗ составлял не менее 15 ммоль/л.

Крыс ($n=20$) рандомизировали в 3 группы (рисунок 1).



Рисунок 1. – Дизайн эксперимента

Крысам группы пассивного контроля ($n = 5$) в 1-й день эксперимента вводили цитратный буфер однократно внутрибрюшинно, в последующие 28 дней – ФР в объеме 1 мл/кг перорально; животным активного контроля ($n = 7$) в 1-й день эксперимента вводили СТЗ 45 мг/кг, в последующие 28 дней – ФР; экспериментальной группе ($n = 8$) в 1-й день эксперимента вводили СТЗ 45 мг/кг, в последующие 28 дней ДКВ в виде суспензии в ФР вводили перорально в дозе 50 мг/кг.

Суспензию для всех животных экспериментальной группы готовили путем диспергирования навески ДКВ массой 104 мг в ФР объемом 2,2 мл.

Определение уровня глюкозы проводили с помощью прибора One Touch Select plus (Life Scan, Цуг, Швейцария) в 1-й, 7-й, 14-й, 21-й, 28-й дни эксперимента (рисунок 1). Потребление воды и корма в пересчете на одну крысу измеряли ежедневно, при этом вычисляли разницу между ее ис-

ходным количеством и остатком, а массу тела животных – еженедельно.

ПТТГ. На 28-й день эксперимента проводили ПТТГ. За 16 часов до проведения теста животным прекращали давать пищу, но обеспечивали свободный доступ к воде. Раствор глюкозы вводили перорально в дозе 3 г/кг. Образцы крови отбирали из хвостовой вены непосредственно перед началом теста, а также через 30, 60, 90 и 120 мин после введения глюкозы.

Статистическая обработка. Рассчитывали среднее арифметическое значение M и стандартную ошибку среднего арифметического SEM . Различие средних показателей считалось достоверным при $p < 0,05$.

Для расчёта среднего уровня гликемии по отношению к исходному значению (N , %) для каждой группы использовали формулу:

$$N = \frac{\sum_{i=1}^a \left(\frac{n_x}{n_0} \right)}{a} \cdot 100\%$$

где n_0 – исходная концентрация глюкозы в крови отдельной особи (ммоль/л),
 n_x – концентрация глюкозы в крови отдельной особи в день измерения (ммоль/л),
 a – количество животных в конкретной группе.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Выживаемость животных в группах пассивного контроля, активного контроля и в экспериментальной группе составила 100,0%, 85,7% и 100,0%, соответственно.

В ходе мониторинга изменения массы тела отмечено значимое различие между изучаемыми группами к концу четвертой недели: в экспериментальной группе средняя

масса уменьшилась на 25,4%, в то время как в группе плацебо этот показатель составил всего 8,6%, а в группе пассивного контроля масса крыс увеличилась в среднем на 21,7%. Снижение массы тела в группе ДКВс происходило на фоне меньшего ежедневного потребления корма (рисунок 2). В данной группе полифагия снизилась на 82,46% по сравнению с группой активного контроля.

За 4 недели в группе активного контроля уровень глюкозы в целом увеличился на 34,83%, в группе (СТЗ+ДКВ), напротив, уменьшился на 12,43% по сравнению с исходным (рисунок 3). Отмечено, что концентрация глюкозы в крови в группах пассивного и активного контроля увеличилась по 0,1 ммоль/л и 1,0 ммоль/л в неде-

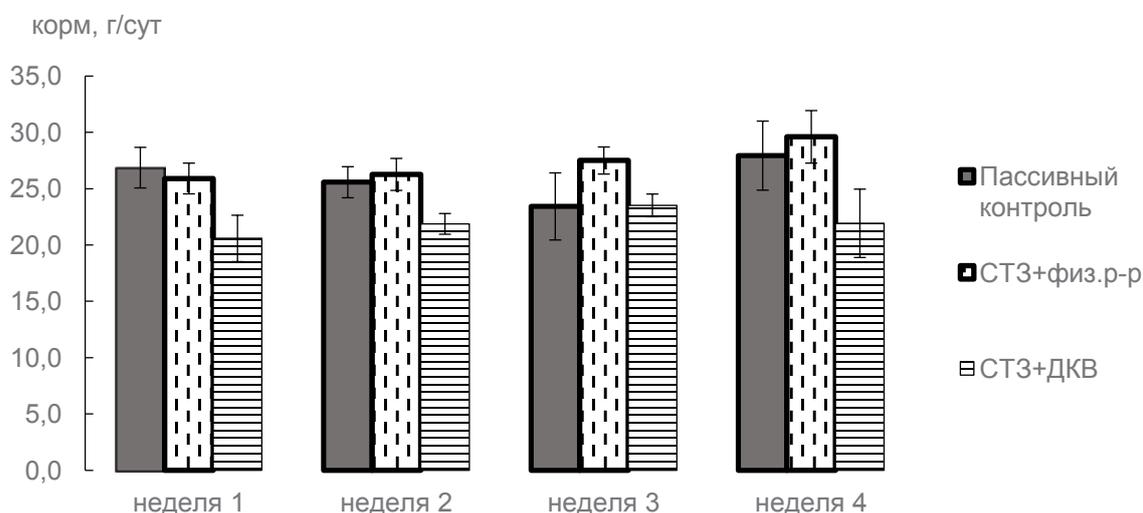


Рисунок 2. – Мониторинг полифагии

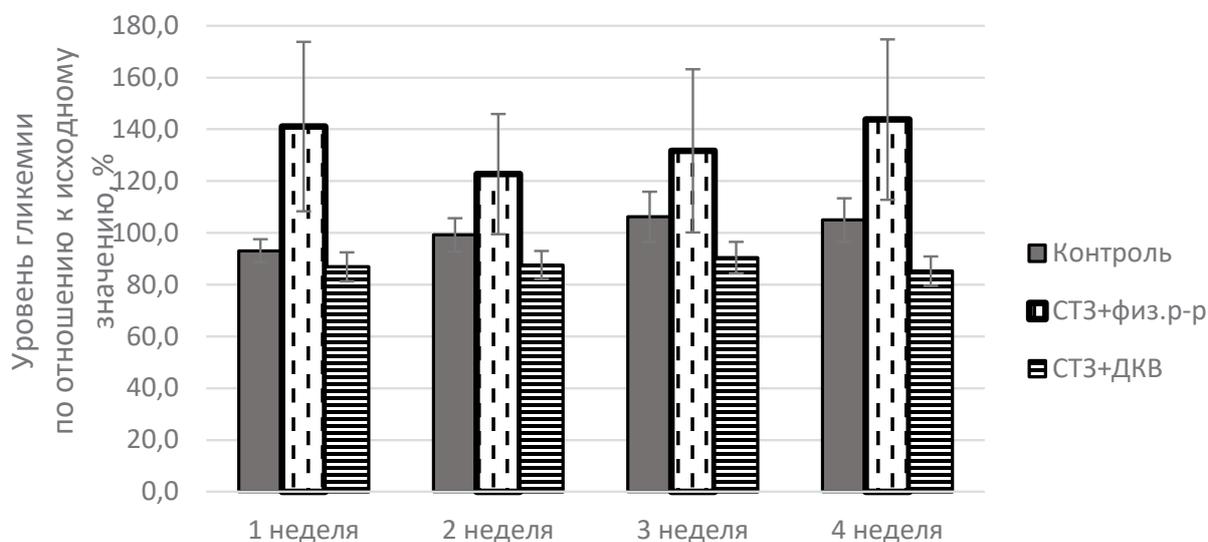


Рисунок 3. – Мониторинг уровня глюкозы

лю соответственно. В группе, получавшей суспензию ДКВс, концентрация глюкозы снижалась по 0,7 ммоль/л в неделю.

Дальнейшие исследования будут направлены на фармацевтическую разработку лекарственной формы на базе ДКВс и изучение его терапевтической широты. Аморфная форма ДКВ представляет интерес в качестве перспективного объекта для терапии СД.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Определено, что введение дигидрокверцетина в сфероидной форме крысам на фоне сахарного диабета, вызванного стрептозоцином, приводит к сохранению 100% выживаемости животных.

В трех выделенных группах животных отмечено значимое различие относительных показателей изменения массы тела к концу четвертой недели проведенного мониторинга. В экспериментальной и группе активного контроля произошло снижение массы на 25,4% и 8,6% соответственно, в группе пассивного контроля прирост в среднем на одно животное составил 21,7%.

Доказано, что дигидрокверцетин в сфероидной форме способствует снижению выраженной симптоматики сахарного диабета 2 типа.

SUMMARY

A. D. Savina, S. V. Ivanov,
R. P. Terekhov, I. A. Selivanova
RESEARCH OF TAXIFOLIN
SPHEROIDAL FORM PROTECTIVE
PROPERTIES IN STREPTOZOTOCIN
MODEL OF DIABETES MELLITUS

Taxifolin effect on the course of diabetes mellitus type 2, induced by intraperitoneal administration of streptozotocin at a dose of 45 mg/kg, in 20 rats line Wistar is studied. The animals were randomized into 3 groups: experimental (rats received streptozotocin once and dihydroquercetin at a dose of 50 mg/kg for 28 days), active control (streptozotocin once and saline solution daily), and passive control (citrate buffer once and saline solution daily). We found that the survival rate of animals in the active control group was 85,7%, in the experimental group and in healthy animals it was 100%. All animals had a change in body weight: There was an increase in the

passive control group and a decrease in the active control group and the experimental group. It was determined that the administration of dihydroquercetin leads to a statistically significant decrease in the glycaemia level as low as 1,54 times, and the decrease in polyphagia symptom by 82,46% in comparison with the active control group and the group of healthy animals was revealed.

Keywords: taxifolin, diabetes mellitus type 2, antioxidant properties.

ЛИТЕРАТУРА

1. Effects of lithium on oxidative stress parameters in healthy subjects / R. Khairova [et al.] // *Molecular Med. Rep.* – 2012. – Vol. 5, N 3. – P. 680–682.
2. ROS signaling, oxidative stress and Nrf2 in pancreatic beta-cell function / J. Pi [et al.] // *Toxicology and Applied Pharmacology.* – 2010. – Vol. 244, N 1. – P. 77–83.
3. Toxicological and genotoxicity assessment of a dihydroquercetin-rich dahurian larch tree (*Larix Gmelinii* Rupr) extract (Lavitol) / A. G. Schauss [et al.] // *Intern. J. of Toxicology.* – 2015. – Vol. 34, N 2. – P. 162–181.
4. Taxifolin tubes: crystal engineering and characteristics / R. P. Terekhov [et al.] // *Acta crystallographica Section B, Structural science, crystal eng. and materials.* – 2019. – Vol. 75, Pt. 1. – P. 175–182.
5. Exploring Taxifolin Polymorphs: Insights on Hydrate and Anhydrous Forms / F. C. S. Moura [et al.] // *Pharmaceutics.* – 2021. – Vol. 13, N 9. – P. 1328.
6. Сравнительная оценка эффективности биофлавоноидов Диквертина и Танакана в комплексной терапии сахарного диабета 2 типа / Л. В. Недосугова [и др.] // *Клиническая фармакология и терапия.* – 2000. – Т. 9, № 4. – С. 65–67.
7. Modification of Taxifolin Properties by Spray Drying / A. Taldaev [et al.] // *Scientia Pharmaceutica.* – 2022. – Vol. 90, N 4. – P. 67.

REFERENCES

1. Khairova R, Pawar R, Salvadore G, Juruena MF, de Sousa RT, Soeiro-de-Souza MG et al. Effects of lithium on oxidative stress parameters in healthy subjects. *Mol Med Rep.* 2012;5(3):680–2. doi: 10.3892/mmr.2011.732
2. Pi J, Zhang Q, Fu J, Woods CG, Hou Y, Corkey BE et al. ROS signaling, oxidative stress and Nrf2 in pancreatic beta-cell function. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2010;244(1):77–83. doi: 10.1016/j.taap.2009.05.025
3. Schauss AG, Tselyico SS, Kuznetsova VA, Yegorova I. Toxicological and genotoxic-

ity assessment of a dihydroquercetin-rich dahurian larch tree (*Larix Gmelinii* Rupr) extract (Lavitol). *Int J Toxicol.* 2015;34(2):162–81. doi: 10.1177/1091581815576975

4. Terekhov RP, Selivanova IA, Tyukavkina NA, Shylov GV, Utenishev AN, Porozov YB. Taxifolin tubes: crystal engineering and characteristics. *Acta Crystallogr B Struct Sci Cryst Eng Mater.* 2019;75(Pt 1):175–82. doi: 10.1107/S2052520619000969

5. Moura FCS, Pinna N, Vivani R, Nunes GE, Schoubben A, Belle Bresolin TM et al. Exploring Taxifolin Polymorphs: Insights on Hydrate and Anhydrous Forms. *Pharmaceutics.* 2021;13(9):1328. doi: 10.3390/pharmaceutics13091328

6. Nedosugova LV, Volkovoi AK, Rud'ko IA, Begliarov DA, Kubatiev AA, Balabolkin MI. Comparative evaluation of the effectiveness of

bioflavonoids Diquertin and Tanakan in the complex therapy of type 2 diabetes mellitus. *Klinicheskaia farmakologiya i terapiia.* 2000;9(4):65–7. (In Russ.)

7. Taldaev A, Terekhov RP, Selivanova IA, Pankov DI, Anurova MN, Markovina IYu et al. Modification of Taxifolin Properties by Spray Drying. *Sci Pharm.* 2022;90(4):67. doi: 10.3390/scipharm90040067

Адрес для корреспонденции:

119991, Россия,

г. Москва, Трубецкая ул., д. 8, стр. 2,

Институт фармации им. А.П. Нелюбина,

ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова

Минздрава России (Сеченовский Университет),

кафедра химии,

Терехов Р. П.

Поступила 14.12.2022 г.