

## ИЗУЧЕНИЕ АНТИДИАБЕТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ЖЕЛАТИНОВЫХ РЕКТАЛЬНЫХ КАПСУЛ С МЕТФОРМИНОМ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ

С. И. Провоторова<sup>1</sup>, Л. М. Макарова<sup>2</sup>, Э. Ф. Степанова<sup>2</sup>, В. Е. Погорелый<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Воронежский государственный университет

<sup>2</sup>Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России

Поступила в редакцию

**Аннотация.** На модели аллоксанового диабета крыс показано, что разработанные желатиновые ректальные капсулы (ЖРК), содержащие метформин, достоверно понижают уровень глюкозы в крови больных животных по сравнению с нелеченой группой лабораторных животных. Эффект ЖРК с метформинном в дозе 150 мг/кг сравним с эффектом препарата сравнения – таблеток метформина (150 мг/кг). Курсовое введение ЖРК с метформинном существенно ограничивало лактат-ацидоз и накопление пирувата в крови, приводило к снижению активности перекисного окисления липидов и нормализации системы антиоксидантной защиты, а также показателей эндогенной интоксикации (мочевины и среднемолекулярных пептидов) по сравнению с контрольной группой животных. Полученные результаты доклинических исследований свидетельствуют о перспективности применения ЖРК с метформинном как альтернативы существующим пероральным лекарственным формам метформина.

**Ключевые слова:** метформин, диабет, желатиновые ректальные капсулы, экспериментальная фармакология

**Abstract.** In the model of alloxan diabetes in rats demonstrated that developed gelatin rectal capsules containing metformin significantly reduce the blood glucose level of diseased animals as compared to untreated group of laboratory animals. Effect of with metformin 150 mg / kg is comparable to the effect of comparator - of tablets of metformin (150 mg / kg). A course of the introduction of concentrate with metformin significantly limiting lactic acidosis and accumulation of pyruvate in the blood, resulting in decline, indicators of antioxidant status (superoxide dismutase activity, the level of lipid peroxidation product - malondialdehyde) as well as indicators of endogenous intoxication (urea and medium-sized molecules) compared to control animals. The results of pre-clinical studies with metformin shows promising application of this formulation as an alternative to oral dosage forms of metformin.

**Keywords:** metformin, diabetes, gelatin rectal capsules Experimental Pharmacology

### ВВЕДЕНИЕ

Одним из основных лекарственных препаратов первого ряда выбора для лечения СД 2, согласно рекомендациям IDF и ADA, является метформин. За долгие годы применения в клинической практике метформин продемонстрировал высокую безопасность [1,2]. Фармацевтическая промышленность выпускают метформин в виде пероральных лекарственных форм (таблеток и капсул). Определенную проблему в лечении СД составляют осложнения лекарственной терапии метформинном. Наиболее распространённые побочные эффекты метформина — желудочно-кишечные расстройства, в том числе «металличе-

ский» привкус во рту, снижение аппетита, диарея, кишечные колики, тошнота, рвота и метеоризм. Желудочно-кишечное расстройство может вызывать сильный дискомфорт для пациента; оно возникает чаще при первом назначении метформина или при увеличении дозы. Данные побочные эффекты при приеме метформина и большой размер таблетки могут являться причиной отказа от данного лекарственного средства у ряда больных. Следует также отметить, что метформин при пероральном введении вступает во взаимодействие с многими лекарственными средствами, что повышает риск лекарственных осложнений [1]. Все вышеперечисленные факты делают проблему разработки ректальных лекарственных форм, содержащих метформин, актуальной. В связи с этим были разработаны «желатиновые ректальные кап-

© Провоторова С. И., Макарова Л. М., Степанова Э. Ф., Погорелый В. Е., 2013

сулы» (ЖРК). Их преимуществом является более высокая биодоступность, отсутствие проблемы запаха, вкуса и глотания [3]. В связи с этим целью данного исследования явилось фармакологическое исследование разработанных ЖРК с метформином.

### **МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА**

Для исследования использовали здоровых половозрелых крыс-самцов линии Вистар ( $m=200-210$  г). В каждой группе находилось по 8 животных. Аллоксановый диабет моделировали общепринятым методом, путем однократного внутривентрикулярного введения аллоксангидрата в дозе 170 мг/кг голодавшим в течение суток крысам. Через 2 недели после моделирования диабета брали образцы крови и оценивали гликемию. Уровень глюкозы определяли с помощью тест-пластинок, глюкометром «Акку-Чек Актив». Кровь получали путем дистальной резекции хвоста. Для дальнейших экспериментов использовали только тех животных, у которых уровень гликемии составлял 8 ммоль/л. Методом случайной выборки формировали 3 группы лабораторных животных: 1 группа – животные контрольной группы, у которых моделировали аллоксановый диабет, но лекарственное воздействие не осуществлялось; 2 группа – животные опытной группы, у которых моделировали диабет и вводили ЖРК с метформином в дозе 150 мг/кг; 3 группа – животные опытной группы, у которых моделировали диабет и вводили таблетки метформина (препарат сравнения) в дозе 150 мг/кг. В качестве препарата сравнения использовали метформин (Глюкофаж), Мерк Санте, Франция. Исследуемая доза метформина определена расчетным путем с учетом литературных данных об эффективных терапевтических дозах данного лекарственного средства и коэффициента пересчета дозы с человека на крысу [4]. ЖРК, содержащие метформин вводили предварительно голодавшим животным ректально, а таблетки метформина (в виде водной суспензии) – с помощью зонда. Контрольная группа лечения не получала. Через 28 дней после инъекции аллоксана животных умерщвляли (под эфирным наркозом) и определяли следующие параметры: уровень глюкозы, лактата, пирувата, концентрацию малонового диальдегида (МДА), активность каталазы и супероксиддисмутазы (СОД), а также концентрацию мочевины и среднемолекулярных пептидов. Содержание глюкозы определяли глюкозооксидационным методом (реактив «ФОТО-

ГЛЮКОЗА» ООО «Импакт»). Структурно-функциональные свойства мембран эритроцитов оценивали по изменению накопления в них МДА [5]. Содержание пировиноградной кислоты (ПВК) в крови определяли модифицированным методом Умбрайт [5], концентрацию молочной кислоты в крови определяли по Балоховскому – Наточину [5]. Биоантиоксидантную защиту организма определяли по каталазной и супероксиддисмутазной активности [6]. Средние молекулы определяли спектрофотометрическим методом [3]. Концентрацию мочевины в крови оценивали с помощью стандартного набора фирмы «Агат» (Россия).

Статистическую обработку результатов проводили внутри серий по t-критерию Стьюдента (методом попарных сравнений), между сериями – по критерию инверсий Вилкоксона-Манна-Уитни [4]. В тексте и таблицах представлены средние арифметические значения со средней квадратичной ошибкой средней арифметической и значение вероятности, полученные в результате статистической обработки каждой серии опытов.

### **ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ**

Применение ЖРК, содержащих метформин существенным образом, также как и препарат сравнения таблетки метформина ограничивало повышение концентрации глюкозы в крови у животных с выраженной гипергликемией относительно животных контрольной группы (табл. 1). Так, у животных без фармакологической коррекции концентрация глюкозы в крови составила  $11.7 \pm 0.3$  ммоль/л, а у животных, получавших ЖРК и таблетки, содержащих метформин соответственно  $8.9 \pm 0.3$  ммоль/л и  $8.2 \pm 0.3$  ммоль/л. Изучение влияния объектов исследования на концентрацию метаболитов глюкозы позволило выявить, что ЖРК и таблетки с метформином ограничивают выраженность лактат-ацидоза, обусловленного аллоксановым диабетом. Кроме того, разработанная ректальная лекарственная форма, также как препарат сравнения таблетки метформина эффективно ограничивают накопление пирувата в крови у животных с сахарным диабетом (табл.2).

Известно, что при СД и в развитии его осложнений одним из важных патогенетических механизмов является окислительный стресс, проявляющийся в ускорении процессов перекисного окисления липидов и снижении активности антиоксидантной системы. Это послужило предпосылкой к изучению эффективности объектов исследова-

Таблица 1.

Влияние на углеводный обмен на фоне экспериментального сахарного диабета (% относительно контроля)

| Группы животных     | Глюкоза     |      | Молочная кислота |      | Пировиноградная кислота |     |
|---------------------|-------------|------|------------------|------|-------------------------|-----|
|                     | ммоль/л     | %    | ммоль/л          | %    | ммоль/л                 | %   |
| Контроль            | 11.7 ± 0.3* | 100  | 0.98 ± 0.01      | 100  | 0.16 ± 0.001            | 100 |
| ЖКР метформина      | 8.9 ± 0.2*  | 76.1 | 0.84 ± 0.01*     | 86   | 0.10 ± 0.001*           | 63  |
| Таблетки метформина | 8.2 ± 0.3*  | 70.1 | 0.79 ± 0.01*     | 80.1 | 0.11 ± 0.001*           | 69  |

Примечание: обозначены статистически значимые изменения ( $P < 0,05$ ) по сравнению: \* - с контрольной группой животных.

Таблица 2.

Влияние на концентрацию МДА и на активность каталазы и СОД при экспериментальном сахарном диабете

| Группы животных     | Каталаза                  |        | МДА                  |        | СОД                     |        |
|---------------------|---------------------------|--------|----------------------|--------|-------------------------|--------|
|                     | абс.знач.<br>кат ед. акт. | %      | абс.знач.<br>ммоль/л | %      | абс.знач<br>ед/мг белка | %      |
| Контроль            | 1214.8 ± 20,1             | 100.0  | 250.9 ± 17,5         | 100.0  | 0.37 ± 0,01             | 100.0  |
| ЖКР метформина      | 1766.0 ± 16.9*            | 145.3* | 202.8 ± 12.2*        | 80.8*  | 0.45 ± 0,01*#           | 121.6* |
| Таблетки метформина | 1587.3 ± 20.0*            | 130.7* | 209.3 ± 14.1*        | 83.43* | 0.48 ± 0,01*            | 129.7* |

Примечание: обозначены статистически значимые изменения ( $P < 0,05$ ). по сравнению: \* - с контрольной группой животных.

дования при этой патологии [1, 6]. Приведенные данные свидетельствуют, что объекты исследования существенным образом ограничивают процессы липопероксидации в мембранах эритроцитов и способствуют активизации ферментов антиоксидантной защиты (каталазы и СОД) относительно животных без лечения (табл.2).

Важным маркером оксидативного стресса является понижение активности СОД- фермента, участвующего в нейтрализации активных форм кислорода [6]. В опытах группах лабораторных животных выявлено повышение активности ферментов антиоксидантной защиты каталазы и СОД. В отличие от контрольной группы лабораторных животных, где активность фермента, обезвреживающего перекись водорода составила 1214.8 ± 20.1, кат. ед акт, в группе животных, получавших ЖКР данных показатель составил 1766.0 ± 16.9 кат ед акт., а в группе животных, которым вводили таблетки 1587.3 ± 20.0 кат. ед акт. Кроме того, установлено, что курсовое введение опытным группам лекформ содержащих метформин приводит к активации СОД. Так, в отличие от контрольной группы животных, где активность СОД составляла 0.35 ± 0.01 ЕД/мг белка, в группе животных, которым вводили ЖКР данных показатель составлял 0.42 ± 0.01 ЕД/мг белка, а в группе животных, где получали таблетки 0.45 ± 0.01 ЕД/мг белка.

Известно, что состояние биомембран эритроцитов отражает структурно-функциональную ха-

рактеристику клеточных мембран, а также функциональное состояние целостного организма [6]. В связи с этим представляется рациональным рассматривать воздействия объектов исследования на стабильность эритроцитарной мембраны при экспериментальном сахарном диабете. Об эффективном мембранозащитном действии ЖКР с метформинном при сахарном диабете свидетельствует подавление образования МДА в мембранах эритроцитов. В контрольных опытах у животных с выраженной гипергликемией концентрация МДА в мембранах эритроцитах составила 250.9 ± 17.5 мкмоль/л, а группах животных которым вводили ректальную и пероральные лекарственные формы, содержащие метформин соответственно 202.8 ± 12.2 мкмоль/л и 209.3 ± 14.1 мкмоль/л.

Малоновый диальдегид является вторичным продуктом перекисного окисления липидов и служит одним из маркеров оксидативного стресса [6]. ЖКР с метформинном аналогично таблеткам метформин, снижали концентрацию малонового диальдегида в крови до уровня интактных животных (таблица 2).

Известно, что при сахарном диабете происходит нарушения со стороны белкового обмена [1]. В связи с этим представляется целесообразным провести анализ действия объектов исследования на концентрацию мочевины и молекул среднемолекулярных пептидов (средних молекул), которые традиционно рассматривают как показатели эндогенной интоксикации. Экспериментально

установлено ЖКР метформина также как и препарат сравнения таблетки метформина эффективно препятствуют увеличению концентрации в крови токсических продуктов – мочевины и среднемолекулярных пептидов (табл.3). В контрольной серии опытов концентрация мочевины составляла

0,30±0,02 ммоль/л, а в опытах с ЖКР и таблетками метформина соответственно 0,22±0,01 ммоль/л и 0,25±0,01 ммоль/л (табл.3). Объекты исследования также достоверно ограничивали увеличение показателя «средние молекулы» с 0,125±0,08 усл.ед. до 0,096±0,07 усл.ед. и 0,091±0,008 усл.ед (табл.3).

Таблица 3

Влияние на концентрацию средних молекул и мочевины

| Группы животных     | Мочевина Ммоль/л |       | Средние молекулы |       |
|---------------------|------------------|-------|------------------|-------|
|                     | Моль/л           | %     | ус.ед.           | %     |
| Контроль            | 0,30±0,02        | 100   | 0,125±0,008      | 100   |
| ЖКР метформина      | 0,22±0,01*       | 73,3* | 0,096±0,007*     | 76,8* |
| Таблетки метформина | 0,25±0,01*       | 83,3* | 0,091±0,008*     | 72,8* |

Примечание: обозначены достоверные сдвиги ( $p < 0.05$ ): \* - по сравнению с контрольными животными

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На модели аллоксанового диабета крыс доказано, что курсовое применение ЖКР с метформином достоверно понижает уровень глюкозы в крови больных животных по сравнению с нелеченной группой, а также ограничивает выраженность лактат-ацидоза, нарушения со стороны свободно-радикальных процессов и повышение концентрации мочевины и среднемолекулярных пептидов. Эффект ЖКР с метформином (150 мг/кг) сопоставим с эффектом препарата сравнения – таблеток метформина (150 мг/кг).

Полученные результаты экспериментальных исследований свидетельствуют, что ЖКР является перспективной лекарственной формой для гипогликемического лекарственного средства метформин. Данная ректальная форма (ЖКР) позволяет предупреждать побочные эффекты со стороны ЖКТ, обусловленные пероральным применением метформина и может являться альтернативой существующим пероральным лекарственным формам метформина.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Дедов И.И. Болезни органов эндокринной системы / И.И. Дедов // М : Медицина, 2005. — С. 45-67.
2. Topcu S. Metformin therapy improves coronary microvascular function in patient with polycystic ovary syndrom and insulin resistance./ S.Topcu., D.Tok., M. Caliskan M //Clin Endocrinol (Oxf). — 2006. — V. 65, №1 — P.75–80.
3. Разработка желатиновых ректальных капсул с метформином/ С.И. Провоторова [и др.] // Фармация. — 2012. — N 4. — С.30-31.
4. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ — М., 2000. — 398 с.
5. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике/ В.С. Камышников. — М.: МЕД-пресс-информ, 2004. — 920 с.
6. Бондарь Т.П. Лабораторно-клиническая диагностика сахарного диабета и его осложнений/ Т.П. Бондарь, Г.И. Козинец — М.: Медицинское информационное агентство, 2003. — 87 с.

Провоторова Светлана Ильинична — ассистент кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии фармацевтического факультета ВГУ; e-mail: provotorova-svetlana@mail.ru

Макарова Лариса Михайловна — кандидат фармацевтических наук, преподаватель кафедры фармакологии и патологии Пятигорского МФИ - филиала ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России; e-mail: makarova.lm@mail.ru

Provotorova Svetlana I. — the assistant of faculty of pharmaceutical chemistry and pharmaceutical technology of pharmaceutical faculty VSU; e-mail: provotorova-svetlana@mail.ru

Makarova Larisa M. — instructor of the department of pharmacology and pathology, Pyatigorsk Medical-pharmaceutical Institute – branch of the SBEE HPE VolgSMU of Minzdrav of Russia; e-mail: makarova.lm@mail.ru

*Степанова Элеонора Фёдоровна* – профессор кафедры технологии лекарств Пятигорского МФИ - филиала ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России

*Погорельый Василий Ефимович* — доктор биологических наук, профессор кафедры фармакологии и патологии Пятигорского МФИ - филиала ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России

*Stepanova Eleonora F.* — professor of the Technology, Pyatigorsk Medical-pharmaceutical Institute – branch of the SBEE HPE VolgSMU of Minzdrav of Russia

*Pogoreliy Vasilii E.* — professor of the department of pharmacology and pathology, Pyatigorsk Medical-pharmaceutical Institute – branch of the SBEE HPE VolgSMU of Minzdrav of Russia