



УКРАЇНА

(19) UA (11) 62140 (13) U
(51) МПК (2011.01)
A61K 36/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ФАРМАКОКОРЕКЦІЇ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ

1

2

(21) u201101803

(22) 15.02.2011

(24) 10.08.2011

(46) 10.08.2011, Бюл.№ 15, 2011 р.

(72) БУРЦЕВА ОЛЕНА ВОЛОДИМИРІВНА, ТЕР-
НИНКО ІННА ІВАНІВНА, САВЧЕНКОВА ЛАРИСА
ВАСИЛІВНА

(73) БУРЦЕВА ОЛЕНА ВОЛОДИМИРІВНА, ТЕР-
НИНКО ІННА ІВАНІВНА, САВЧЕНКОВА ЛАРИСА
ВАСИЛІВНА

(57) Спосіб фармакокорекції цукрового діабету, який **відрізняється** тим, що як фармакокорегуючий засіб шурам з модельованим станом переддіабету один раз на добу перорально вводять настій трави вівса посівного 1:10 в дозі 12 мл/кг, який готують наступним чином: 10г сировини заливають 100 мл окропу, кип'ятять протягом 15 хв. та настоюють 45 хв., потім настій проціджують та доводять до первинного об'єму.

Корисна модель належить до медицини, а саме до пошуку лікарських засобів з цукрознижуючою активністю.

Проблема цукрового діабету (ЦД), його виявлення, профілактика, адекватне лікування, профілактика ускладнень не втрачає актуальності в усьому світі протягом останніх десятиріч. Для України ЦД представляє: важливу медико-соціальну проблему сучасного суспільства. Це обумовлено високим рівнем захворюваності та розповсюдженості даної патології, а також високою частотою хронічних інвалідизуючих ускладнень. Відомо, що 85-95 % із загальної кількості хворих на ЦД припадає на хворих цукровим ЦД саме 2-го типу, щорічний приріст числа яких у світовому масштабі складає від 3,6 до 5 млн. осіб.

До основних принципів лікування ЦД належать фізичні навантаження; дієтотерапія, як засіб обмеження надходження вуглеводів; інсулінотерапія, як замісна терапія, що сприяє зменшенню рівня глікемії та підвищує чутливість м'язової тканини до інсуліну; а також пероральні цукрознижуючі засоби з різновекторними фармакологічними ефектами. На сьогодні на початкових стадіях ЦД 1-го і 2-го типів, а також при ЦД 2-го типу середнього ступеня тяжкості рекомендують використовувати лікарські рослини, що мають цукрознижуючу активність (окремо або в зборах) [1, 3, 16]. До таких рослинних препаратів належать збори «арфазетин», «мирфазин» [4], протидіабетичний збір [5], фітоконцентрат з листя стевії та пелюсток троянди [6], «фітоглюнор» [7], «діабетин» [14]. Зазначені препарати мають досить виражену цукрознижуючу

активність, але не в повній мірі відповідають вимогам клініцистів.

На сьогодні досить перспективною сировиною є трава вівса посівного. Овес посівний (*Avena sativa* L.) - сільськогосподарська однорічна культура з родини м'ятликових (Poaceae). Він є цінним поживним харчовим продуктом і широко застосовується в народній медицині. Овес відрізняється різноманітністю хімічного складу. Окрім достатнього вмісту полісахаридів, білків, амінокислот, вітамінів, макро- і мікроелементів, він містить цілий комплекс фенольних сполук флавоноїдної природи та ін.

Задача корисної моделі - експериментально дослідити та довести превентивну цукрознижуючу активність трави вівса посівного з ціллю подальшого використання як засіб з превентивною цукрознижуючою дією.

Об'єктом досліджень була трава вівса посівного фази молочно-воскової стиглості, з якої готували настій 1:10 (10г сировини заливали 100мл окропу, кип'ятили протягом 15 хв. та настоювали 45 хв., потім настій проціджували та доводили до первинного об'єму).

Як референтний препарат було вибрано збір «Арфазетин», який застосовували також у вигляді настою, але у співвідношенні 1:40 (за інструкцією до використання). Дозу збору для тварин розраховували за методом Ю.П. Риболовлева і співавт. з використанням коефіцієнтів видової стійкості, виходячи з добової дози препарату для людини [9].

З метою визначення ефективної дози настою трави вівса посівного був проведений фармаколо-

(19) UA (11) 62140 (13) U

гічний скринінг на нормоглікемічних щурах за умов внутрішньо-очеревинного тесту толерантності до глюкози (БОТТГ) [13] при однократному введенні в порівнянні з офіціальним антидіабетичним збором «Арфазетин».

Дослідження проведено на білих безпородних щурах самцях масою 160-175 г. Тварини утримувалися в умовах віварію ДЗ «ЛугДМУ» та отримували стандартну дієту в вигляді гранульованого корму з достатньою кількістю вуглеводів. Доступ до води був вільним.

Дослідження проводили відповідно до «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», що відповідають положенням «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985).

Експериментальною моделлю було вибрано аліментарну гіперглікемію, яку відтворювали внутрішньо-очеревинним введенням 40 % розчину глюкози у розрахунок 2 г/кг. За годину до моделювання гіперглікемії щури натще (після нічного голодування) отримували настій трави вівса у дозах 6, 12, 18 мл/кг та «Арфазетин» у дозі 12 мл/кг, тварини контрольної групи отримували еквівалентну кількість води очищеної. Рівень глюкози визначали у крові тварин до (0 хв.) і через 15 та 60 хв. після введення розчину глюкози глюкозооксидазним методом за допомогою люксметра Rightest CM 300. Для більш повної характеристики стану вуглеводного обміну використовували величину інтегральної глікемії (ΣC_{0-60}), яку розраховували шляхом підсумку показників за всіма часовими точками дослідження при проведенні БОТТГ (0 хв., 15 та 60 хв. після навантаження).

Статистичну обробку отриманих результатів проводили за допомогою спеціально розробленої комп'ютерної програми "Statgraphics" з використанням критерію t Стюдента.

Як показали проведені дослідження, у відповідь на внутрішньо-очеревинне навантаження глюкозою рівень останньої в крові контрольних тварин достовірно підвищувався в 3,1 рази на 15-й хвилині і в 2,2 рази на 60-й хвилині дослідження, відносно показника у інтактних щурів. Одноразове ж введення настою трави вівса посівного в дозах 6 та 12 мл/кг приводило до статистично достовірного зниження рівня глюкози на 15-й хвилині тестування на 35 та 30 %, відповідно порівняно з контрольною групою тварин (табл. 1). Підвищення дози досліджуваного настою до 18 мл/кг майже не впливало на рівень глюкози під час проведення навантажувального тесту. Динаміка рівня глюкози у цій групі тварин відповідала такій в контролі, що можливо пов'язано з досить високим вмістом вуглеводів в траві вівса, які всмоктуються в кров при підвищенні дози настою [2]. В той же час препарат порівняння «Арфазетин» знижував концентрацію глюкози в крові дослідних тварин в середньому на 31 % у всі терміни спостереження.

Таким чином аналіз наведених даних дозволив зробити висновок про дозозалежний характер гіпоглікемічної дії настою трави вівса посівного. Підтвердженням висновків, наведених вище, є розрахунки інтегральної глікемії, яка характеризує загальне зниження рівня глюкози під дією досліджуваного препарату. У дозах 6 та 12 мл/кг гіпоглікемічна активність настою трави вівса посівного дорівнювала в середньому 27,5 та 28,5 % відповідно, в той час як зниження інтегральної глікемії під дією «Арфазетину» склало 27 %.

Таблиця 1

Дослідження гіпоглікемічної дії настою трави вівса посівного (n = 10-15)

Група тварин	Стат. показник	Рівень глікемії, ммоль/л через ... хвилин			
		0 хв.	15 хв.	60 хв.	Σ
Контрольна	M \pm m	4,34 \pm 0,12	13,49 \pm 1,34	9,45 \pm 0,58	27,93 \pm 1,78
Референтна (арфазетин 12 мл/кг)	M \pm m	4,38 \pm 0,08	9,27 \pm 0,99	7,022 \pm 0,65	27,93 \pm 1,78
	P ₁	>0,05	<0,05	<0,05	<0,05
	P ₂	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
Дослідна (настій трави 6 мл/кг)	M \pm m	4,63 \pm 0,14	8,79 \pm 0,56	6,83 \pm 0,84	20,5 \pm 1,35
	P ₁	>0,05	<0,05	<0,05	<0,05
	P ₂	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
Дослідна (настій трави 12 мл/кг)	M \pm m	4,63 \pm 0,08	9,38 \pm 0,89	6,43 \pm 0,33	19,98 \pm 1,08
	P ₁	>0,05	<0,05	<0,01	<0,01
	P ₂	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
Дослідна (настій трави 18 мл/кг)	M \pm m	4,75 \pm 0,09	12,79 \pm 0,56	8,34 \pm 0,80	25,78 \pm 0,903
	P ₁	<0,05	>0,05	>0,05	>0,05
	P ₂	<0,05	<0,05	>0,05	<0,05

Прим.: P₁ - достовірність у порівнянні з контрольною групою тварин

P₂ - достовірність у порівнянні з референтною групою тварин

Враховуючи, що фітотерапія застосовується переважно у хворих на ЦД 2-го типу, в подальшому було доцільним дослідити превентивні властивості настою трави вівса щодо розвитку інтолерантності до глюкози.

Відомо, що порушення глюкозного гомеостазу можуть виникати як ускладнення глюкокортикоїд-

ної терапії [20]. Застосування дексаметазону призводить до індукції синтезу острівцевого амілоїдного поліпептиду (аміліну) у панкреатичних бета-клітинах [17]. Фізіологічне значення цього гормону ще не до кінця з'ясоване, але його супресивний ефект відносно дії інсуліну в печінці та м'язах передбачає можливу роль у патогенезі інсулінорезистентності та ЦД 2 типу [8,14].

Інтолерантність до глюкози моделювали підшкірним введенням щурам масою 160-175г дексаметазону в дозі 0,125 мг/кг протягом 13 діб. Введення дексаметазону 3-хмісячним щурам відтворює, стан переддіабету [8, 13, 18]. Тварини були поділені на 4 групи: перша група - інтактні щури, друга - контрольна (дексаметазоновий діабет+вода очищена в дозі 12 мл/кг), третя - референтна (дексаметазоновий діабет +«Арфазетин» в дозі 12 мл/кг) та четверта - дослідна (дексаметазоновий діабет + настій трави вівса в дозі 12 мл/кг). Настій трави вівса та «Арфазетин» вводили внутрішньошлунково за 1 годину до ін'єкцій дексаметазону протягом 13 діб.

Стан глюкозного гомеостазу оцінювали за результатами внутрішньо-очеревинного тесту толерантності до глюкози (БОТТГ, 2 г/кг), який проводили на 14-й день дослідю. Забір крові для дослідження проводили вранці натще (після попереднього нічного голодування, 0 хв.) та через 15 і 60 хв. після введення глюкози. На 14-й день експерименту тварин декапітували під ефірним нар-

козом. Для вивчення стану антиоксидантної системи захисту організму (АОС) досліджували рівень тіолових груп (SH-груп) в крові [15, 19] та продуктів перекисного окиснення ліпідів, що реагують з 2-тіобарбітуровою кислотою в печінці дослідних тварин [11, 12]. Крім того в гомогенаті печінки визначали вміст глікогену [10].

Було доведено, що формування дексаметазонового діабету (контроль) призводить до підвищення рівня глюкози в крові протягом всього періоду спостереження по відношенню до інтактної групи тварин на 28 % на 15-й хвилині та на 22% на 60-й хвилині дослідження.

Застосування настою трави вівса посівного та збору «Арфазетин» гальмувало формування інтолерантності до глюкози, викликаній введенням дексаметазону. Динаміка глікемії під впливом навантаження глюкозою в цілому відповідала динаміці в інтактній групі тварин, але на 15-й хвилині тесту спостерігали більш інтенсивне зниження рівня глюкози, яке набувало достовірного характеру (табл. 2). Отримані дані свідчать про посилення утилізації глюкози під впливом досліджуваних препаратів та здатність останніх попереджати формування інтолерантності до глюкози. Активність настою трави вівса посівного та «Арфазетину» склала 32 %, достовірних відмінностей між значеннями інтегральної глікемії цих груп зареєстровано не було, що є підставою для висновку про порівняну активність досліджуваних препаратів.

Таблиця 2

Вплив настою трави вівса посівного на розвиток інтолерантності до глюкози, викликаній дексаметазоном (n - 7)

Група тварин	Стат. показ- ник	Рівень глікемії, ммоль/л через ... хвилин			
		0 хв.	15 хв.	60 хв.	Σ
Інтактна	M+m	4,26±0,22	12,21±0,96	6,09±0,25	22,70*1,03
Контрольна (вода очищена 12 мл/кг)	M±m	4,4±0,15	15,70±1,19	7,49±0,459	27,61±1 49
	P ₁	>0,05	<0,05	<0,05	<0,05
Референтна (ар- фазетин 12 мл/кг)	M±m	4,21±0,12	8,76±0,45	5,72±0,23	18,69±0,56
	P ₁	>0,05	<0,05	>0,05	<0,05
	P ₂	>0,05	<0,01	<0,05	<0,01
Дослідна (настій трави 12 мл/кг)	M±m	4,27±0,09	8,90±0,53	5,58±0,26	18,73±0,59
	P ₁	>0,05	<0,05	>0,05	<0,05
	P ₂	>0,05	<0,01	<0,05	<0,01
	P ₃	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05.

Прим.: P₁ - достовірність у порівнянні з інтактною групою тварин

P₂ - достовірність у порівнянні з контрольною групою тварин

P₃ - достовірність у порівнянні з референтною групою тварин

Про превентивний ефект досліджуваних препаратів свідчать і результати визначення вмісту глікогену у гомогенатах печінки експериментальних тварин. Так, на відміну від контрольної групи, де відбувалося значне зниження вмісту глікогену (у 2,7 рази в порівнянні з інтактною групою), введення препаратів попереджало виснаження пулу глікогену із печінкових депо: вміст глікогену в цих

групах відповідав показникам інтактної групи тварин (табл. 3).

Існує багато доказів про порушення: окисно-антиоксидантного гомеостазу організму, який виникає при формуванні інсулінорезистентності. Проведені дослідження показали, що в модельованих умовах експерименту вже через 13 діб відмічається активація процесів утворення та накопичення продуктів ліпопероксидації, що

проявляється в достовірному зростанні вмісту ТБК-реактивів у 2,8 разів в порівнянні з показниками інтактної групи тварин. У відповідь на прискорення процесів ПОЛ реєструється достовірне зниження вмісту тіолових груп в середньому на 20 % (табл. 3).

В той же час, настій трави вівса та збір «Арфазетин» попереджали утворення ТБК-реактивів, коли рівень останніх досягав значень інтактної групи, що вказує на виражену здатність препарату,

що вивчається, та препарату порівняння попереджати активацію ПОЛ за умов формування інтолерантності до глюкози. Па тлі введення обох препаратів рівень одного з показників стану прооксидантно-антиоксидантної системи, SH-груп відповідав значенням інтактних тварин, що вказує на протекторну дію препаратів у модельованих умовах експерименту по відношенню до одного з головних компонентів ферментної ланки АОС - сульфгідрильних груп.

Таблиця 3

Вплив настою трави вівса посівного на показники ПОЛ/АОС та вміст глікогену у щурів з інтолерантністю до глюкози, викликаною дексаметазоном (n=7)

Група тварин	Стат. показник	Біохімічні показники		
		SH-групи, ммоль/л	ТБК-реактанти, ммоль/л	Глікоген, мг %
Інтактна	M±m	8,18±0,18	34,25±5,31	137,96±19,38
Контрольна(вода очищена 12 мл/кг)	M±m P ₁	6,61±0,43 <0,01	95,13±9,77 <0,01	51,64±6,54 <0,01
Референтна (арфазетин 12 мл/кг)	M±m P ₁ P ₂	8,798±0,52 >0,05 <0,05	43,77±7,30 >0,05 <0,01	136,98± 18,30 >0,05 <0,01
Дослідна (настій трави 12мл/кг)	M±m P ₁ P ₂ P ₃	7,88±0,20 >0,05 <0,05 >0,05	46,69±5,90 >0,05 <0,01 >0,05	129,28±16,06 >0,05 <0,01 >0,05.

Прим.: P₁ - достовірність у порівнянні з інтактною групою тварин

P₂ - достовірність у порівнянні з контрольною групою тварин

P₃ - достовірність у порівнянні з референтною групою тварин

Висновок:

Трава вівса посівного, що застосовується при експериментальній інтолерантності до глюкози проявляє високу цукрознижувачу ефективність та виражені антиоксидантні властивості.

Література

1. Білоусова І.В. Застосування фітозасобів у хворих на неалкогольні стеатогепатоз та статогепатит на тлі цукровою діабету 2-го типу: автореф. дис. на здобуття наук, ступеня канд. мед. наук: спец. 14.01.02. «Внутрішні хвороби» / І.В. Білоусова - Луганськ, 2007. - 24с.

2. Бурцева О.В. Вивчення полісахаридного складу *Avena sativa* L. / Бурцева О.В., Тернинко І.І. // Вісник фармації. -2010. - № 2 (62). - С. 46-48.

3. Кіхтяк О.П. Особливості показників вуглеводного обміну при цукровому діабеті за умов коригуючої фітотерапії (експериментально-клінічне дослідження): автореф. дис. на здобуття наук, ступеня канд. мед. наук: спец. 14.03.04 «Патологічна фізіологія» / О.П. Кіхтяк. - Тернопіль, 2002. - 26с.

4. Машковский М.Д. Лекарственные средства: В 2 т. - 14 изд., перераб., испр. и доп. / Машковский М.Д. - М.: ООО «Изд-во Новая Волна»: Издатель СБ. Дивов, 2002. - Г. 2, - 608с., - 8с.ил.

5. Пат. 28381 Україна, МПК А 61 К 35/78. Протидіабетичний збір / Яворський О.І., Бензель Л.В., Цаль О.Я. та ін.; заявник і патентоволодар Львів-

ський державний медичний інститут, Яворський О.І., Бензель Л.В., Цаль О.Я. та ін. -№ 96114206; заявл. 13.11.1996; опубл. 16.10.2000, Бюл. №5.

6. Пат. 66498 Україна, МПК 7 А61К 35/78. Засіб з рослинної сировини, що проявляє гіпоглікемічну дію / Ромасько В.В., Ковальов І.П.; заявник і патентоволодар Ромасько В.В., Ковальов І.П. - № 2003065814; заявл. 24.06.2003; опубл. 17.05.2004, Бюл. №5.

7. Пат. 75181 Україна, МПК А61К 36/00. Цукрознижувальний лікарський збір / Черних В.П., Яковлева Л.В., Болоховець Г.С. та ін.; заявник і патентоволодар НФаУ. - № 2004021149; заявл. 17.02.2004; опубл. 15.03.2006, Бюл. №3.

8. Полторак В.В. Вплив метформіну на розвиток інсулінорезистентності індукованої дексаметазоном у щурів 7 Полторак В.В., Горбенко Н.І., Іванова О.В., Коршунська МЛО. // Ендокринологія. - 2000. - Т.5. - № 2. - С. 249-250.

9. Рыболовлев Ю.П. Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности / Ю.П.Рыболовлева, Р.С.Рыболовлев // Доклады АН СССР. - 1979. - Т. 247. - Т. 6. - 1513-1516.

10. Современные методы в биохимии / [Турков М.И., Климова Г.И., Давыдова Г.А. и др.]; под ред. акад. В.Н. Ореховима; Акад. Мед. Н. СССР. - М.: «Медицина», 1977. 397с.

11. Стальная И.Д., Гаршвілі Г.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современные методы в биохимии: Под ред. Ореховича В.И., - М.: Медицина, 1977. - С. 44-46.

12. Стальная И.Д. Метод определения диеновой конъюгации ненасыщенных жирных кислот // Современные методы в биохимии: Под ред. Ореховича В.И. - М.: Медицина, 1977. - С. 43-44.

13. Стефанов О.В. Доклінічні дослідження лікарських засобів / Олександр Вікторович Стефанов. - К.: Видавничий дім «Авіцена», 2001. - 528с. (методичні рекомендації)

14. Degano P., Silvestre R., Salas M. et al. Amilin inhibits glucose-induced insulin secretion in a dose-dependent manner// Regul. Pept. 1993, 43, №2, P. 91-96.]

15. Ellman G. L. Tissue sulfhydryl group / G. L. Ellman // Arc. Biochem. Biophys. - 1959. - Vol. 25. - P. 70-77. (Это для тиоловых групп).

16. Medicus Amicus. - Режим доступа: <http://www.medicusamicus.com/index.php?act=classA>.

17. Muldcr H., Ahren B., Stridsberg M., Sundler F. Non-parallelism of islet amyloid polypeptide (amylin) and insulin gene expression in rat islets following dexamethasone treatment // Diabetologia. -1995. - 38. - №4. - P. 395-402.

18. Novelli M., Barbera M., Ficrabracchi V. et al. Effects of the age and dexamthasone treatment on insulin secretion from isolated perfused rat pancreas // Diabetologia. - 1996. -Suppl. 1, A. -P. 124.

19. Sarah Wild, Gojka Roglic, Anders Green et al. Global Prevalence of Diabetes //Diabetes care. - 2004. - Vol .27. - №5. - P. 1047-1053.

20. Sedluck J., Lindsay H. Estimation of total protein-sulfhydryl and nonprotein-sulfhydryl group in tissue with Ellman's reagent // Analyt. Biochem. - 1969. - Vol.25. - Vol. 1 -P. 192-205.

21. Vondra K., Kot'atrova A., Bendlova B. et al. Metformin's beneficial effect on impaired glucose regulation in chronic glucocorticoid therapy // Diabetologia. 1999. - 42, Suppl. I, A. -P. 226.