

Міністерство охорони здоров'я України
Національний фармацевтичний університет

ДУБ АНАСТАСІЯ ІГОРІВНА

УДК 615.252.349.7.07:615.322:582.634.1

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ АНТИДІАБЕТИЧНОЇ
АКТИВНОСТІ НОВОЇ ФІТОКОМПОЗИЦІЇ

14.03.05 – фармакологія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата фармацевтичних наук

Харків – 2021

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана у Тернопільському національному медичному університеті імені І.Я. Горбачевського МОЗ України, м. Тернопіль

Науковий керівник заслужений діяч науки і техніки України,
доктор біологічних наук, професор
КЛІЩ Іван Миколайович,
Тернопільський національний медичний університет
імені І.Я. Горбачевського МОЗ України (м. Тернопіль),
проректор з наукової роботи, професор кафедри функціональної та лабораторної діагностики

Офіційні опоненти: доктор фармацевтичних наук, професор
МІЩЕНКО Оксана Яківна,
Національний фармацевтичний університет
МОЗ України (м. Харків),
завідувач кафедри клінічної фармакології Інституту
підвищення кваліфікації спеціалістів фармації

доктор біологічних наук, професор
ТРЖЕЦИНСЬКИЙ Сергій Дмитрович,
Запорізький державний медичний університет
МОЗ України (м. Запоріжжя),
завідувач кафедри фармакогнозії, фармакології та
ботаніки

Захист відбудеться «___» грудня 2021 року о 10.00 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.605.03 при Національному фармацевтичному університеті за адресою: 61168, м. Харків, вул. Валентинівська, 4.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Національного фармацевтичного університету (61168, м. Харків, вул. Валентинівська, 4).

Автореферат розісланий «___» листопада 2021 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради
доктор фармацевтичних наук, професор

К. Г. Щокіна

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Обґрунтування вибору теми дослідження. Впродовж останніх років поширеність цукрового діабету (ЦД) різко зросла та продовжує прогресувати, що визначає його як одну з найбільш важливих проблем охорони здоров'я (L. Wang et al., 2021). Близько 537 млн дорослих (віком 20-79 р.) живуть з ЦД, а за прогнозами експертів з Міжнародної федерації діабету (International Diabetes Federation (IDF)) їх чисельність зросте до 643 млн у 2030 р. та до 784 млн у 2045 р. (IDF Diabetes Atlas, 2021). У всьому світі приблизно 1 з 11 дорослих мають ЦД, а близько 90 % серед них – ЦД 2 типу (Y. Zheng et al., 2018).

Люди, які живуть з ЦД 2 типу, більш вразливі до різних форм як коротко-, так і довгострокових ускладнень, які часто призводять до їх передчасної смерті. ЦД 2 типу є результатом взаємодії між генетичними, екологічними та поведінковими факторами ризику (R. Amelia, 2020). Ожиріння вважається найважливішим фактором розвитку метаболічних порушень, адже доведено, що жирова тканина впливає на метаболізм, збільшуючи секрецію таких речовин, як лептин, цитокіни, адипонектин та інші прозапальні агенти (C.E. Dale, 2017, A.S. Al-Goblan et al., 2014). Додатковими факторами, що підвищують ризик ЦД 2 типу, є також старіння населення, обтяжений сімейний анамнез, фізична бездіяльність, недосипання, зростаюча популярність висококалорійних продуктів, солодких напоїв тощо (D.M. Tanase, 2020; S. Tangvarasittichai, 2015).

Згідно із сучасними уявленнями, основою патогенезу ЦД 2 типу є порушення секреції інсуліну, підвищена резистентність до нього та порушення функції β -клітин підшлункової залози (American Diabetes Association, 2017; J.C. Ozougwu et al., 2013). Недостатня кількість інсуліну або стійкість до нього призводить до зниження засвоєння глюкози тканинами, стимулює глікогеноліз та глюконеогенез, що призводить до розпаду жирів (спричиняє діабетичний кетоацидоз) та зменшує синтез білка та гамма-глобулінів, спричиняючи кахексію, поліфагію та порушення загоєння ран (U. Asmat et al., 2016).

Багато досліджень показали зв'язок між оксидативним стресом та ЦД разом із його серцево-судинними, печінковими, нефрологічними та офтальмологічними ускладненнями (Nowotny K., 2015, E.J. Henriksen et al., 2011), що визначає фармакокорекцію оксидативних порушень важливим напрямком у сучасній діабетології. Впродовж останніх років для лікування ЦД було розроблено багато нових пероральних синтетичних препаратів, однак їх використання обмежене через високу вартість, побічні ефекти, низьку ефективність щодо запобігання розвитку діабетичних ускладнень та обмежену доступність у багатьох країнах (N.D. Solanki et al., 2018; O. Tabatabaei-Malazy et al., 2016).

Особливу зацікавленість для профілактики та лікування ЦД 2 типу викликають препарати з лікарської рослинної сировини, що містять велику кількість фенольних сполук, які є природними антиоксидантами та, на відміну від синтетичних гіпоглікемічних засобів, здатні виявляти цитопротекторну дію на β -клітини панкреатичних острівців (R. Vinaayagam et al., 2015). Також перевагами фітопрепаратів є їх м'який, багатофакторний вплив на організм при мінімальних побічних

ефектах, що є дуже важливим при тривалому лікуванні хронічних захворювань (S. Zain-ul-Abidin et al., 2018; D. Kuate et al., 2015).

На основі аналізу результатів зарубіжних та вітчизняних досліджень з питань фітотерапії ЦД 2 типу було обрано три перспективних джерела для нової фітокомпозиції (ФК): листя шовковиці білої (S.S. Huang et al., 2014; Z. Salemi et al., 2016; S.H. Hwang et al., 2016), стулки квасолі звичайної (A. Yurchenko et al., 2017; M.Y. Kuznetsova et al., 2015; Udani J. et al., 2018) та пагони чорниці звичайної (D.P. Karcheva-Bahchevanska et al., 2017; K. Bljajić et al., 2017; D.M.U.P. Rocha et al., 2019), які здавна використовувались у народній медицині для корекції метаболічних порушень. Були отримані та стандартизовані сухі екстракти цих рослин, з яких була створена нова ФК.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота є фрагментом комплексної міжкафедральної науково-дослідної роботи Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського МОЗ України в рамках тем «Маркетингові, фармакоекономічні та технологічні дослідження із створення лікарських засобів» (№ держреєстрації 0115U001530, 2015-2020 рр.), «Дослідження із створення лікарських засобів направленої дії, їхньої стандартизації, маркетингового і фармакоекономічного аналізу, фармакологічної і клінічної активності» (№ держреєстрації 0120U002194, 2020-2023 рр.), в яких автор є співвиконавцем.

Мета і завдання дослідження. *Мета* – експериментальне обґрунтування доцільності створення нової фітокомпозиції, що містить сухі екстракти листя шовковиці білої (*Morus alba* L.), стулок квасолі звичайної (*Phaseolus vulgaris* L.) та пагонів чорниці звичайної (*Vaccinium myrtillus* L.), для профілактики та комплексного лікування метаболічного синдрому та цукрового діабету 2 типу.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі *завдання*:

1. Дослідити гостру токсичність сухих екстрактів та ФК у щурів.
2. Встановити умовно-ефективну дозу сухих екстрактів та ФК за гіпоглікемічною активністю у щурів.
3. Провести дослідження впливу сухих екстрактів та ФК на ліпідний спектр крові на моделі твінової гіперліпідемії у щурів.
4. Дослідити ефективність ФК на експериментальній моделі дексаметазонової інсулінорезистентності у щурів.
5. З'ясувати вплив ФК на перебіг експериментального метаболічного синдрому, індукованого високофруктозною дієтою.
6. Дослідити ефективність ФК при експериментальному цукровому діабеті 2 типу, спричиненого введенням нікотинаміду та стрептозотоцину.

Об'єкт дослідження – фармакологічна корекція метаболічних змін при експериментальній інсулінорезистентності, метаболічному синдромі та цукровому діабеті 2 типу.

Предмет дослідження – фармакологічна активність і механізми гіпоглікемічної, гіполіпідемічної та антиоксидантної дії ФК, що містить сухі екстракти листя шовковиці білої, стулок квасолі звичайної та пагонів чорниці звичайної.

Методи дослідження. Фармакологічні (моделювання твінової гіперліпідемії, дексаметазонової інсулінорезистентності, метаболічного синдрому, стрептозото-

цинового діабету), токсикологічні (дослідження гострої токсичності), біохімічні (визначення активності супероксиддисмутази (СОД), каталази (КАТ), аланінамінотрансферази (АлАТ), аспартатамінотрансферази (АсАТ), лужної фосфатази (ЛФ); концентрації глюкози натще та за умов ОТТГ; дослідження ліпідного спектру крові: концентрації загальних ліпідів (ЗЛ), загального холестеролу (ЗХС), холестеролу ліпопротеїдів високої щільності (ХС ЛПВЩ) та триацилгліцеролів (ТГ); вмісту ТБК-активних продуктів (ТБК-АП), гідропероксидів ліпідів (ГПЛ), дієнових кон'югатів (ДК), відновленого глутатіону (ВГ), молекул середньої маси (МСМ), загального білка (ЗБ); морфологічні (дослідження фрагментів печінки та підшлункової залози); статистичні методи дослідження.

Наукова новизна отриманих результатів. Вперше експериментально обґрунтована доцільність застосування нової ФК на основі сухих екстрактів листя шовковиці білої (*Morus alba* L.), стулок квасолі звичайної (*Phaseolus vulgaris* L.), пагонів чорниці звичайної (*Vaccinium myrtillus* L.) для профілактики та комплексного лікування метаболічних порушень при ЦД 2 типу, інсулінорезистентності та метаболічному синдромі.

Розширені наукові дані щодо нешкідливості сухих екстрактів та отримано нові дані щодо ФК, за якими вони належать до V класу токсичності за класифікацією К. К. Сидорова – практично нетоксичні речовини ($LD_{50} > 5000$ мг/кг при внутрішньошлунковому введенні).

Доповнені уявлення щодо корегуючого впливу сухих екстрактів та нової ФК на ліпідний спектр крові на скринінговій моделі твінової гіперліпідемії у шурів: профілактичне введення ФК достовірно ($p < 0,05$) знижувало концентрацію загальних ліпідів на 15,7 %, загальний холестерол на 33,5 % та триацилгліцеролів на 36,5 % відносно КП.

Отримано нові дані щодо впливу ФК на розвиток ІР, індукованої введенням дексаметазону. Встановлено, що ФК запобігає зростанню глікемії натще, яка наприкінці експерименту була достовірно ($p < 0,05$) нижчою на 19,0 % у порівнянні з групою КП. За умов ОТТГ ФК стримує зростання глікемії на 21,4; 24,8; 26,7; 18,9; 7,8 % через 30, 60, 90, 120 та 180 хв відповідно і за умов короткого інсулінового тесту ФК збільшує чутливість до інсуліну на 16,2 %, що достовірно ($p < 0,05$) перевищує ефективність «Арфазетину».

Вперше експериментально доведено антидіабетичну активність нової ФК на експериментальних моделях МС, спричиненого високофруктозною дієтою, та ЦД 2 типу, індукованого введенням СТЗ та НА.

Встановлено за умов МС, що ФК нормалізує базальну глікемію та достовірно ($p < 0,05$) стримує постпрандіальну глікемію на 20,7; 25,4; 17,6; 15,5; та 16,8 % відповідно через 30, 60, 90, 120 та 180 хв від початку ОТТГ та сприяє відновленню чутливості до інсуліну на 18,9 % ($p < 0,05$) відносно групи КП. Встановлено зниження під дією ФК концентрації загальних ліпідів на 20,1 %, загального холестеролу – на 28,6 %, триацилгліцеролів – на 35,1 % відносно групи КП ($p < 0,05$).

Доведено корегуючий вплив ФК на баланс системи АОЗ-ПОЛ за відновленням активності антиоксидантних ферментів у сироватці крові: СОД на 36,4 %, КАТ на 59,6 %, концентрації ВГ на 17,7 % ($p < 0,05$), у гомогенаті печінки СОД і КАТ на 21,2 та 59,6 %, а ВГ на 54,2 % відповідно відносно групи КП та за зни-

женням інтенсивності процесів ПОЛ: у сироватці крові та гомогенаті печінки – зниження концентрації ТБК-АП – на 33,0 та 33,1 %, ДК – на 35,9 та 38,6 %, ГПЛ – на 19,4 та 19,7 % відповідно відносно КП.

Вперше на моделі ЦД 2 типу встановлена здатність ФК запобігати зростанню глікемії після «глюкозного навантаження» на 39-43 % відносно КП, нормалізуючи її до показників ІК, та підтверджена інсуліносенсibiliзуюча активність за умов короткого інсулінового тесту: зростання коефіцієнту чутливості до інсуліну вдвічі, що достовірно ($p < 0,05$) перевищує активність препаратів порівняння «Арфазетин» та метформіну. Виявлено корегуючий вплив ФК на ліпідний спектр крові та функціональний стан печінки.

Встановлено відновлення балансу антиоксидантного захисту та процесів ПОЛ під впливом ФК: у сироватці крові активність СОД і КАТ зростала на 30,3 та 20,6 %, концентрація ВГ – на 19,1 % відносно КП; у гомогенаті печінки – СОД зростала на 15,6 %, концентрація ВГ – на 51,3 % відносно групи КП; виявлено значне зниження під впливом ФК рівня ТБК-АП на 39,5 % та 37,9 %, ДК – на 39,5 та 44,0 %, ГПЛ – на 15,4 та 21,4 % відповідно у сироватці крові та у гомогенаті печінки.

Гістологічно підтверджено, що за умов метаболічного синдрому та цукрового діабету 2 типу застосування ФК суттєво вплинуло на структурне відновлення гепатоцитів та різко зменшило дистрофічні зміни панкреатоцитів.

Наукова новизна досліджень підтверджена патентом України на корисну модель за № 130960 UA, 2019 р. «Спосіб одержання сухого екстракту стулок квасолі звичайної з гіпоглікемічною дією».

Практичне значення отриманих результатів. Робота є експериментальним дослідженням, у якому доведена ефективність нової ФК на експериментальних моделях гіперліпідемії, інсулінорезистентності, метаболічного синдрому та цукрового діабету 2 типу, що визначає доцільність створення на її основі нового лікарського препарату з метою оптимізації фармакотерапії МС та ЦД 2 типу.

Результати дисертаційної роботи впроваджено в науково-педагогічний процес кафедри фармакології Національного фармацевтичного університету (м. Харків) (протокол № 10 від 22.11.2019 р.), кафедри фармакології Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова (протокол № 6 від 03.12.2019 р.), кафедри фармакології Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця (м. Київ) (протокол № 12 від 10.02.2020 р.), центральної науково-дослідної лабораторії (протокол № 12 від 23.12.2019 р.), кафедри фармакології з клінічною фармакологією (протокол № 4 від 19.12.2019 р.), кафедри клінічної фармації (протокол № 12 від 18.12.2019 р.) та кафедри медичної біохімії Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського МОЗ України (протокол № 13 від 20.12.2019 р.).

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота є самостійною завершеною науковою працею. Разом із науковим керівником визначено мету та завдання дослідження, розроблено методичні підходи до їх реалізації. Автор самостійно провела патентно-інформаційний пошук, огляд наукової літератури за темою дисертації, обґрунтувала актуальність проблеми, виконала експериментальні дослідження, провела статистичний аналіз одержаних цифрових даних та їх узагаль-

нення, оформлення у вигляді таблиць, графіків і діаграм, сформулювала висновки.

У наукових працях, опублікованих у співавторстві, дисертантом наведено результати власних експериментальних досліджень, взято участь в аналізі та узагальненні одержаних даних, у написанні статей. Співавторами наукових праць є науковий керівник проф. І. М. Кліщ та науковці, спільно з якими проведені деякі дослідження – Л. В. Вронська, І. П. Стечишин, Т. А. Грошовий, А. Є. Демид, І. З. Кернична, Н. В. Гецько, М. О. Пилипишин.

Експериментальну частину роботи виконано на базі Центральної науково-дослідної лабораторії Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського МОЗ України (свідоцтво про атестацію № 053/13 від 04.03.13 р.) під керівництвом доц. Н.Є. Лісничук. Гістоморфологічні дослідження проведено на базі кафедри патологічної анатомії з секційним курсом та судовою медициною Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського МОЗ України за консультативної допомоги к. мед. н., доц. Т.В. Дацко.

Об'єкти для фармакологічних досліджень виготовлені та надані для досліджень доцентом кафедри фармації ННІ ПО Тернопільського національного медичного університету ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України Л. В. Вронською.

Апробація результатів дисертації. Основні положення роботи викладено та обговорено на VI науково-практичній конференції з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (м. Тернопіль, 10–11 листопада 2016 р.), 5th International Conference and Workshop «Plant – the source of research material» (Lublin, Poland, 21-24 June 2017), 72-й научно-практической конференции студентов-медиков и молодых ученых с международным участием «Актуальные проблемы современной медицины» (г. Самарканд, Узбекистан, 11-12 мая 2018 г.), Буковинському міжнародному медико-фармацевтичному конгресі студентів і молодих учених «ВІМСО 2018» (м. Чернівці, 4-6 квітня 2018 р.), XXII Міжнародному медичному конгресі студентів та молодих вчених (м. Тернопіль, 23-25 квітня 2018 р.), XVII Міжнародному науковому конгресі Світової федерації українських лікарських товариств (м. Тернопіль, 20-22 вересня 2018 р.), VII науково-практичній конференції з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (м. Тернопіль, 27–28 вересня 2018 р.), Міжнародній науково-практичній конференції студентів та молодих науковців «Annual Young Medical Scientists' Conference 2018» (м. Київ, 23-25 листопада 2018 р.), XVI Науково-практичній конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Перший крок в науку – 2019» (м. Вінниця, 18-19 квітня 2019 р.), XXIII Міжнародному медичному конгресі студентів та молодих вчених (м. Тернопіль, 15-17 квітня 2019 р.), V Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Хімія природних сполук» (м. Тернопіль, 30-31 травня 2019 р.), 6th International Conference and Workshop «Plant – the source of research material» (Lublin-Naleczow, Poland, 10-12 September 2019), Всеукраїнській науково-практичній конференції «Актуальні питання фармакології та фармакотерапії» (м. Тернопіль, 26-27 вересня 2019 р.), VIII науково-практичній конференції з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних

процесів створення лікарських препаратів» (м. Тернопіль, 23–24 вересня 2020 р.), Всеукраїнській науково-практичній інтернет-конференції «YOUNG SCIENCE 2.0» (м. Київ, 20 листопада 2020 р.), Всеукраїнській науково-практичній інтернет-конференції «YOUNG SCIENCE 3.0» (м. Київ, 26 березня 2021 р.), XXV Міжнародному медичному конгресі студентів та молодих вчених (м. Тернопіль, 12-14 квітня 2021 р.).

Публікації. За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 28 наукових праць, зокрема 8 статей (із них 7 – у наукових фахових виданнях, рекомендованих МОН України, 1 – у зарубіжному фаховому виданні), 1 патент України на корисну модель, 19 тез доповідей.

Обсяг і структура дисертації. Дисертаційна робота викладена на 253 сторінках машинописного тексту, складається із анотацій українською та англійською мовами, вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, 3 розділів результатів власних досліджень, розділу «Аналіз та узагальнення результатів», загальних висновків, списку використаних джерел, додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 158 сторінок друкованого тексту. Робота ілюстрована 34 таблицями та 29 рисунками. Список використаних джерел містить 366 найменувань, з них 138 кирилицею та 228 латиницею.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи дослідження. Об'єктами фармакологічних досліджень були сухі екстракти листя шовковиці білої (*Morus alba* L.), стулок квасолі звичайної (*Phaseolus vulgaris* L.), пагонів чорниці звичайної (*Vaccinium myrtillus* L.) та розроблена на їх основі нова ФК (відповідно у співвідношенні 4,0 : 1,5 : 1,0). Усі об'єкти розроблені к. хім. н., доцентом кафедри фармації ННІ ПО Тернопільського національного медичного університету ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України Л.В. Вронською та надані для подальших досліджень.

У дослідженні були використані такі препарати порівняння (ПП): рослинний збір «Арфазетин» (ПрАТ «Ліктрави», Україна) у дозі 12 мл/кг в/ш у вигляді настою, який готували щодня згідно інструкції до застосування; метформін («Діаформін®», таб. 850 мг, ПАТ «Фармак», Україна) у вигляді суспензії (150 мг/кг, в/ш), кислоту ніотинову («Ніотинова кислота-Дарниця», розчин для ін'єкцій 10 мг/мл, ПрАТ «Дарниця», Україна) у вигляді розчину дозою 2,5 мл/кг в/ш. Дози ПП розраховували, виходячи з разових та добових норм, вказаних у інструкціях до застосування, протоколах лікування, з урахуванням коефіцієнту видової чутливості за Ю.Ю. Риболовлевим (А. В. Стефанов, 2002).

Роботу виконано на базі Центральної науково-дослідної лабораторії Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського МОЗ України (свідоцтво про атестацію № 053/13 від 04.03.13 р.) під керівництвом доц. Н.Є. Лісничук. Гістоморфологічні дослідження проведено на кафедрі патологічної анатомії з секційним курсом та судовою медициною за консультативної допомоги к. мед. н., доц. Т.В. Дацко.

В експериментах було використано 270 статевозрілих білих щурів масою 180 ± 40 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію Тернопільського національного медичного університету ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України. Усі

маніпуляції були проведені відповідно до загальних етичних принципів експериментів на тваринах. Комісією з біоетики Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського (на етапі планування: витяг з протоколу № 32 від 25.11.2015 р. та завершальному етапі: витяг з протоколу № 55 від 04.11.2019 р.) порушень морально-етичних норм при проведенні науково-дослідної роботи не виявлено.

Дизайн проведення фармакологічних досліджень наведений на рис. 1.

<p>I етап. Скринінгові дослідження гіпоглікемічної та гіполіпідемічної активності сухих екстрактів</p>	<ul style="list-style-type: none"> • проведення орального тесту толерантності до глюкози - вивчення дозозалежності гіпоглікемічного ефекту • дослідження гіполіпідемічної дії на твіновій моделі гіперліпідемії • гостра токсичність сухих екстрактів
<p>II етап. Скринінгові дослідження гіпоглікемічної та гіполіпідемічної активності фітокомпозиції</p>	<ul style="list-style-type: none"> • проведення орального тесту толерантності до глюкози - вивчення дозозалежності гіпоглікемічного ефекту • дослідження гіполіпідемічної дії на твіновій моделі гіперліпідемії • гостра токсичність фітокомпозиції
<p>III етап. Дослідження активності фітокомпозиції на експериментальній моделі інсулінорезистентності</p>	<ul style="list-style-type: none"> • визначення базальної глікемії • проведення орального тесту толерантності до глюкози • проведення короткого інсулінового тесту • проведення адреналінового тесту
<p>IV етап. Дослідження антидіабетичної активності розробленої фітокомпозиції при експериментальному метаболічному синдромі та цукровому діабеті 2 типу</p>	<ul style="list-style-type: none"> • визначення базальної глікемії та проведення орального тесту толерантності до глюкози, короткого інсулінового та адреналінового тестів • дослідження ліпідного спектру крові та показників цитолізу, холестазу та інтоксикації • дослідження балансу систем антиоксидантного захисту та пероксидного окиснення ліпідів • гістологічні дослідження тканин печінки та підшлункової залози

Рис. 1 Дизайн фармакологічного дослідження сухих екстрактів листя шовковиці білої, стулок квасолі звичайної та пагонів чорниці звичайної та розробленої на їх основі нової фітокомпозиції (ФК)

Гостру токсичність екстрактів та ФК вивчали відповідно до методичних рекомендацій ДЕЦ МОЗ України на статевозрілих щурах обох статей з масою тіла 180-220 г, які голодували протягом ночі, за умов одноразового в/ш введення у вигляді водного розчину у дозі 5000 мг/кг за 2 прийоми з інтервалом 30 хвилин за допомогою тонкого металевого атравматичного зонда. Впродовж 14 діб проводили спостереження за загальним станом і поведінкою тварин і можливою загибеллю, а також проявом симптомів інтоксикації, оцінювали динаміку маси тіла, відмічали особливості поведінки, прийому корму і води, враховували стан шерсті,

слизових оболонки (А.В. Стефанов, 2002).

Глюкозотолерантний тест проводили на всіх експериментальних моделях після «глюкозного навантаження» (3 г/кг маси тіла тварини 40 % розчину глюкози в/ш) шляхом визначення рівня глюкози в крові базального та через 30, 60, 90, 120 та 180 хв та обраховували функціональні глікемічні коефіцієнти (А.В. Стефанов, 2002). *Адреналіновий тест* проводили шляхом внутрішньом'язового введення 0,18 % розчину адреналіну гідротартрату в дозі 0,5 мг/кг (в перерахунку на адреналіну гідрохлорид). Через 30 та 90 хв визначали концентрацію глюкози в крові (А.О. Кініченко та ін., 2017, Цюхно З.И. и др., 1981). *Короткий інсуліновий тест* проводили через 30 хв після в/о введення екзогенного інсуліну (1 ОД/кг маси тіла, «Актрапід» («Novo Nordisk», Данія)) відносно базальної глікемії (після нічного голодування) та обчислювали коефіцієнт чутливості до інсуліну (А.В. Стефанов, 2002).

Твінову гіперліпідемію моделювали шляхом одноразового в/о введення детергенту Твін-80 у дозі 200 мг/100 г маси тіла. На період дії Твін-80 тварин залишали голодними. Через 9 год. тварин виводили з експерименту під тіопенталовим наркозом (50 мг/кг в/о). З метою попередження розвитку гіперліпідемії, індукованої введенням твін-80, тварини отримували відповідні водні розчини екстрактів, ФК та кислоти ніотинової в/ш щодня один раз на добу в ранкові години протягом 10 днів в об'ємі, розрахованому на масу тіла щура. Останнє введення проводили разом з в/о введенням детергенту Твін-80 (Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств, 2012).

Інсулінорезистентність моделювали шляхом в/м введення щурам глюкокортикостероїду дексаметазону (ТОВ «КРКА Україна», Словенія) у дозі 0,125 мг/кг щодня зранку протягом 13 діб (А.В. Стефанова, 2002, Su K.H. et al., 2014). Рівень глюкози у крові тварин визначали натще, щоб уникнути впливу їжі на всмоктування досліджуваних засобів та виражали в абсолютних та відносних значеннях. Перше визначення здійснювали до початку експерименту, друге – після моделювання ІР та введення ФК, референс-препаратів («Арфазетин», метформін) та води питної (плацебо). Стан глюкозного гомеостазу оцінювали за зміною базальної глікемії за допомогою орального тесту толерантності до глюкози (ОТТГ), короткого інсулінового тесту та адреналінового тесту. Внутрішньошлункове введення тваринам води питної, настою збору «Арфазетин», суспензії метформіну та водного розчину ФК здійснювали за допомогою тонкого металевого атравматичного зонду одночасно з в/м ін'єкціями дексаметазону.

Метаболічний синдром моделювали у щурів шляхом застосування високофруктозної дієти, яку забезпечували заміщенням питної води 20 % розчином фруктози (Голден-Фарм, Україна) *ad libitum* при споживанні стандартного корму протягом 10 тижнів (V. Klevanova et al., 2015). В останні 4 тижні експерименту піддослідних тварин було поділено на групи та розпочато в/ш введення ФК (165 мг/кг), двох референс-препаратів «Арфазетин» (12 мл/кг) та метформіну (150 мг/кг), а також плацебо.

Цукровий діабет 2 типу моделювали шляхом в/о введення нікотинаміду (НА) («G. Amphray Laboratories», Індія; 230 мг/кг), розчиненого у фізіологічному розчині натрію хлориду, за 15 хвилин до в/о введення стрептозотоцину (СТЗ)

(«Sigma-Aldrich», США; 65 мг/кг)), розчиненого у цитратному буфері (рН 4,5) (А.В. Стефанов, 2002). Тваринам групи ІК вводили відповідну кількість розчинників. Через 2 тижні після введення СТЗ, НА було визначено рівень базальної глікемії, проведено ОТТГ з метою підтвердження порушень вуглеводного обміну. З наступної доби тварин було поділено на групи та розпочато введення ФК, двох ПП «Арфазетин» та метформіну, а також плацебо. Водні розчини досліджуваних засобів вводили в/ш один раз на добу протягом 4 тижнів.

За умов дексаметазонової інсулінорезистентності, високофруктозної дієти та ЦД 2 типу експериментальних тварин розподіляли на 5 груп: ІК (n = 8), КП (n = 10); дві референс групи, тварини яких отримували рослинний збір «Арфазетин» (n = 10) та препарат метформін (n = 10); група тварин, які отримували ФК (n = 10).

Дослідження біоматеріалу здійснювали через добу після завершення введення засобів корекції. Евтаназію тварин здійснювали під тіопенталовим наркозом (50 мг/кг) та проводили забір біоматеріалу для біохімічних та патоморфологічних досліджень.

Визначення загальних ліпідів, загального холестеролу, холестеролу ЛПВЩ, триацилгліцеролів, АсАТ, АлАТ, ЛФ, ЗБ проводили спектрофотометричним методом за допомогою стандартного набору реактивів («Felicity Diagnostic», Україна). Концентрацію ХС ЛПНЩ та ХС ЛПДНЩ обраховували з концентрації ЗХС, ХС ЛПВЩ та ТГ за формулою W.T. Friedewald, коефіцієнт атерогенності розраховували за формулою А.М. Клімова.

Визначення МСМ проводили шляхом виділення їх кислоторозчинної фракції з наступною детекцією десятикратно розведеної надосадової рідини при довжинах хвиль 254 та 280 нм та виражали в одиницях, чисельно рівних показникам екстинкції (В.В. Николайчик и др., 1989).

Визначення показників систем АОЗ, ПОЛ проводили у 10 % гомогенаті тканин печінки та у сироватці крові. Визначення активності супероксиддисмутази проводили за методом С. Чеварі та співавт. (1985 р.), каталази – за методом М. А. Корольок і співавт. (1988 р.), вмісту ТБК-активних продуктів – за методом Андреева Л. И. и соавт. (1988 р.), відновленого глутатіону – Ellman G.; Sedlack J. et al. (1959 р.), гідропероксидів ліпідів – за методом В. Б. Гаврилова (1983 р.), дієнових кон'югатів – за методом О. Е. Колесова (1984 р.).

Для гістологічного дослідження шматочки тканини фіксували в 10 % нейтральному розчині формаліну з наступною заливкою у парафін. Отримані на санному мікротомі зрізи фарбували гематоксиліном та еозином. Характер і глибину морфологічних змін документували за допомогою мікроскопа «ЛОМО Биолам И» і системи виводу зображень гістологічних препаратів.

Статистичну обробку отриманих результатів проводили методами варіаційної статистики з використанням U-критерію Манна-Уїтні та критерію Стьюдента за допомогою комп'ютерних програм IBM SPSS Statistica v.10.1 та MS Excel 2010. Для оцінки вірогідності отриманих результатів приймали рівень значущості $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення.

Досліджувані сухі екстракти були отримані з лікарської рослинної сировини

вітчизняного походження методом дробної мацерації за допомогою водно-спиртових екстрагентів. Підбір оптимальних екстрагентів здійснювали експериментальним шляхом. За результатами фітохімічних досліджень та проведеного ОТТГ, для одержання сухих екстрактів та подальших досліджень нами було обрано: для стулок квасолі – вміст етанолу 60-40 %, для пагонів чорниці – 70-50 %, для листя шовковиці білої – 80-70 % у водно-спиртовому екстрагенті, що забезпечує максимальну екстракцію БАР із лікарської рослинної сировини.

В отриманому екстракті шовковиці виявлено хлорогенову і ферулову кислоти, кверцетин, кемпферол та 1-деоксиноіриміцин (DNJ або 1- deoxynojirimosin, моранолін) (ВЕРХ); в екстракті квасолі – мірицетин, кверцетин, кемпферол; в екстракті чорниці – хлорогенова, кофейна і ферулова кислоти, мірицетин, кверцетин, кемпферол. Стандартизацію ЕШ проводили за кількісним вмістом гідроксикоричних кислот: вміст хлорогенової кислоти – не менше 1,0 % (ВЕРХ), поліфенолів: не менше 2,5 % (у перерахунку на пірогалол, СФ), флавоноїдів: не менше 2,0 % (у перерахунку на рутин, СФ); ЕК – за кількісним вмістом поліфенолів: не менше 1,4 % (у перерахунку на пірогалол, СФ), флавоноїдів: не менше 0,7 % (у перерахунку на рутин, СФ); ЕЧ – за кількісним вмістом гідроксикоричних кислот: вміст хлорогенової кислоти – не менше 6,0 % (ВЕРХ), поліфенолів: не менше 17,0 % (у перерахунку на пірогалол, СФ), флавоноїдів: не менше 4,5 % (у перерахунку на рутин, СФ).

Умовно-ефективні дози сухих екстрактів встановлювали за виразністю гіпоглікемічної активності при проведенні ОТТГ. Для подальших досліджень було обрано умовно-ефективну дозу ЕШ – 200 мг/кг, ЕК – 75 мг/кг, ЕЧ – 50 мг/кг. З урахуванням умовно-ефективних доз окремих екстрактів було визначено склад нової ФК: сухого екстракту листя шовковиці білої – 4,0 масових частки;

сухого екстракту стулок квасолі звичайної – 1,5 масових частки;

сухого екстракту пагонів чорниці звичайної – 1,0 масова частка.

За умов ОТТГ після профілактичного семиденного введення щурам із нормальним вуглеводним гомеостазом ФК у дозі 85, 125, 165, 245 та 325 мг/кг сприяла зниженню рівня базальної глікемії у порівнянні з КП. Гіпоглікемічна активність ФК у дозах 165 мг/кг, 245 мг/кг, 325 мг/кг достовірно ($p < 0,05$) перевищувала ефект ПП «Арфазетин» та відповідала активності метформіну. Зважаючи на те, що досліджувану ФК бажано застосовувати довготривало, для уникнення можливих контрінсулінових реакцій, які можуть виникати при перевищенні дози цукрознижуючих засобів (Стефанов А.В., 2002), оптимальним є застосування ФК у дозі 165 мг/кг.

При вивченні гострої токсичності встановлено, що в/ш введення ЕШ, ЕК, ЕЧ та ФК у дозі 5000 мг/кг не спричиняло ознак інтоксикації у щурів обох статей: вони були активними, реагували на звукові та світлові подразники, процеси сечовиділення та дефекації були в нормі, порушення дихання та судом не спостерігали, у всіх тварин зросла маса тіла. Загибелі тварин протягом всього періоду спостереження не зареєстровано.

У результаті дослідження ліпідного спектру крові тварин за умов твінової гіперліпідемії було встановлено, що у тварин, які отримували ФК, концентрація ЗЛ, ЗХС та ТГ була нижчою на 15,7; 33,5 та 36,5 % відповідно відносно КП та на

4,9; 2,3; 12,8 % у порівнянні з показниками референс-групи. ФК нормалізувала показники ЗЛ та ХС ЛПВЩ. Щодо фракційного складу холестеролу, то концентрація ХС ЛПВЩ та ХС ЛПНЩ була нижчою відповідно на 20,7 % та 49,2 % порівняно з КП та практично не відрізнялася від показника референс-групи. Коефіцієнт атерогенності, що відображає співвідношення між проатерогенними та неатерогенними ліпопротеїдами та є маркером атеросклеротичних уражень, під впливом ФК знижувався на 29,3% відносно КП та не був достовірно відмінним від такого під впливом ПП.

На моделі *дексаметазонавої інсулінорезистентності* при застосуванні ФК концентрація глюкози була нижчою порівняно з КП на 21,4, 24,8, 26,7, 18,9, 7,8 % через 30, 60, 90, 120 та 180 хв відповідно, що достовірно перевищувало ефект «Арфазетину» на 30, 60, 90 хв та достовірно не відрізнялося від ІК та групи тварин, які отримували метформін в усі досліджувані терміни. Обраховані глікемічні коефіцієнти не перевищували нормальних значень.

При проведенні короткого інсулінового тесту в групі тварин, які отримували ФК, коефіцієнт чутливості до інсуліну становив 45,7 %, що на 16,2 % вище групи КП, достовірно вище аналогічного показника у тварин, які отримували «Арфазетин», та статистично не відрізнявся від тварин, які отримували метформін, та ІК. Це свідчить про гальмування розвитку ІР під впливом ФК на рівні ефекту препарату «Метформін». Також ФК стримувала зростання адреналінової гіперглікемії на 42,9; 70,2 % через 30 та 90 хв відповідно відносно групи КП, що перевищує активність ПП «Арфазетин».

На моделі *метаболичного синдрому, викликаного високофруктозною дієтою*, за результатами ОТТГ встановлено, що застосування ФК стримує зростання постпрандіальної глікемії на 20,7; 25,4; 17,6; 15,5 та 16,8 % через 30, 60, 90, 120 та 180 хв відповідно відносно КП, що перевищувало ефект ПП «Арфазетин». За результатами адреналінового тесту встановлено, що застосування ФК запобігало зростанню глікемії через 30 та 90 хв на 13,8 та 10,9% порівняно з КП та сприяло відновленню чутливості до інсуліну на рівні метформіну і вище рівня ПП «Арфазетин».

Введення ФК достовірно запобігало зростанню ЗЛ, ЗХС та ТГ на 20,1; 28,6 та 35,1 % відповідно відносно групи КП. Фракційний склад ЗХС був розподілений таким чином: 51,8% холестеролу ЛПВЩ : 27,7% ЛПНЩ : 20,4% ЛПДНЩ. За корегуючим впливом на ліпідний спектр крові ФК переважає активність референс-препаратів та наближає досліджувані показники до нормальних значень.

Активність АсАТ була нижчою на 8,9 %, АЛАТ – на 24,2 % порівняно з групою КП, де зростання вказаних показників свідчило про розвиток цитолізу гепатоцитів. ФК знижувала вміст МСМ₁ та МСМ₂ на 17,7 % та 5,4 % відносно групи тварин, які отримували «Арфазетин», та на 21,5 % та 22,2 % відносно метформіну.

При дослідженні у сироватці крові стану антиоксидантної системи (табл. 1), було встановлено, що на тлі дії ФК активність СОД збільшилась на 36,4 %, КАТ – на 59,6 %, концентрація ВГ – на 17,7 % відносно КП. У гомогенаті печінки активність СОД зростала на 21,2 %, КАТ – на 59,6 %, концентрація ВГ – на 54,2 %. ФК перевищувала активність референс-препаратів та знижувала концентрацію продуктів ПОЛ (ТБК-АП, ДК та ГПЛ) у сироватці крові – на 33,0; 35,9 та 19,4 %, а у го-

могенаті – на 33,1; 38,6 та 19,7 %. Антиоксидантно-прооксидантний індекс зростає на 145,7 % відносно групи КП. Така динаміка свідчить про позитивні зміни у співвідношенні «прооксиданти-антиоксиданти» в бік зменшення інтенсивності процесів ПОЛ та відновлення активності та вмісту компонентів АОС.

Таблиця 1

Вплив фітокомпозиції на показники антиоксидантного захисту та пероксидного окиснення ліпідів у сироватці крові та гомогенаті печінки на моделі метаболічного синдрому, індукованого високофруктозною дієтою, (M±m)

Група тварин	СОД, ум.од./л	КАТ, мкат/л	ВГ, ммоль/л	ТБК, мкмоль/л	ДК, ммоль/л	ГПЛ, ум.од/л*10 ³
	<i>У сироватці крові</i>					
ІК (n = 8)	3,07± 0,14	3,21± 0,11	0,79± 0,07	1,19± 0,06	0,84± 0,11	3,48± 0,23
КП (n = 10)	2,17± 0,10*	1,71± 0,15*	0,62± 0,06	2,21± 0,10*	1,53± 0,10*	4,79± 0,25*
П + Арфазетин, 12 мл/кг (n = 10)	2,67± 0,14*#	2,44± 0,14*#	0,69± 0,07	1,63± 0,12*#	1,08± 0,07#	4,28± 0,26*
П + Метформін, 150 мг/кг (n = 10)	2,52± 0,17*	2,66± 0,15*#	0,67± 0,08	1,83± 0,09*#	1,24± 0,11*	3,93± 0,21#
П + ФК, 165 мг/кг (n = 10)	2,96± 0,16#	2,73± 0,13*#	0,73± 0,07	1,48± 0,11*#§	0,98± 0,06#	3,86± 0,18#
	<i>У гомогенаті печінки</i>					
ІК (n = 8)	2,59± 0,12	7,03± 0,31	2,02± 0,16	8,85± 0,31	3,08± 0,18	4,81± 0,16
КП (n = 10)	2,03± 0,13*	8,37± 0,23*	1,07± 0,06*	15,22± 0,42*	6,07± 0,24*	7,67± 0,26*
П + Арфазетин, 12 мл/кг (n = 10)	2,15± 0,14*	7,45± 0,26#	1,43± 0,10*#	11,25± 0,36*#	4,25± 0,19*#	6,83± 0,28*#
П + Метформін, 150 мг/кг (n = 10)	2,17± 0,14*	8,01± 0,22*	1,52± 0,15*#	12,74± 0,33*#	4,37± 0,18*#	6,59± 0,30*#
П + ФК, 165 мг/кг (n = 10)	2,46± 0,14#	7,17± 0,20*#§	1,65± 0,12#	10,18± 0,27*#@\$	3,73± 0,17*#§	6,16± 0,21*#

Примітки: достовірно (p < 0,05) відносно групи: * – ІК, # – КП, @ – «Арфазетин», § – метформін; n – кількість тварин у групі.

Застосування ФК сприяло відновленню печінки (рис. 2). Балкова організація гепатоцитів залишалась добре структурованою, синусоїди дещо розширені, в просвітах містили поодинокі лімфо- та гістіоцити. Будова печінкової часточки залишалась переважно збереженою. Цитоплазма гепатоцитів мала дрібнозернисту або гомогенну структуру, що свідчило про різке зменшення проявів білкової гіаліново-крапельної дистрофії, особливо в перипортальних зонах. Контури переважної більшості клітин залишались чіткими, міжклітинні контакти збереженими. В центролобулярних ділянках часточок спостерігалась переважно гіпертрофія клі-

тин. Поява двоядерних гепатоцитів свідчила про посилення регенерації. Просвіти судин портальних трактів різко зменшувались через зменшення повнокров'я, периваскулярний набряк, лімфо- та гістіоцитарна інфільтрація практично не візуалізувалася.

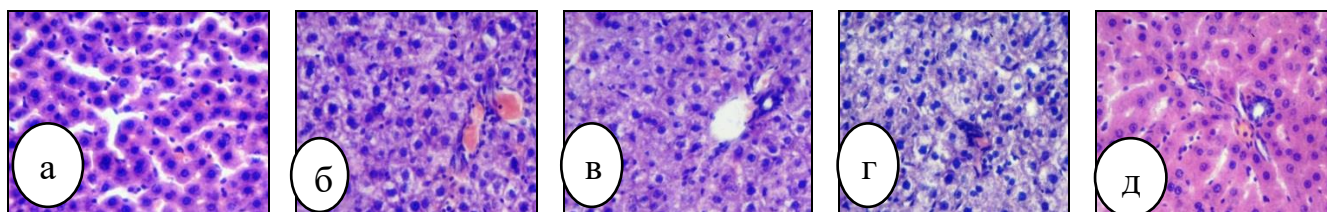


Рис. 2 Мікропрепарат печінки щура: інтактного (а); з моделлю МС (б); з моделлю МС, лікованого ПП «Арфазетин» (в), з моделлю МС, лікованого ПП метформін (г), з моделлю МС, лікованого ФК (д). Гематоксилін та еозин. Зб. х200.

У підшлунковій залозі (рис. 3) на тлі дії ФК встановлено рівномірне кровонаповнення судин, зменшення вогнищевої агрегації еритроцитів, в тому числі і в мікроциркуляторному руслі, зменшення проявів мукоїдного набряку в стінках судин. Такі зміни сприяли зниженню периваскулярного набряку та набряку міждолькової пухкої сполучної тканини, покращенню структурної організації епітелію екскреторного компоненту підшлункової залози. Острівцевий компонент візуалізувався слабо, у частково збережених інсулоцитах зменшились прояви дистрофічних змін цитоплазми, знизилась жирова інфільтрація β -клітин, прояви гідропічної дистрофії. У окремих клітин візуалізувалася гіпертрофія ядер.

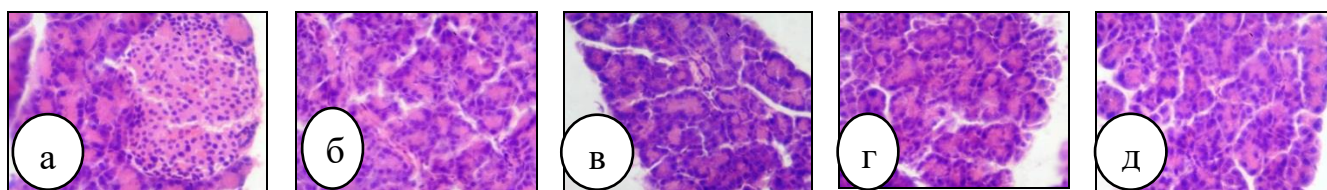


Рис. 3 Мікропрепарат підшлункової залози щура: інтактного (а); з моделлю МС (б); з моделлю МС, лікованого ПП «Арфазетин» (в), з моделлю МС, лікованого ПП метформін (г), з моделлю МС, лікованого ФК (д). Гематоксилін та еозин. Зб. х200.

На моделі *діабету, спричиненого стрептозотоцином з нікотинамідом*, чотирьохтижневе застосування ФК запобігало зростанню глікемії на 43,0; 42,0; 39,6; 39,4 та 21,9 % відносно групи КП через 30, 60, 90, 120 та 180 хв відповідно від початку тесту, що достовірно перевищує ефект ПП «Арфазетин» та відповідає ІК і активності метформіну. Глікемічні коефіцієнти також суттєво знизились та не перевищували нормальні значення.

За результатами короткого інсулінового тесту під впливом ФК коефіцієнт чутливості до інсуліну зростав до 36,7 %, що перевищує активність референс-препаратів. Під час адреналінового тесту глікемія зростала на 53,8 та 84,1 % через 30 та 90 хв, що перевищує ефект ПП «Арфазетин» та практично відповідає показ-

никам ІК.

При дослідженні ліпідного спектру при застосуванні нової ФК рівень ЗЛ знижувався на 13,3 %, ЗХС – на 22,8 % порівняно з КП. Рівень ХС ЛПНЩ та ХС ЛПДНЩ знижувався на 40,5 та 35,0 % відносно групи КП, а ХС ЛПВЩ підвищувався на 4,3 %. ФК сприяла зниженню гіпертригліцеридемії на 35,2 % відносно групи КП. Коефіцієнт атерогенності відповідно зменшувався на 37,7 % відносно групи КП, що на 13,8 % та 10,9 % нижче груп тварин, які отримували «Арфазетин» та метформін. Активність амінотрансфераз АсАТ, АлАТ та ЛФ на тлі дії ФК знижувалась на 8,9; 15,3; 14,5 % відповідно відносно групи КП. Також, було відмічено зниження МСМ₁ на 16,2 та МСМ₂ на 22,2 % відносно групи КП.

Вплив ФК на активність АОЗ (табл. 2) характеризувався підвищенням активності СОД на 30,3 та 15,6 %, концентрації ВГ на 19,1 та 51,3 % у сироватці крові та гомогенаті печінки відповідно відносно групи КП та підвищенням КАТ на 20,6 % у сироватці крові. ФК виявила антиоксидантний вплив: концентрація ТБК-АП знижувалась на 39,5 та 37,9 %, ДК – на 39,5 та 44,0 %, ГПЛ – на 15,4 та 21,4 % у сироватці крові та гомогенаті печінки відповідно. Антиоксидантний ефект ФК перевищував активність обох референс-препаратів. Антиоксидантно-прооксидантний індекс сироватки крові у порівнянні з групою КП зростав на 106,3 %, що свідчить про відновлення балансу АОС-ПОЛ. У групі тварин, які отримували ФК, інтегративний індекс Ф зростав на 86,1 % у порівнянні з групою КП, що перевищує групи тварин, які отримували «Арфазетин» та метформін, на 13,6 та 31,4 % відповідно.

Таблиця 2

Вплив фітокомпозиції на показники антиоксидантного захисту та пероксидного окиснення ліпідів у сироватці крові та гомогенаті печінки на моделі ЦД 2 типу, індукованого введенням стрептозоточину та нікотинаміді, (M±m)

Група тварин	СОД, ум.од./ л	КАТ, мкат/л	ВГ, ммоль/л	ТБК, мкмоль/л	ДК, ммоль/л	ГПЛ, ум.од/л *10 ³
1	2	3	4	5	6	7
<i>У сироватці крові</i>						
ІК (n = 8)	3,17± 0,15	3,42± 0,14	0,86± 0,04	1,27± 0,07	0,77± 0,06	3,41± 0,13
КП (n = 10)	2,28± 0,11*	2,53± 0,11*	0,68± 0,04*	2,63± 0,10*	1,52± 0,08*	4,60± 0,18*
П + Арфазетин, 12 мл/кг (n = 10)	2,81± 0,14 [#]	2,84± 0,12*	0,82± 0,07	1,78± 0,10 [#]	0,97± 0,08 [#]	4,02± 0,15 [#]
П + Метформін, 150 мг/кг (n = 10)	2,64± 0,13 [#]	3,08± 0,16 [#]	0,79± 0,06	1,80± 0,13 [#]	1,08± 0,06 [#]	4,19± 0,13*
П + ФК, 165 мг/кг (n = 10)	2,97± 0,14 [#]	3,05± 0,17 [#]	0,81± 0,07	1,59± 0,12 [#]	0,92± 0,07 [#]	3,89± 0,13 [#]

1	2	3	4	5	6	7
	<i>У гомогенаті печінки</i>					
ІК (n = 8)	2,86± 0,13	6,80± 0,25	1,93± 0,08	9,85 ±0,31	3,17± 0,14	4,68± 0,12
КП (n = 10)	2,31± 0,11*	7,62± 0,20*	1,15± 0,07*	18,27± 0,31*	7,05± 0,18*	6,67± 0,17*
П + Арфазетин, 12 мл/кг (n = 10)	2,56± 0,13	7,41± 0,23	1,43± 0,12*	12,13± 0,35*#	4,38± 0,10**	5,76± 0,17*#
П + Метформін, 150 мг/кг (n = 10)	2,49± 0,14	7,46± 0,25	1,33± 0,10*	13,79± 0,29*#	4,65± 0,14**	5,62± 0,16*#
П + ФК, 165 мг/кг (n = 10)	2,67± 0,12#	7,07± 0,21	1,74± 0,14#§	11,35± 0,30*#§	3,95± 0,15**@§	5,24± 0,17*#@

Примітки: достовірно ($p < 0,05$) відносно групи: * – ІК, # – КП, @ – «Арфазетин», § – метформін; n – кількість тварин у групі.

При моделюванні ЦД 2 типу структура печінки (рис. 4) зазнавала виражених змін. ФК сприяла збереженню гепатоцитів та відновленню їх організації. Гістологічно встановлено відновлення часточкової будови, збереження центролобулярних гепатоцитів, різке зменшення повнокров'я центральних вен. Просвіти синусоїдів добре контурувались, практично не містили макрофагів, або їх кількість була незначною. Цитоплазма гепатоцитів залишалась переважно гомогенною, еозинофільною, міжклітинні контакти залишались збереженими, контури клітин – однотипними. Збільшувалась кількість двоядерних гепатоцитів. У судинах портальних трактів спостерігалось нерівномірне кровонаповнення, незначний периваскулярний набряк, лімфо-та гістіоцитарна інфільтрація незначна.

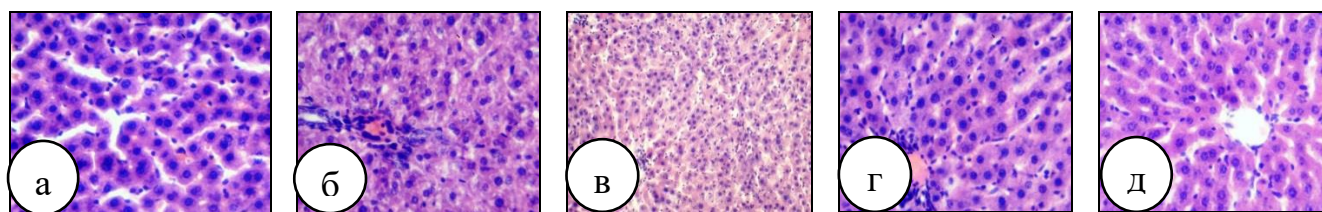


Рис. 4 Мікропрепарат печінки щура: інтактного (а); з моделлю ЦД 2 типу (б); з моделлю ЦД 2 типу, лікованого ПП «Арфазетин» (в), з моделлю ЦД 2 типу, лікованого ПП метформіном (г), з моделлю ЦД 2 типу, лікованого ФК (д). Гематоксилін та еозин. Зб. х200.

При гістологічному дослідженні підшлункової залози (рис. 5) після корекції ФК виявлено незначне повнокров'я судин м'язового типу з вогнищевою агрегацією еритроцитів, незначну структурну реорганізацію секреторних клітин ацинусів, помірне зменшення гомогенних зон клітин, незначне розширення їх просвітів, що свідчило про зменшення дистрофічних змін та секреторних функцій клітин. У міжацинарній пухкій сполучній тканині помітно зменшувалась лімфо- та гістіоцитарна інфільтрація у поєднанні із помірним набряком. Добре візуалізувались

вивідні протоки. Площа острівців практично не змінювалась, у клітинах центральної зони спостерігалась виражена гіпертрофія ядер, у периферичних ендокриноцитах мала місьце посиленна базофілія.

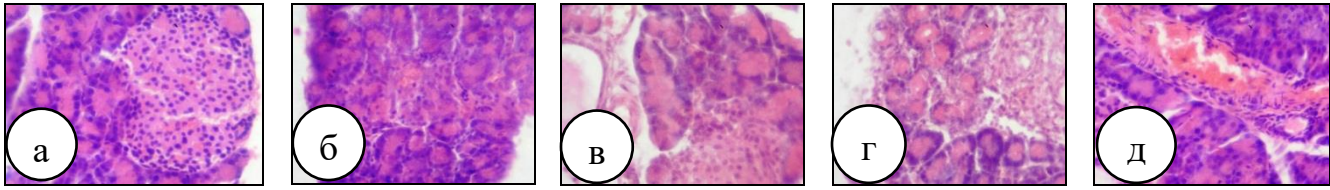


Рис. 5 Мікропрепарат підшлункової залози щура: інтактного (а); з моделлю ЦД 2 типу (б); з моделлю ЦД 2 типу, лікованого ПП «Арфазетин» (в); з моделлю ЦД 2 типу, лікованого ПП метформіном (г); з моделлю ЦД 2 типу, лікованого ФК (д). Гематоксилін та еозин. Зб. х200.

ВИСНОВКИ

Проблема поширення цукрового діабету та пов'язаних з ним метаболічних порушень є надзвичайно актуальною. Існуючі протидіабетичні засоби представлені в основному синтетичними препаратами, які мають багато протипоказань та побічних ефектів. Тому пошук і розробка ефективних, безпечних та економічно доступних рослинних антидіабетичних засобів є перспективним напрямком сучасної фармації. У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення та нове вирішення актуальної наукової задачі щодо експериментального обґрунтування доцільності та ефективності застосування нової фітокомпозиції, що містить сухі екстракти листя шовковиці білої (*Morus alba* L.), стулок квасолі звичайної (*Phaseolus vulgaris* L.) та пагонів чорниці звичайної (*Vaccinium myrtillus* L.), як гіпоглікемічного та гіполіпідемічного засобу з антиоксидантною активністю для профілактики та лікування метаболічного синдрому, цукрового діабету 2 типу, інсулінорезистентності.

1. Встановлено, що сухі екстракти та фітокомпозиція при внутрішньошлунковому введенні належать до V класу токсичності – практично нетоксичні речовини (ЛД₅₀ >5000 мг/кг).

2. Встановлено умовно-ефективну дозу сухих екстрактів та фітокомпозиції за умов проведення орального тесту толерантності до глюкози на нормоглікемічних щурах: для сухого екстракту листя шовковиці білої – 200 мг/кг, сухого екстракту стулок квасолі звичайної – 75 мг/кг, сухого екстракту пагонів чорниці звичайної – 50 мг/кг, фітокомпозиції на їх основі – 165 мг/кг.

3. Встановлено виражену гіполіпідемічну дію сухих екстрактів та фітокомпозиції на моделі твінової гіперліпідемії у здорових щурів. Профілактичне введення фітокомпозиції достовірно ($p < 0,05$) знижувало рівень загальних ліпідів на 15,7 %, загального холестеролу на 33,5 % та триацилгліцеролів на 36,5 % відносно КП, сприяло позитивним змінам у фракційному складі холестеролу: достовірне

($p < 0,05$) зростання ХС ЛПВЩ на 20,7 %, зниження ХС ЛПНЩ на 49,2 % відносно КП і як наслідок зниження коефіцієнту атерогенності на 29,3 %.

4. Встановлено, що фітокомпозиція гальмує розвиток резистентності до інсуліну та толерантності до вуглеводів за умов дексаметазонової інсулінорезистентності: що підтверджено достовірним ($p < 0,05$) стримуванням розвитку гіперглікемії на 21,4 %, 24,8 %, 26,7 %, 18,9 %, 7,8 % через 30, 60, 90 та 120 та 180 хв відповідно відносно контрольної патології та гальмуванням розвитку інсулінорезистентності (коефіцієнт чутливості до інсуліну становив 45,7 %).

5. Встановлено ефективність фітокомпозиції на моделі метаболічного синдрому, індукованого високофруктозною дієтою, за здатністю знижувати підвищений рівень глюкози у крові після «глюкозного навантаження» на 20,7 %, 25,4 %, 17,6 %, 15,5 % та 16,8 % відповідно через 30, 60, 90, 120 та 180 хв від початку ОТТГ відносно групи контрольної патології та підвищувати чутливість до інсуліну (коефіцієнт чутливості до інсуліну достовірно ($p < 0,05$) зростав на 18,9 % відносно контрольної патології), знижувати вираженість гіперліпідемії (зниження в сироватці крові концентрації загальних ліпідів на 20,1 %, загального холестеролу на 28,6 %, триацилгліцеролів на 35,1 % відносно групи КП із нормалізацією фракційного складу); покращувати функціональний стан печінки (зниження активності АсАТ на 8,9 %, АлАТ на 24,2 % порівняно з КП): зменшувати ендогенну інтоксикацію (зниження рівня МСМ₁ та МСМ₂ на 32,0 % та 40,7 %), що достовірно ($p < 0,05$) перевищує активність обох препаратів порівняння; корегувати баланс системи АОЗ-ПОЛ (у сироватці крові достовірно зростала активність СОД і КАТ на 36,4 % та 59,6 %, та паралельно достовірно знижувалась концентрація ТБК-АП, ДК та ГПЛ на 33,0 %, 35,9 % та 19,4 %; у гомогенаті печінки достовірно зростала активність СОД і КАТ на 21,2 % та 59,6 %, концентрація ВГ на 54,2 %; також достовірно знижувалась концентрація ТБК-АП на 33,1 %, ДК на 38,6 %, ГПЛ на 19,7 % відносно КП). Вказані зміни віддзеркалювали обраховані коефіцієнти, а саме: антиоксидантно-прооксидантний індекс зростав на 145,7 %, інтегративний індекс Ф – на 31,1 %. Гістологічно встановлено зменшення ураження підшлункової залози, печінки та поліпшення регенерації їх структурних елементів.

6. Встановлено антидіабетичну активність ФК на моделі ЦД 2 типу за зниженням базальної глікемії на 39,9 %, що перевищувало ефект «Арфазетину» та відповідає активності метформіну, а також за зниженням глікемії за умов ОТТГ на 39-43 % відносно КП і нормалізації її до показників ІК; за проявом інсулінонесибілізуючої активності у короткому інсуліновому тесті, здатністю знижувати реакцію до катехоламінів в адреналіновому тесті; за гіполіпідемічним впливом (рівні ХС ЛПНЩ та ХС ЛПДНЩ знижувались на 40,5 % та 35,0 % відповідно відносно групи КП, а рівень ХС ЛПВЩ дещо збільшувався, тригліцеридемія знижувалась на 35,2 % відносно КП, що відповідно зменшувало й коефіцієнт атерогенності на 37,7 %, що було на 13,8 % та 10,9 % нижче порівняно з тваринами, які отримували «Арфазетин» та метформін відповідно); за проявом антицитолітичного ефекту на гепатоцити, що підтверджено зниженням активності маркерних ферментів цитолізу; за зниженням інтенсивності ендогенної інтоксикації та катаболізму, що підтверджено зниженням МСМ₁ на 16,2 % та МСМ₂ на 22,2 % відносно КП; за здатністю відновлювати баланс антиоксидантного захисту та процесів

ПОЛ: під впливом ФК у сироватці крові активність СОД і КАТ зростала на 30,3 та 20,6 %, концентрація ВГ – на 19,1 % відносно КП; у гомогенаті печінки – активність СОД зростала на 15,6 %, концентрація ВГ – на 51,3 % відносно групи КП; виявлено значне зниження під впливом ФК рівня ТБК-АП на 39,5 % та 37,9 %, ДК – на 39,5 та 44,0 %, ГПЛ – на 15,4 та 21,4 % відповідно у сироватці крові та у гомогенаті печінки. Гістологічно підтверджено, що за умов цукрового діабету 2 типу застосування ФК суттєво вплинуло на структурне відновлення гепатоцитів та виразно зменшило дистрофічні зміни панкреатоцитів.

7. Проведені дослідження експериментально обґрунтовують доцільність подальшого доклінічного та клінічного вивчення фітокомпозиції на основі сухих екстрактів листя шовковиці білої (*Morus alba* L.), стулок квасолі звичайної (*Phaseolus vulgaris* L.), пагонів чорниці звичайної (*Vaccinium myrtillus* L.) з метою впровадження їх у медичну практику як високоефективного та малотоксичного гіпоглікемічного та гіполіпідемічного засобу з антиоксидантною активністю при порушеній толерантності до вуглеводів, метаболічному синдромі та цукровому діабеті 2 типу.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Стечишин І. П., Дуб А. І. Антиоксидантна та гіпоглікемічна активність біофлавоноїдів за цукрового діабету II типу. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2017. №6. С. 15–22 (*Особистий внесок – участь у написанні огляду літератури, оформленні статті*).

2. Вивчення складу флавоноїдів і гіпоглікемічної дії сухих екстрактів стулок квасолі / Л.В. Вронська, А.І. Дуб, І.М. Кліщ, А.Є. Демид. *Український біофармацевтичний журнал*. 2018. №2. С. 62–69 (*Особистий внесок – проведення частини експериментальних досліджень, обробка та аналіз результатів, участь в оформленні статті*).

3. Вплив нової фітокомпозиції на спектр ліпідів крові на моделі гіперліпідемії в щурів / А.І. Дуб, І.М. Кліщ, Л.В. Вронська, І.П. Стечишин. *Фармакологія і лікарська токсикологія*. 2018. № 4-5. С. 32-37 (*Особистий внесок – проведення експериментальних досліджень, обробка та аналіз результатів, участь в оформленні статті*).

4. Вивчення гіпоглікемічної дії фітозасобу, що містить сухі екстракти листя шовковиці білої, стулок квасолі звичайної і пагонів чорниці / А.І. Дуб, І.М. Кліщ, Л.В. Вронська, І.П. Стечишин. *Медична і клінічна хімія*. 2018. № 3. С. 43-49 (*Особистий внесок – проведення експериментальних досліджень, обробка та аналіз результатів, участь в оформленні статті*).

5. Дуб А.І., Кліщ І.М. Вплив нової фітокомпозиції, що містить сухі екстракти листя шовковиці білої, стулок квасолі звичайної і пагонів чорниці, на ліпідний спектр крові при експериментальному цукровому діабеті 2 типу. *Український біофармацевтичний журнал*. 2019. №2 (59). С. 38–43 (*Особистий внесок – проведення експериментальних досліджень, обробка та аналіз результатів, участь в оформленні статті*).

6. Вплив концентрації етанолу в екстрагенті на флавоноїдний профіль витягу

із листя шовковиці білої і його цукрознижувальну дію / Л.В. Вронська, А.І. Дуб, А.Є. Демид, Т.А. Грошовий, І.М. Кліщ. *Фармацевтичний часопис*. 2020. №1. С. 5–13 (*Особистий внесок – проведення частини експериментальних досліджень, обробка та аналіз результатів, участь в оформленні статті*).

7. Dub, A. I., Klishch, I. M., Vronska, L. V., & Stechyshyn, I. P. Study of the specific activity of the phytocomposition on the dexamethasone-induced insulin resistance. *Medical and Clinical Chemistry*. 2021. Vol. 2. P. 5-14 (*Особистий внесок – проведення експериментальних досліджень, обробка та аналіз результатів, участь в оформленні статті*).

8. Hypolipidemic activity of the new phytocomposition under experimental metabolic syndrome / A. Dub, I. Klishch, L. Vronska, I. Stechyshyn, N. Hetsko. *Czasopismo aptekarskie*. 2021. Vol. 8-9. P. 52-58 (*Особистий внесок – проведення експериментальних досліджень, обробка та аналіз результатів, участь в оформленні статті*).

9. Вронська Л.В., Дуб А.І., Грошовий Т.А., Кліщ І.М., Демид А.Є. Спосіб одержання сухого екстракту стулок квасолі звичайної з гіпоглікемічною дією: пат. 130960 Україна, МПК А61К 36/48 (2006.01), А61К 9/14 (2006.01), А61Р 3/10 (2006.01). № а 2018 06542; заявл. 11.06.2018; опубл. 10.01.2019, Бюл. № 1 (*Особистий внесок – брала участь в патентному пошуку, проведені досліджень та оформленні патенту*).

10. Дуб А. І., Вронська Л. В., Кліщ І. М. Дослідження впливу екстрагенту на гіпоглікемічну дію екстракту листя шовковиці білої. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів*: матеріали VI наук.-практ. конф. з міжнародною участю, м. Тернопіль, 10–11 листопада 2016 року. Тернопіль, 2016. С. 330–331.

11. Dub A., Vronska L., Klishch I. Comparative study of hypoglycemic activity of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) shells dry extracts. *Plant – the source of research material* : abstracts book of 5-th International conference and workshop, Lublin, 21-24 June 2017. Lublin, 2017. P. 68.

12. Study of biologically active substances of white mulberry leaves and their extracts / L. Vronska, A. Demyd, A. Dub, T. Hroshovi, I. Klishch. *Plant – the source of research material* : abstracts book of 5-th International conference and workshop, Lublin, 21-24 June 2017. Lublin, 2017. P. 167.

13. Дуб А.І., Стечишин І.П. Дослідження гострої токсичності сухого екстракту листя шовковиці білої (*Morus alba* L.). *Vukovinian International Medical Congress «VIMCO 2018»*: збірник матеріалів міжнародного медико-фармацевтичного конгресу студентів і молодих учених, м. Чернівці, 4-6 квітня 2018 р. Чернівці, 2018. С. 409.

14. Дуб А.І., Стечишин І.П. Вивчення гіполіпідемічної активності сухого екстракту шовковиці білої. *XXII Міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених*: збірник матеріалів доповідей, м. Тернопіль, 23-25 квітня 2018 р. Тернопіль, 2018. С. 185-186.

15. Дуб А.И. Изучение активности сухого экстракта побегов черники обыкновенной на модели твиновой гиперлипидемии. *Актуальные проблемы современной медицины*: матер. 72-й научно-практической конференции студен-

тов-медиків и молодих учених с международным участием, Самарканд, 11-12 мая 2018 г. Самарканд, 2018. С. 313.

16. Дуб А.І., Стечишин І.П. Вивчення дозозалежності сухого екстракту листя шовковиці білої. *XVII Конгрес світової федерації українських лікарських товариств*: матер. міжнар. наук. Конгресу, м. Тернопіль, 20-22 вересня 2018 р. Тернопіль, 2018. С. 235.

17. Дуб А.І. Особливості гіпоглікемічної дії фітозасобу на основі сухого екстракту листя шовковиці білої залежно від дози. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів*: матеріали VII наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Тернопіль, 27-28 вересня 2018 р. Тернопіль, 2018. С. 265-266.

18. Dub A. Investigation the effect of the hypoglycemic herbal remedy, that contains extracts of the white mulberry, common bean and blueberry on the experimental model of insulin resistance. *Annual young medical scientists conference 2018: abstracts book of IV International conference of students and young scientists*, Kyiv, 23-25 November 2018. Kyiv, 2018. P. 129–130.

19. Дуб А.І. Зміни вуглеводного обміну після корекції новою фітокомпозицією при експериментальному цукровому діабеті 2 типу. *XXIII Міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених*: збірник матеріалів доповідей, м. Тернопіль, 15-17 квітня 2019 р. Тернопіль, 2019. С. 219.

20. Дуб А.І. Дослідження гіполіпідемічної активності нової фітокомпозиції на основі шовковиці білої при цукровому діабеті 2 типу. *Перший крок в науку – 2019*: матер. XVI науково-практичної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю, м. Вінниця, 18-19 квітня 2019 р. Вінниця, 2019. С. 435.

21. Дуб А.І., Стечишин І.П. Дослідження чутливості до інсуліну при експериментальному цукровому діабеті 2 типу та його корекції новою фітокомпозицією. *Хімія природних сполук*: матеріали V всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю, м. Тернопіль, 30-31 травня 2019 р. Тернопіль, 2019. С. 81-82.

22. Dub A., Vronska L., Klishch I. Application the phytocomposition of dry extracts for correction the lipid metabolism changes in experimental metabolic syndrome. *Plant – the source of research material* : abstracts book of 6-th International conference and workshop, Lublin-Naleczow, 10-12 September 2019. Lublin-Naleczow, 2019. P. 122-123.

23. Development of analysis methods of the bilberry shoots dry extract and researching of its hypoglycemic activity / L. Vronska, A. Dub, A. Demyd, T. Hroshovyi, I. Kernychna. *Plant – the source of research material* : abstracts book of 6-th International conference and workshop, Lublin-Naleczow, 10-12 September 2019. Lublin-Naleczow, 2019. P. 120-121.

24. Дослідження специфічної активності нової фітокомпозиції на перебіг експериментального метаболічного синдрому / А.І. Дуб, І.М. Кліщ, Л.В. Вронська, І.П. Стечишин. *Актуальні питання фармакології та фармакотерапії*: мат. всеукр. наук.-практ. конф., м. Тернопіль, 26-27 вересня 2019 р. Тернопіль, 2019. С. 21-22.

25. Гіпоглікемічна активність нової фітокомпозиції, що містить сухі екстрак-

ти шовковиці білої, квасолі звичайної та чорниці звичайної при експериментальному метаболічному синдромі / А.І. Дуб, Л.В. Вронська, І.П. Стечишин, Н.В. Гецько, І.М. Кліщ. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : матеріали VIII наук.-практ. конф. з міжнар. участю, Тернопіль, 23-24 вересня 2020 р. Тернопіль : ТНМУ, 2020. С. 279-281.

26. Дуб А.І. Вплив фітокомпозиції на показники цитолізу та холестазу за умов експериментального цукрового діабету 2 типу. «*YOUNG SCIENCE 2.0*»: мат. всеукр. наук.-практ. інтернет-конф., Київ, 20 листопада 2020 р. Київ, 2020. С. 34-35.

27. Дуб А. І. Дослідження антиоксидантної активності фітокомпозиції при експериментальному метаболічному синдромі. «*YOUNG SCIENCE 3.0*»: мат. всеукр. наук.-практ. інтернет-конф., Київ, 26 березня 2021 р. Київ, 2021. С. 29-31.

28. Дуб А., Пилипишин М. Визначення впливу фітокомпозиції на стан перекисного окиснення ліпідів при експериментальному метаболічному синдромі. Матер. XXV Міжнар. медичного конгресу студентів та молодих вчених, Тернопіль, 12-14 квітня 2021 р. Тернопіль: Укрмедкнига, 2021. С. 193-194.

АНОТАЦІЯ

Дуб А. І. Експериментальне обґрунтування антидіабетичної активності нової фітокомпозиції. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук (доктора філософії) за спеціальністю 14.03.05 «Фармакологія» (22 – Охорона здоров'я). – Національний фармацевтичний університет МОЗ України, Харків, 2021.

Дисертаційна робота присвячена фармакологічному дослідженню нової фітокомпозиції, що містить сухі екстракти листя шовковиці білої (*Morus alba* L.), стулок квасолі звичайної (*Phaseolus vulgaris* L.), пагонів чорниці звичайної (*Vaccinium myrtillus* L.) як перспективного антидіабетичного засобу.

Вперше встановлена умовно-ефективна доза фітокомпозиції, яка становить 165 мг/кг (у співвідношенні 4,0 : 1,5 : 1,0 сухих екстрактів шовковиці білої, квасолі звичайної та чорниці звичайної відповідно). Фітокомпозиція при внутрішньошлунковому введенні відноситься до V класу токсичності – практично нетоксичні речовини ($LD_{50} > 5000$ мг/кг).

Встановлено, що фітокомпозиція гальмує розвиток резистентності до інсуліну та толерантності до вуглеводів, виявляє антигіперглікемічні, гіполіпідемічні, антиоксидантні властивості, покращує функціональний стан печінки, зменшує ендогенну інтоксикацію, сприяє регенерації підшлункової залози та печінки на моделях метаболічного синдрому, викликаного високофруктозною дієтою, і цукрового діабету 2 типу, індукованого введенням стрептозоточину та нікотинамідом.

Фітокомпозиція є перспективним засобом для подальшого доклінічного та клінічного вивчення з метою впровадження її у медичну практику як високоефективного та малотоксичного гіпоглікемічного та гіполіпідемічного засобу з антиоксидантною активністю для профілактики та комплексного лікування інсулінорезистентності, метаболічного синдрому та цукрового діабету 2 типу.

Ключові слова: цукровий діабет, метаболічний синдром, інсулінорезистент-

ність, оксидативний стрес, антиоксидантна активність, гіпоглікемічна дія, гіполіпемічна дія, фітокомпозиція, екстракт шовковиці, екстракт квасолі, екстракт чорниці.

АННОТАЦІЯ

Дуб А. И. Экспериментальное обоснование антидиабетической активности новой фитокомпозиции. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание научной степени кандидата фармацевтических наук (доктора философии) по специальности 14.03.05 «Фармакология» (22 – Здравоохранение). – Национальный фармацевтический университет МЗ Украины, Харьков, 2021.

Диссертационная работа посвящена фармакологическому исследованию новой фитокомпозиции, содержащей сухие экстракты листьев шелковицы белой (*Morus alba* L.), створок фасоли обыкновенной (*Phaseolus vulgaris* L.), побегов черники обыкновенной (*Vaccinium myrtillus* L.) как перспективного антидиабетического средства.

Впервые установлена условно эффективная доза фитокомпозиции, которая составляет 165 мг/кг (в соотношении 4,0 : 1,5 : 1,0 сухих экстрактов шелковицы белой, фасоли обыкновенной и черники обыкновенной соответственно). Фитокомпозиция при внутрижелудочном введении относится к V классу токсичности – практически нетоксичным веществам ($LD_{50} > 5000$ мг/кг).

Установлено, что фитокомпозиция уменьшает развитие резистентности к инсулину и толерантности к углеводам, проявляет антигипергликемические, гиполлипидемические, антиоксидантные свойства, улучшает функциональное состояние печени, уменьшает эндогенную интоксикацию, способствует регенерации поджелудочной железы и печени на экспериментальных моделях метаболического синдрома, вызванного высокофруктозной диетой, и сахарного диабета 2 типа, индуцированного введением стрептозотоцина и никотинамида.

Фитокомпозиция является перспективным средством для дальнейшего доклинического и клинического изучения с целью внедрения в медицинскую практику как высокоэффективного и малотоксичного гипогликемического и гиполлипидемического средства с антиоксидантной активностью для профилактики и комплексного лечения инсулинорезистентности, метаболического синдрома и сахарного диабета 2 типа.

Ключевые слова: сахарный диабет, метаболический синдром, инсулинорезистентность, оксидативный стресс, антиоксидантная активность, гипогликемическое действие, гиполлипидемическая активность, фитокомпозиция, экстракт шелковицы, экстракт фасоли, экстракт черники.

SUMMARY

Dub A. I. Experimental approach of the antidiabetic activity of the new phytocomposition. – Manuscript copyright.

The thesis for a candidate degree of pharmaceutical sciences (PhD) in specialty 14.03.05 – «Pharmacology» (22 – Healthcare). – National University of Pharmacy of Ministry of Healthcare of Ukraine, Kharkiv, 2021.

The thesis was devoted to the pharmacological study of the new phytocomposition which contains dry extracts of White mulberry (*Morus alba* L.) leaves, Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) shells, Bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) shoots.

For the first time, a conditionally effective dose of phytocomposition was established, which is 165 mg / kg (in the ratio 4.0: 1.5: 1.0 of dry extracts of white mulberry, common bean and bilberry, respectively). Phytocomposition, when administered intragastrically, belongs to the V class of toxicity – almost non-toxic substances ($LD_{50} > 5000$ mg / kg).

The corrective effect of phytocomposition on the blood lipid spectrum in the twin hyperlipidemia model in rats was found: significant decrease in the concentration of total lipids by 15.7%, total cholesterol by 33.5% and triacylglycerols by 36.5% relative to the control pathology.

The phytocomposition significantly restrained the growth of hyperglycemia by 21.4%, 24.8%, 26.7%, 18.9%, 7.8% after 30, 60, 90 and 120 and 180 min, respectively, relative to the control pathology during the oral test in dexamethasone insulin resistance model. It was found that the phytocomposition inhibits the development of insulin resistance – the sensitivity coefficient was 45.7%.

Under a high-fructose diet, the phytocomposition normalized basal glycemia and significantly inhibited the development of glycemia after "glucose load" by 20.7%, 25.4%, 17.6%, 15.5% and 16.8%, respectively, after 30, 60, 90, 120 and 180 min from the beginning of the oral test relative to the control pathology. The insulin sensitivity coefficient increased by 18.9% relative to the control pathology. There was a significant decrease in total lipids by 20.1%, total cholesterol - by 28.6%, triacylglycerols - by 35.1% relative to the control pathology with normalization of the atherogenic factor. The balance of the antioxidant systems and lipid peroxidation was restored: in the serum the SOD and CAT activity significantly increased by 36.4% and 59.6%, and the concentration of TBARS, diene conjugates and lipid peroxides - by 33.0%, 35.9% and 19.4%; in the liver homogenate the SOD and CAT activity significantly increased by 21.2% and 59.6%, the concentration of G-SH - by 54.2%; The concentration of TBARS was also significantly reduced - by 33.1%, diene conjugates - by 38.6%, lipid peroxides - by 19.7% relative to the control pathology.

In experimental type 2 diabetes mellitus induced by streptozotocin and nicotinamide, the phytocomposition reduced basal glycemia by 39.9% relative to baseline before treatment. During the oral test, the phytocomposition prevented the increase in glycemia by 39-43% relative to the control pathology. There was a mild corrective effect on the serum lipid spectrum - the concentration of total lipids, cholesterol, triacylglycerols, LDL and VLDL cholesterol was significantly reduced by 13.3%, 22.8%, 35.2%, 40.5% and 35.0% relative to the control pathology.

Phytocomposition caused a corrective effect on the antioxidant system and lipid peroxidation: in the serum significantly increased the SOD and CAT activity by 30.3 and 20.6% and significantly reduced the concentration of TBARS - by 39.5%, diene conjugates - by 39.5%, and in the liver homogenate significantly increased the SOD activity by 15.6%, the G-SH concentration - by 51.3% and significantly decreased the concentration of TBARS - by 37.9%, diene conjugates - 44.0%, lipids peroxides - by 21.4% relative to the control pathology. Histologically, it was confirmed that the use of phytocomposition in the model of metabolic syndrome and type 2 diabetes mellitus significantly affected the structural recovery of hepatocytes and dramatically reduced the dystrophic changes of pancreatic cells.

Phytocomposition is a promising tool for further preclinical and clinical studies in order to introduce it into medical practice as a highly effective and low-toxic hypoglycemic and hypolipidemic agent with antioxidant activity for the prevention and treatment of insulin resistance, metabolic syndrome and type 2 diabetes mellitus.

Keywords: diabetes mellitus, metabolic syndrome, insulin resistance, oxidative stress, antioxidant activity, hypoglycemic action, hypolipidemic activity, phytocomposition, mulberry extract, bean extract, blueberry extract.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АЛАТ – аланінамінотрансфераза	ЛПВЩ – ліпопротеїди високої щільності
АОЗ – антиоксидантний захист	ЛПДНЩ – ліпопротеїди дуже низької щільності
АОС – антиоксидантна система	ЛПНЩ – ліпопротеїди низької щільності
АсАТ – аспаратамінотрансфераза	ЛФ – лужна фосфатаза
АФО – активні форми кисню	МС – метаболічний синдром
ВГ – відновлений глутатіон (G-SH)	МСМ – молекули середньої маси
в/ш – внутрішньошлунково	ОС – оксидативний стрес
в/о – внутрішньоочеревинно	ОТТГ – оральний тест толерантності до глюкози
ВФД – високофруктозна дієта	ПОЛ – пероксидне окиснення ліпідів
ГПЛ – гідропероксиди ліпідів	ППГК – площа під глікемічною кривою
ДК – дієтові кон'югати	ПП – препарат порівняння
ЕК – сухий екстракт ступок квасолі звичайної	П – патологія
ЕЧ – сухий екстракт пагонів чорниці звичайної	СОД – супероксиддисмутаза
ЕШ – сухий екстракт листя шовковиці білої	СТЗ-НА – стрептозотоцин та нікотинамід
ЗБ – загальний білок	ТБК-АП – ТБК-активні продукти
ЗХС – загальний холестерол	ТГ – триацилгліцероли
ІК – інтактний контроль	ФК – фітокомпозиція
ІР – інсулінорезистентність	ЦД – цукровий діабет
КАТ – каталаза	
КП – контрольна патологія	

