

**Бороздина Наталья Андреевна**

**Исследование эффективности пептидных ингибиторов  $\alpha$ -амилаз из *Heteractis magnifica* на экспериментальной модели сахарного диабета 2 типа в качестве пероральных антигипергликемических препаратов**

3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ)» на базе Лаборатории биологических испытаний Филиала Государственного научного центра Института биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова Российской академии наук.

**Научный руководитель:**

Дьяченко Игорь Александрович, доктор биологических наук, доцент, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ)», декан БиоМедФармТехнологического факультета.

**Официальные оппоненты:**

**Хвостов Михаил Владимирович**, доктор биологических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова» Сибирского отделения Российской академии наук, заведующий лабораторией ингибиторов вирусных протеаз.

**Белослудцев Константин Николаевич**, доктор биологических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Марийский государственный университет», проректор по инновационной деятельности, профессор кафедры клеточной биологии и микробиологии.

**Ведущая организация:** Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», г. Москва.

Защита диссертации состоится «\_\_» \_\_\_\_\_ 2025 г. в «\_\_» часов на заседании диссертационного совета 21.2.005.02 при ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России по адресу: 400066, Волгоград, пл. Павших борцов, зд. 1.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (400066, г. Волгоград, пл. Павших Борцов, зд. 1), на сайте [www.volgmed.ru](http://www.volgmed.ru)

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2025 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета 21.2.005.02  
доктор медицинских наук, доцент

Шаталова Ольга Викторовна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность темы исследования

Глобальный отчет Всемирной организации здравоохранения о сахарном диабете показывает, что число людей с сахарным диабетом возрастет до 693 миллионов к 2045 году (Маколина и др., 2008; Cho N.H. et al, 2018). Сахарный диабет характеризуется гипергликемией из-за дефицита концентрации и/или активности инсулина, гормона поджелудочной железы, участвующего в обмене глюкозы (Artasensi A. et al, 2020). Значительное повышение глюкозы в крови после приема пищи у людей с сахарным диабетом является причиной нарушения антиоксидантной защиты и следующего развития множества патологических процессов (Cho N. H. et al, 2018; Artasensi A. et al, 2020). Поэтому в терапии сахарного диабета важно контролировать постпрандиальный уровень глюкозы с целью снижения образования конечных продуктов гликирования, которые идентифицированы как основной фактор риска развития осложнений у людей с диабетом (Снигур и др., 2011).

### Степень разработанности проблемы

Необходимость разработки антигипергликемических препаратов с меньшим количеством побочных эффектов и хорошей приверженностью к терапии до сих пор не удовлетворена (Алешин и др., 2016). Прослеживается тенденция поиска гипогликемических препаратов для лечения сахарного диабета 2 типа (СД2), и некоторые из них уже показали свою эффективность *in vitro* и *in vivo* (Спасов и др., 2016; Artasensi A. et al, 2020; Tousoulis D. et al, 2013; Viró A. et al, 2020). Природные компоненты становятся многообещающим пулом для открытия структур с высоким разнообразием и различной биологической активностью, которые могут быть непосредственно использованы для поиска новых высокоэффективных препаратов (Ленская и др., 2011). Сегодня активно пополняются библиотеки, богатые пептидами и белками природного происхождения, где указана информация об их структурах и взаимодействии с терапевтическими мишенями (Renganathan S. et al, 2021; Sintsova O. et al, 2019). Использование таких библиотек позволяет на стадии *in silico* предсказывать терапевтический эффект новых пептидных молекул с помощью множественного выравнивания (Leychenko E.V. et al, 2018). Большое количество пептидов Кунитц-типа из яда морской анемоны *Heteractis magnifica* было выделено и аннотировано в Тихоокеанском институте биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН (Sintsova O.V. et al, 2018; Leychenko E.V. et al, 2018). При проведении протеомного анализа было обнаружено, что два пептида Кунитц-типа, магнификамид – Mgf (4770 Да, 44 а.о.) и магнификамид-II – MgfII (4785,5 Да, 44 а.о.), имеют аналогичную на 84% хелиантамиду структуру, ранее открытому высокоэффективному ингибитору  $\alpha$ -амилаз (Sintsova O.V. et al, 2023). Как и предполагалось, Mgf и MgfII проявили высокую ингибиторную активностью *in*

*vitro* в отношении панкреатической и слюнной  $\alpha$ -амилаз.  $K_i$  для панкреатической  $\alpha$ -амилазы человека у Mgf и MgfII составляют  $3.1 \times 10^{-9} \text{M}$  и  $7.40 \times 10^{-10} \text{M}$ , что на порядки ниже, чем у акарбозы ( $K_i = 0.866 \times 10^{-6} \text{M}$ ), низкомолекулярного ингибитора  $\alpha$ -амилаз. Таким образом, предположительно намного более низкие дозы Mgf и MgfII могут применяться для контролирования постпрандиального уровня глюкозы *in vivo* (Sintsova O.V. et al, 2023). Использование низких доз также предполагает возможность длительного применения препаратов пептидной природы, что имеет значение в хроническом течении сахарного диабета (Renganathan S. et al, 2021; Sintsova O.V. et al, 2019, 2023). Исследование безопасности Mgf демонстрирует отсутствие острой токсичности при внутривенном и пероральном введении мышам в дозах до 2 мг/кг (Sintsova O.V. et al, 2023).

Основным препятствием для работы пептидных ингибиторов  $\alpha$ -амилаз при пероральном введении является pH желудка и протеолитические ферменты. Mgf и MgfII, как протеиназы Кунитц-типа, имеют три консервативные дисульфидные связи, и это предполагает их высокую устойчивость в среде желудочно-кишечного тракта. Уже продемонстрировано, что Mgf устойчив к нагреванию до 80 °C. Структурно аналогичный Mgf и MgfII пептид хелиантамид проявляет устойчивость в среде, имитирующей желудочную, в течение 4 суток (Tysoe C. et al, 2016). Таким образом, для Mgf и MgfII открывается возможность исследования их эффективности в качестве пероральных антигипергликемических препаратов. Более того, исследование безопасности Mgf демонстрирует отсутствие острой токсичности при однократном внутривенном и пероральном введении мышам в дозах до 2 мг/кг (Sintsova O.V. et al, 2023).

### **Цель работы**

Исследовать эффективность пептидных ингибиторов  $\alpha$ -амилаз из *Heteractis magnifica* в отношении патофизиологических и биохимических показателей на экспериментальном сахарном диабете 2 типа у мышей C57BL/6J при пероральном введении.

### **Задачи исследования**

1. Определить антигипергликемическую активность диапазона доз пептидных ингибиторов  $\alpha$ -амилаз из *Heteractis magnifica* при их однократном пероральном введении *in vivo*.
2. Исследовать эффективность 2-х и 4-х недельного перорального введения пептидного ингибитора  $\alpha$ -амилаз MgfII на обмен глюкозы при моделировании экспериментального сахарного диабета 2 типа у мышей C57BL/6J.
3. Исследовать эффективность 4-х недельного перорального введения пептидного ингибитора  $\alpha$ -амилаз MgfII в отношении липидного обмена при моделировании экспериментального диабета 2 типа у мышей C57BL/6J.

4. Исследовать эффективность 4-х недельного перорального введения пептидного ингибитора  $\alpha$ -амилаз MgfII при развитии полинейропатии у мышей C57BL/6J при моделировании экспериментального сахарного диабета 2 типа.

### **Научная новизна и практическая значимость работы**

Впервые *in vivo* обнаружена антигипергликемическая активность Mgf и MgfII при их пероральном однократном введении.

Впервые показано, что MgfII при многократном пероральном введении улучшает обмен глюкозы и облегчает инсулинорезистентность аналогично препарату сравнения метформину в экспериментальном сахарном диабете 2 типа.

Впервые показано, что пептидный ингибитор  $\alpha$ -амилаз MgfII предотвращает развитие признаков ожирения при его многократном пероральном введении аналогично препарату сравнения метформину в экспериментальном сахарном диабете 2 типа.

Впервые показано, что пептидный ингибитор  $\alpha$ -амилаз MgfII при его ежедневном пероральном введении в течение 2 и 4 недель эффективно снижает степень развития диабетической нейропатии при моделировании экспериментального СД2 в течение 19 и 21 недели в отношении чувствительности к нагреванию и охлаждению.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Работа по изучению эффективности ингибиторов альфа-амилаз *in vivo* является одним из этапов разработки новых лекарственных препаратов для лечения сахарного диабета. Результаты, полученные в работе, свидетельствуют о наличии эффективности Mgf и MgfII в коррекции метаболических нарушений при экспериментальном сахарном диабете 2 типа. Результаты, полученные в работе, позволяют продолжать исследования MgfII в качестве перорального антигипергликемического средства для лечения СД2. MgfII может стать высокоэффективной и безопасной альтернативой для пероральных ингибиторов  $\alpha$ -амилаз в лечении СД2.

### **Методология и методы диссертационного исследования**

На первом этапе осуществлялся поиск эффективных доз Mgf и MgfII при их однократном введении у гипергликемических мышей. Гипергликемия у мышей моделировалась путем однократного введения стрептозотоцина в дозе 150 мг/кг, внутривентриально. Активность ингибирования  $\alpha$ -амилаз определялась с помощью проведения крахмального теста: снижение постпрандиального уровня глюкозы при введении крахмала после введения ингибиторов  $\alpha$ -амилаз свидетельствует о замедлении расщепления крахмала. Активность различных доз Mgf и MgfII оценивалась в сравнении с акарбозой.

На втором этапе проводилось изучение эффективности ингибиторов альфа-амилаз в выявленной *in vivo* эффективной дозе при длительном применении на модели СД2. Для определения эффективности тестируемых веществ при метаболических нарушениях в работе применялись клинические лабораторные методы, отслеживание изменения массы тела животных, потребления корма, уровня глюкозы в крови, проводились глюкозотолерантный и инсулинорезистентный тесты, висцеральная жировая ткань взвешивалась и проводился подсчет диаметра адипоцитов. Эффективность Mgf и MgfII оценивалась в сравнении с акарбозой, имеющей аналогичный механизм действия, и в сравнении с метформинном, гипогликемическим пероральным препаратом первой линии для лечения СД2. Для определения эффективности тестируемых веществ в развитии осложнений, связанных с метаболическими нарушениями, у животных проводились функциональные тесты.

### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. Изученные пептидные ингибиторы альфа-амилаз Mgf и MgfII, выделенные из *Heteractis magnifica* снижают постпрандиальный уровень глюкозы. Магнификамид-2 обладает наиболее выраженными гипогликемическими свойствами.

2. MgfII при многократном пероральном введении эффективно корригирует обмен глюкозы (снижает постпрандиальную концентрацию глюкозы, концентрацию глюкозы натощак, инсулинорезистентность), предотвращает ожирение (снижает прирост массы тела, коэффициент массы висцерального жира и диаметр адипоцитов), а также предотвращает развитие диабетической нейропатии (нормализует чувствительность к нагреванию и охлаждению) у диабетических мышей.

### **Личный вклад автора**

Научные положения и выводы диссертации базируются на результатах собственных исследований автора и на данных, полученных при его непосредственном участии на всех этапах исследования. Автор лично составлял дизайны и хронологии экспериментов, и проводил следующие манипуляции с животными и работы: приготовление растворов тестируемых веществ для введения, приготовление высокожирового корма, введение стрептозотоцина животным, глюкометрия, крахмальный и инсулинорезистентный тест, тестирование чувствительности к механическим стимулам, холоду и нагреванию, измерение мышечной силы и локомоторной активности животных, измерение диуреза и проведение общего анализа мочи, терминальная анестезия. Автор принимал участие во взвешивании животных, распределении животных по группам и некропии. Автором проводился статистический анализ всех

полученных данных в проведенных исследованиях и оформление результатов. Автор принимал участие в публикации результатов и представлении результатов на конференциях.

### **Внедрение результатов исследования в практику**

Работа по изучению эффективности ингибиторов  $\alpha$ -амилаз *in vivo* является одним из этапов разработки новых лекарственных препаратов для лечения сахарного диабета 2 типа. Результаты, полученные в работе, свидетельствуют о наличии эффективности Mgf и MgfII в коррекции метаболических нарушений, возникающих при сахарном диабете 2 типа. Результаты, полученные в работе, позволяют продолжать исследования MgfII в качестве перорального антигипергликемического средства для контролирования постпрандиального уровня глюкозы, инсулинорезистентности, ожирения и развития полинейропатий при СД2. Открывается возможность применять MgfII при пероральном способе введения *in vivo*. MgfII может стать высокоэффективной и безопасной альтернативой для пероральных ингибиторов  $\alpha$ -амилаз в лечении СД2.

### **Степень достоверности результатов**

Работа была выполнена в БиомедФармТехнологическом факультете Пушкинского филиала федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ)» на базе Лаборатории биологических испытаний Филиала Государственного научного центра Института биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН (Филиал ГНЦ ИБХ РАН). Исследование выполнялось в соответствии с Федеральным законом от 12.04.2010 N 61-ФЗ "Об обращении лекарственных средств" в целях регистрации препарата для клинического применения. Лаборатория биологических испытаний включена в программу государственной инспекции Росаккредитацией на соответствие принципам надлежащей лабораторной практики. Работы с лабораторными животными проводились в соответствии с государственными стандартами и руководством Евразийской Экономической Комиссии (ГОСТ 33215-2014 «Правила оборудования помещений и организации процедур при работе с лабораторными животными»; ГОСТ 33216-2014 «Правила работы с лабораторными грызунами и кроликами», Рекомендация «О Руководстве по работе с лабораторными (экспериментальными) животными при проведении доклинических (неклинических) исследований». Евразийская Экономическая Комиссия. 14 ноября 2023 года, Москва). Процедуры с животными были рассмотрены и утверждены биоэтической комиссией Филиала ГНЦ ИБХ РАН. Для получения всех результатов были использованы современные и адекватные методы исследования. Результаты, приведенные в работе, воспроизводимы и проанализированы соответствующими статистическими методами.

### **Апробация результатов исследования**

По теме диссертационного исследования опубликованы 4 статьи в рецензируемых научных журналах, входящих в перечень рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации для публикации основных научных результатов диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, 7 тезисов докладов научных конференций международного уровня, и 1 патент Российской Федерации на изобретение. Результаты исследований были представлены на Всероссийской конференции «Биоресурсные коллекции животных биомоделей и генетические технологии – новые горизонты лечения социально-значимых патологий человеческого организма сквозь призму трансляционной медицины» (Москва, 2022); 26-ой Международной Пущинской школе-конференции молодых ученых «БИОЛОГИЯ - Наука 21 века» (Пущино, 2023); Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов» (Москва, 2023); 27-ой Международной Пущинской школе-конференции молодых ученых «БИОЛОГИЯ - Наука 21 века» (Пущино, 2024); 20-ой ежегодной научно-практической конференции «БИОМЕДИЦИНА И БИОМОДЕЛИРОВАНИЕ» (Светлые горы, 2024); Всероссийской научной конференции «БИОХИМИЯ ЧЕЛОВЕКА» (Москва, 2024).

### **Связь работы с научными программами**

Представленные результаты были получены при выполнении исследований в рамках гранта РНФ, проект № 21-74-20147 (<https://rscf.ru/project/21-74-20147/>).

### **Объем и структура диссертации**

Диссертация состоит из введения, четырех глав, заключения и списка литературы. Общий объем диссертации 112 страниц, включая 3 таблицы, 23 рисунка. Список использованной литературы содержит 174 наименования.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ**

### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

#### **Поиск эффективных доз Mgf и MgfII на экспериментальной модели гипергликемии**

**Индукция гипергликемии.** Гипергликемия индуцировалась у 130 самцов мышей ICR возрастом 7-8 недель, SPF-статуса (питомник лабораторных животных Филиала ГНЦ ИБХ РАН «Пущино»). Индукция гипергликемии проводилась путем однократной внутривентрикулярной инъекции стрептозоцина в дозе 150 мг/кг, объем введения 10 мл/кг. Стрептозоцин растворялся непосредственно перед введением в холодном цитратном буфере (0,1М, pH=4,5). Перед введением стрептозоцина у животных была измерена начальная концентрация глюкозы



натошак с помощью глюкометра Сателлит®Экспресс (ЭЛТА, Россия). Развитие гипергликемии отслеживалось на 7 и 14 день исследования путем измерения концентрации глюкозы в крови натошак – животных лишали корма на 4 часа перед глюкометрией. Наблюдение за животными для выявления отклонений в состоянии здоровья и смертности проводили ежедневно.

**Поиск эффективных доз Mgf и MgfII в крахмальном тесте.** Эффективность Mgf и MgfII изучалась при проведении крахмального теста у самцов мышей ICR с индуцированной гипергликемией, в каждую экспериментальную группу вошли по 7 животных с гипергликемией выше 15 ммоль/л. Крахмальный тест проводился через 14 дней после введения стрептозоцина. За 45 минут до крахмального теста животным в зависимости от групповой принадлежности перорально вводились носитель, препарат сравнения акарбоза, Mgf в дозах 0,1 мг/кг, 0,01 мг/кг, 0,005 мг/кг, 0,0025 мг/кг и 0,001 мг/кг или MgfII в дозах 0,01 мг/кг, 0,005 мг/кг, 0,001 мг/кг, 0,0005 мг/кг и 0,0001 мг/кг, объем введения 5 мл/кг. Препарат сравнения акарбоза вводилась за 45 минут до проведения крахмального теста в дозе 24 мг/кг. Крахмал вводился перорально зондом в желудок в дозе 3 г/кг, объемом 5 мл/кг. Измерение постпрандиального уровня глюкозы в крови проводилось через 0, 30, 60, 90 и 120 минут после введения крахмала. Эффективность Mgf и MgfII оценивалась по степени снижения постпрандиального уровня глюкозы и площади под графиком концентрации глюкозы при проведении крахмального теста.

#### **Исследование эффективности MgfII на экспериментальной модели сахарного диабета 2 типа**

**Моделирование экспериментального СД2 у мышей C57BL/6.** Экспериментальный СД2 индуцировался у 125 самцов мышей C57BL/6 возрастом 6 недель с SPF-статусом, контрольная группа на стандартной диете включала 20 самцов мышей C57BL/6 (питомник лабораторных животных Филиала ГНЦ ИБХ РАН «Пушино») путем нахождения животных на высокожировой диете. Высокожировой корм давался животным модельной группы в течение 21 недели, начиная с 1 дня эксперимента после периода адаптации. Для приготовления 1 кг высокожирового корма использовалось 700 г перемолотого корма Velaz FORTI 1324 Maintenance Diet (Altromin Spezialfutter GmbH & Co KG, Im Seelenkamp 20, D-32791 Lage, Германия), 300 г свиного растопленного лярда (ЯНЬКОВЪ, Россия), подготовленная системой Milli-RO (Millipore, США) вода (350 мл) с добавлением 10 г пищевой соли (ОАО «Мозырьсоль», Беларусь) и 28.5 г глутамата натрия (Баба Клава, Россия). Формировались пищевые гранулы, которые подсушивались при температуре 50-60°C в течение 10-12 часов. Корм хранился в холодильнике при 4°C не более недели. Развитие метаболических нарушений оценивалось у животных по приросту массы тела, концентрации глюкозы в крови натошак и при проведении крахмального и инсулинрезистентного теста.

**Изучение эффективности MgfII на экспериментальной модели СД2.** На 18 неделю проводилось повторное формирование групп, основываясь на массе тела животных. Из эксперимента были исключены животные на высокожировой диете (ВЖД), которые не достигли массы тела, равной 28 г. Таким образом, в эксперимент были включены по 18 животных для групп на ВЖД. Начиная с 18-й недели ВЖД, животным перорально в объеме 5 мг/кг вводились дистиллированная вода, метформин, акарбоза или MgfII в зависимости от групповой принадлежности в течение 4-х недель ежедневно (Таблица 1). Носитель (дистиллированная вода) вводился группам №1 и №2. Метформин вводился перорально группе №3 в дозе 200 мг/кг. Акарбоза вводилась перорально группе №4 в дозе 24 мг/кг. MgfII вводился группам №5 и №6 в дозах 0,005 мг/кг и 0,01 мг/кг.

В период введения тестируемых веществ у животных еженедельно измерялось потребление корма и проводилось взвешивание. До начала введения тестируемых веществ на 17 неделю, а также через 2 и 4 недели введения тестируемых веществ – на 19 и 21 неделю исследования, у животных проводился крахмальный тест, инсулинорезистентный тест, функциональные тесты: локомоторная активность, сила хватания, ацетоновый тест (чувствительность к холоду), тест Фон-фрей (чувствительность к механическому стимулу), Hot Plate (чувствительность к нагреванию). На 17, 19 и 21 неделю исследования животных подвергали плановой эвтаназии. Перед эвтаназией животных анестезировали смесью Телазол100® (Зоэтикс, Испания)/Ксила® (Interchemie werken "De Adelaar" BV, Нидерланды) внутримышечно, для достижения хирургической стадии анестезии. Проводился терминальный забор крови из нижней полой вены для биохимического и иммуноферментного анализа, взвешивание и коллекция органов и тканей.

**Инсулинорезистентный тест.** Перед проведением инсулинорезистентного теста животные лишались корма на 4 часа. Инсулин Апидра® (Sanofi-Aventis Deutschland GmbH, Германия) вводился подкожно в дозе 0.75 МЕ/кг, в объеме 5 мл/кг. Измерение глюкозы в образце крови проводили через 0, 15, 30, 60 и 120 минут после введения инсулина.

**Регистрация параметров общей локомоторной активности и исследовательской активности** проводилась в первой половине дня. Измерения выполнялись с помощью компьютерной установки OPTO-VARIMEX с программой Auto-Trek Version 4.2 (Columbus Instruments, США). При нахождении животного на открытой площадке актометра измеряли вертикальную активность и горизонтальную активность.

**Измерение мышечной силы** проводилось с помощью прибора GRIP STRENGTH METER (Columbus Instruments, США). Регистрировали силу натяжения пластины динамометра передними и задними лапами животного. Измерения выполняли после регистрации локомоторной активности.

**Изучение чувствительности к холоду.** Ацетон наносили в объеме 50 мкл на заднюю правую лапу животного и оценивали количество отдергиваний и облизываний лапы, продолжительность поджатия лапы. Тест проводился после измерения мышечной силы животного.

**Изучение чувствительности к механическому стимулу.** Механическая чувствительность регистрировалась прибором BIO-EVF (Bioseb, США), разработанным для определения порога болевой чувствительности при механическом воздействии на лапы животного по методу фон Фрея. Программное обеспечение фиксировало значение приложенной силы на экране прибора в граммах. У животного каждая лапа стимулировалась 3 раза. Тест проводился после измерения холодовой чувствительности у животного.

**Изучение чувствительности к нагреванию.** Тест выполняли с помощью прибора Hot-Plate analgesia meter (Columbus Instruments, США). Для проведения теста животное помещали в камеру на нагретую площадку прибора (с температурой  $50 \pm 0.1^\circ\text{C}$  и размером  $25.3 \times 25.3$  см) и регистрировали латентное время облизывания передней лапы, отдергивания задней лапы и подпрыгивание.

**Диурез.** За день перед крахмальным тестом животных помещали в метаболические клетки (Tecniplast, США) на ночь, на период 19-22 часов для регистрации спонтанного диуреза и сбора мочи. Объем выделенной мочи замеряли на следующий день для определения суточного диуреза.

**Общий анализ мочи.** Общий анализ мочи выполняли полуколичественно и качественно с помощью стрип-теста полосками Pocketchem Aution Sticks 10 EA (ARKRAY Factory, Inc., Япония) по следующим показателям: глюкоза, удельный вес, общий белок, кровь, pH, билирубин, кетоны, уробилиноген, нитриты, лейкоциты.

**Сбор крови.** Животных анестезировали смесью Телазол100® (Зоэтикс, Испания) / Ксила® (Interchemie werken "De Adelaar" BV, Нидерланды), внутримышечно, для достижения хирургической стадии анестезии. Образец крови забирался из нижней полой вены. Кровь помещали в пробирку без антикоагулянта. После свертывания пробы центрифугировали для получения сыворотки, сыворотку аликвотировали, для биохимического анализа сыворотку замораживали и хранили при  $-20^\circ\text{C}$  до момента измерения, и для иммуноферментного анализа при  $-70^\circ\text{C}$  до момента измерения.

**Биохимия сыворотки.** Измерения проводили на автоматическом биохимическом анализаторе Sapphire-400 (Tokyo Boeki LTD, Япония) с использованием соответствующих для каждого параметра наборов реагентов Randox GB. Проводилось измерение следующих показателей: аланинаминотрансфераза (АЛТ), аспартатаминотрансфераза (АСТ), креатинин, щелочная фосфатаза (ЩФ), мочевины, липопротеины низкой плотности (ЛПНП), триглицериды

(ТГ), билирубин общий, неэтерифицированные жирные кислоты (НЭЖК), липопротеины высокой плотности (ЛПВП), холестерин.

**Иммуноферментный анализ сыворотки.** В сыворотке крови иммуноферментным методом определяли показатели: HbA1c, инсулин при помощи коммерческих наборов для мышей Cloud-Clone Corp (БелкиАнтителя, Россия). Измерения проводили с использованием и спектрофотометра Multiskan™ GO (Termo Scientific).

**Масса органов.** У всех животных при некропсии взвешивали внутренние органы: печень, почки, селезенка, семенники и жировую ткань, окружающую придатки семенников. Во время некропсии были собраны и зафиксированы в 10% нейтральном формалине следующие органы: почки, сердце, аорта, печень, поджелудочная железа, жировая ткань, окружающая придатки семенников. Ткани собранных органов заливались в парафин и резались на срезы, окрашивались гематоксилином. Полученные срезы были изучены с помощью световой микроскопии на микроскопе DMLA Leica (Германия), срезы фотографировались на видеокамеру Photometrics Cool SNAP cf (США), программное обеспечение «Мекос» (Россия).

**Подсчет диаметра адипоцитов.** На срезах висцерального жира производили измерение размеров 100 адипоцитов в 15-20 случайных полях зрения. Измерение проводилось с помощью программного обеспечения ImageJ (США).

**Статистический анализ.** Статистическая обработка данных и подсчет площади под кривыми концентрации глюкозы при проведении крахмального и инсулинорезистентного тестов выполнялись с помощью GraphPad Prism 8. Для всех выборок была рассчитана нормальность распределений в тесте Шапиро-Уилка. Для установления межгрупповых различий применялся однофакторный дисперсионный анализ ANOVA, repeated measures ANOVA, либо непараметрический анализ Kruskal-Wallis. В случае, когда статистический анализ показывал уровень значимости  $p$  близкий или равный 0,05, применяли тест Mann-Whitney для выборок с ненормальными распределениями или t-тест Стьюдента в случае, если распределения выборок были нормальными. Для всех данных применялась описательная статистика, рассчитывалось среднее значение (MEAN) и стандартное отклонение (SD).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

### Поиск эффективных доз Mgf и MgfII при однократном пероральном введении у гипергликемических мышей

Для изучения антигипергликемической активности Mgf и MgfII использовались мыши с индуцированной гипергликемией. На 14 день у контрольных животных и животных с гипергликемией проводился крахмальный тест. Исходя из абсолютных значений концентрации глюкозы в крахмальном тесте на 0, 30, 60, 90 и 120 минуту, подсчитывались площади под графиками концентрации глюкозы (Рисунок 1). Обнаружено, что акарбоза, и дозы Mgf и MgfII, снижавшие постпрандиальный уровень глюкозы в крахмальном тесте, аналогично снижают площадь под графиком концентрации глюкозы относительно гипергликемических животных. Однако, Mgf проявляет эффективность в дозе 0,005 мг/кг, и при снижении дозы уже не проявляет гипогликемической активности, в то время как MgfII проявляет эффективность в дозах 0,005 мг/кг и 0,01 мг/кг. MgfII в дозе 0,01 мг/кг проявляет большую активность в снижении постпрандиального уровня глюкозы, чем акарбоза, в то время как Mgf в дозе 0,005 мг/кг проявляет активность наравне с акарбозой в дозе 24 мг/кг.

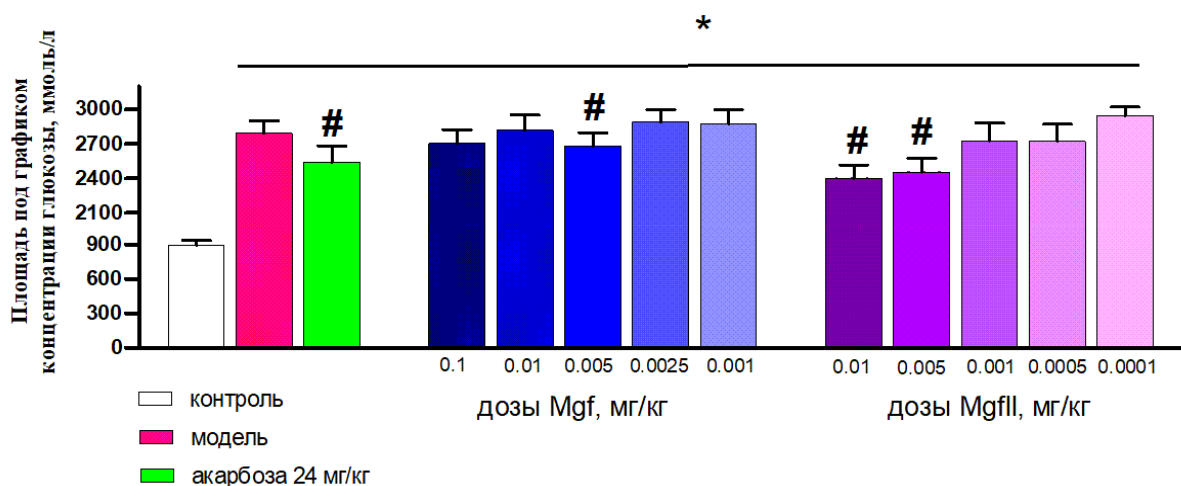


Рисунок 1 – Площадь под графиком концентрации глюкозы в крахмальном тесте, ммоль/л при однократном введении исследуемых веществ и доз за 45 минут до крахмального теста.

Результаты представлены как MEAN  $\pm$  SEM. \* $p < 0,05$  относительно группы контроль согласно t-тесту Стьюдента; # $p < 0,05$  относительно группы с гипергликемией согласно t-тесту Стьюдента.

### Эффективность MgfII на экспериментальной модели СД2 при его многократном пероральном введении

Дальнейшее исследование эффективности в качестве перспективного перорального антигипергликемического препарата проводилось для пептида MgfII в дозах 0,005 мг/кг и 0,01 мг/кг при его ежедневном 4-х недельном введении на модели экспериментального СД2. Чтобы

изучить эффективность MgfII, животные, содержащиеся на ВЖД, были разделены на экспериментальные группы: две группы с введением MgfII в 0,005 мг/кг и 0,01 мг/кг, и две группы – с введением препаратов сравнения. В качестве одного препарата сравнения использовалась акарбоза, ингибитор  $\alpha$ -амилаз с механизмом действия, аналогичным MgfII. Вторым препаратом сравнения был выбран метформин, противодиабетический препарат, контролирующий глюконеогенез и чувствительность тканей к инсулину. Таким образом, на фоне моделирования экспериментального СД2, животным с 18 недели ВЖД перорально ежедневно вводились MgfII, метформин или акарбоза в течение 4-х недель.

### Влияние MgfII на развитие ожирения в экспериментальной модели СД2

Введение MgfII не привело к снижению абсолютных значений массы тела у животных по сравнению с группой ВЖД контроль. Однако у животных в период применения MgfII наблюдался отрицательный прирост массы тела. Введение MgfII в дозах 0,01 мг/кг и 0,005 мг/кг снизило прирост массы тела относительно группы СД2, в то время как введение метформина снизило прирост массы тела относительно группы СД2 и контроль (Рисунок 2).

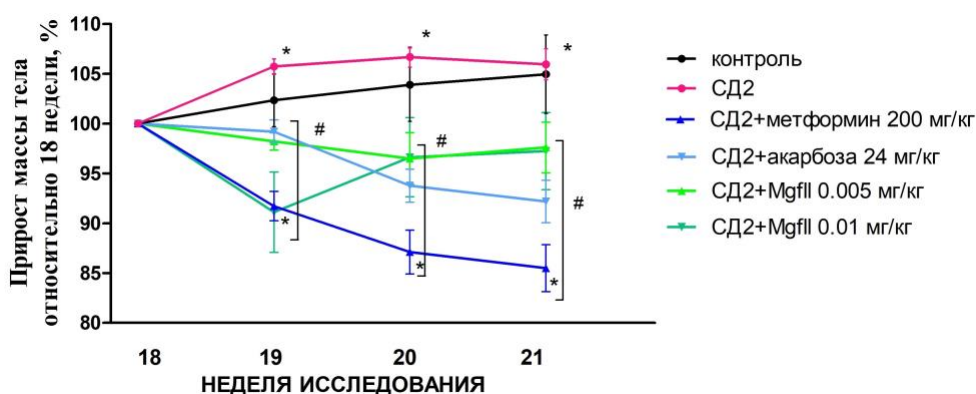


Рисунок 2 – Прирост массы тела относительно 18 недели в период введения тестируемых веществ. Результаты представлены как MEAN  $\pm$  SD. \* $p < 0,05$  относительно контрольной группы согласно t- тесту Mann-Whitney; # $p < 0,05$  относительно группы СД2 согласно тесту Mann-Whitney.

Введение в течение 4 недель MgfII в дозах 0,005 мг/кг и 0,01 мг/кг привело к значительному снижению коэффициента массы жировой ткани относительно группы СД2, в то время как эффект метформина начинал прослеживаться через 2 недели его введения. Линейный размер адипоцитов значительно снижался при пероральном введении MgfII в дозах 0,005 мг/кг и 0,01 мг/кг в течение 4 недель, а введение метформина привело к снижению линейного размера адипоцитов со 2 недели его применения (Рисунок 3, 4).

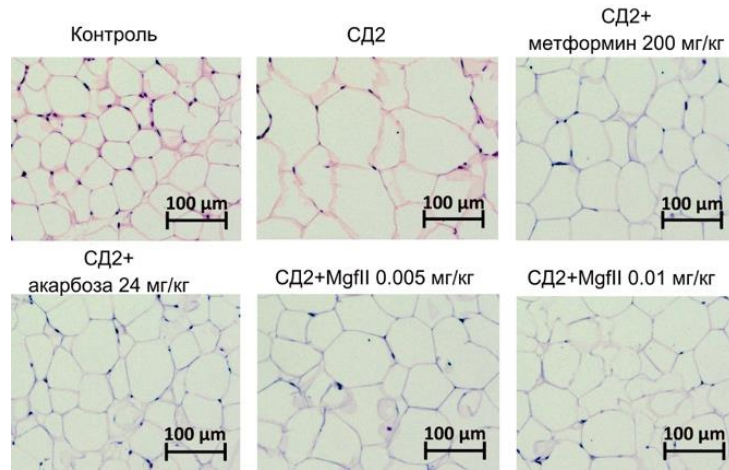


Рисунок 3 – Микрофотографии висцеральной жировой ткани на 21 неделю исследования (4 недели введения), окрашивание гематоксилином и эозином, увеличение 100х.

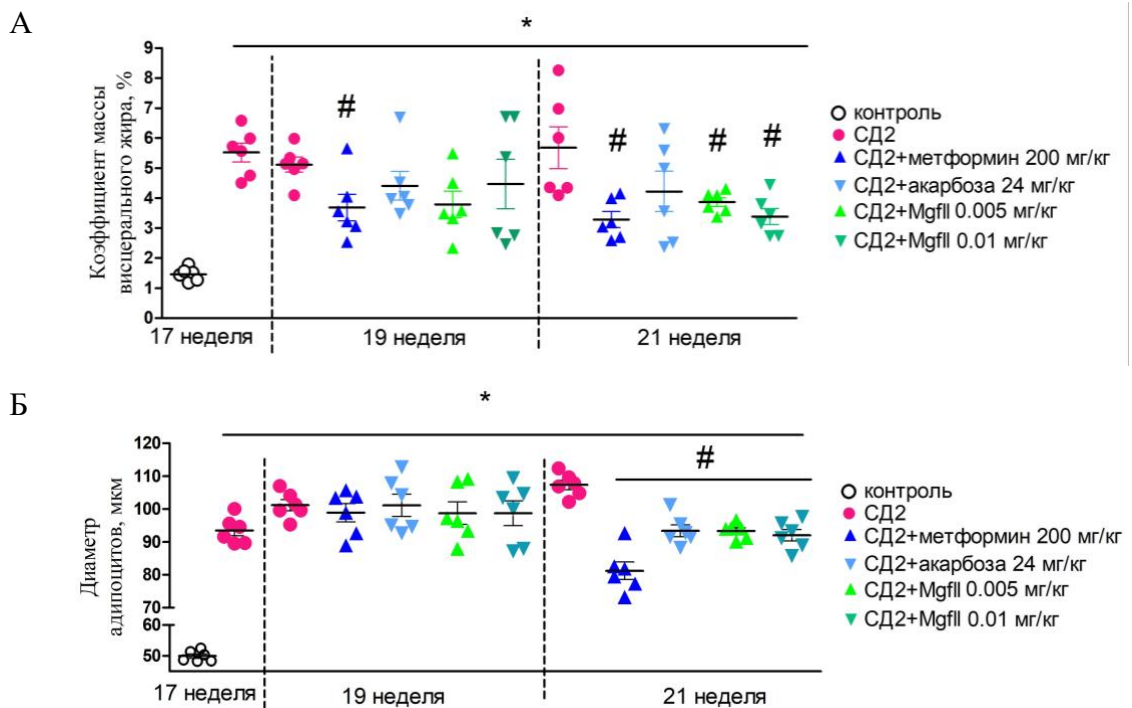


Рисунок 4 – Ожирение у животных в период введения тестируемых веществ. А – коэффициент массы жировой ткани, окружающей придатки семенников, Б – диаметр адипоцитов. Данные представлены как  $MEAN \pm SD$ . \* $p < 0,05$  относительно контрольной группы согласно тесту Mann-Whitney. # $p < 0,05$  относительно группы СД2 согласно тесту Mann-Whitney.

### Антигипергликемическая активность MgflI в экспериментальной модели СД2

Введение в течение 2 недель и MgflI в дозах 0,005 мг/кг и 0,01 мг/кг, метформина и акарбозы значительно снизило уровень глюкозы в крови натошак по сравнению с группой СД2 (Рисунок 5). Антигипергликемический эффект сохранялся через 4 недели введения MgflI в дозах 0,005 мг/кг и 0,01 мг/кг.

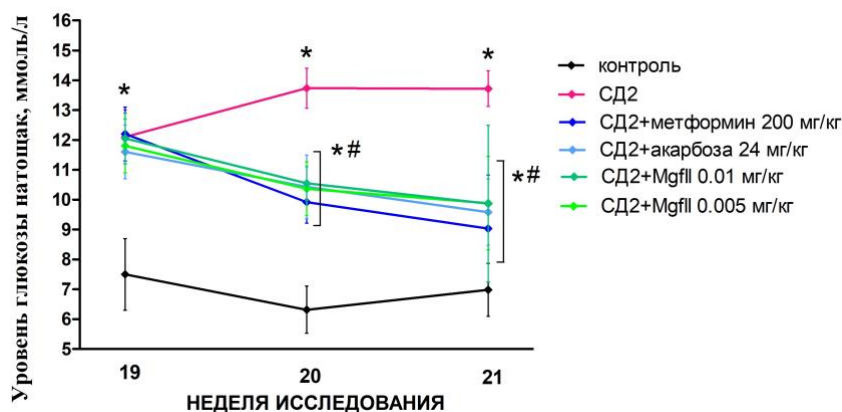


Рисунок 5 – Концентрация глюкозы натошак в период введения тестируемых веществ. Данные представлены как MEAN  $\pm$  SD. \* $p < 0,05$  относительно контрольной группы (тест Mann-Whitney); # $p < 0,05$  относительно группы СД2 согласно тесту Mann-Whitney.

### Влияние Mgfl на инсулинорезистентность в экспериментальной модели СД2

Инсулинорезистентный тест проводился на 19 и 21 неделю эксперимента, когда введение тестируемых веществ происходило в течение 2 и 4 недель. Соблюдение ВЖД в течение 19 и 21 недель привело к менее выраженному снижению концентрации глюкозы после введения инсулина по сравнению с контрольной группой. Площадь под графиком концентрации глюкозы после введения инсулина была значительно выше в группе СД2 (Рисунок 6).

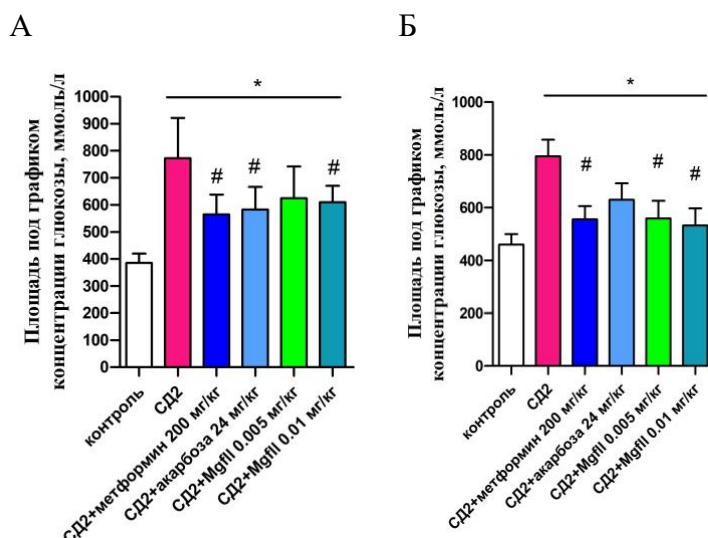


Рисунок 6 – Площадь под графиком концентрации глюкозы на 19 неделю (А) и 21 неделю (Б). Данные представлены как MEAN  $\pm$  SD. \* $p < 0,05$  относительно контрольной группы согласно тесту Mann-Whitney; # $p < 0,05$  относительно группы СД2 согласно тесту Mann-Whitney.

Итак, площадь под графиком у группы СД2 была значительно выше на 19 неделе и 21 неделе исследования по сравнению с контрольной группой, что может свидетельствовать о развитии инсулинорезистентности на 19 и 21 неделю применения ВЖД. Введение в течение 4



недель метформина, акарбозы и MgfII в дозах 0,005 мг/кг и 0,01 мг/кг привело к значительному снижению концентрации глюкозы на фоне ВЖД после введения инсулина. Введение исследуемых веществ в течение 2 недель не привело к снижению концентрации глюкозы на фоне ВЖД после введения инсулина, однако площадь под графиком концентрации глюкозы была значительно ниже у групп с введением метформина, акарбозы и MgfII в дозе 0,01 мг/кг. Таким образом, MgfII снижает инсулинорезистентность при его многократном пероральном введении на фоне ВЖД у мышей с экспериментальным СД2.

### MgfII снижает постпрандиальный уровень глюкозы в экспериментальной модели СД2

Крахмальный тест проводился на 19 и 21 неделю эксперимента, через 2 и 4 недели введения тестируемых веществ. В день крахмального теста метформин, акарбоза и MgfII вводились за 45 минут до начала тестирования. MgfII в дозах 0,005 мг/кг и 0,01 мг/кг проявил антигипергликемический эффект аналогично акарбозе в дозе 24 мг/кг (Рисунок 7).

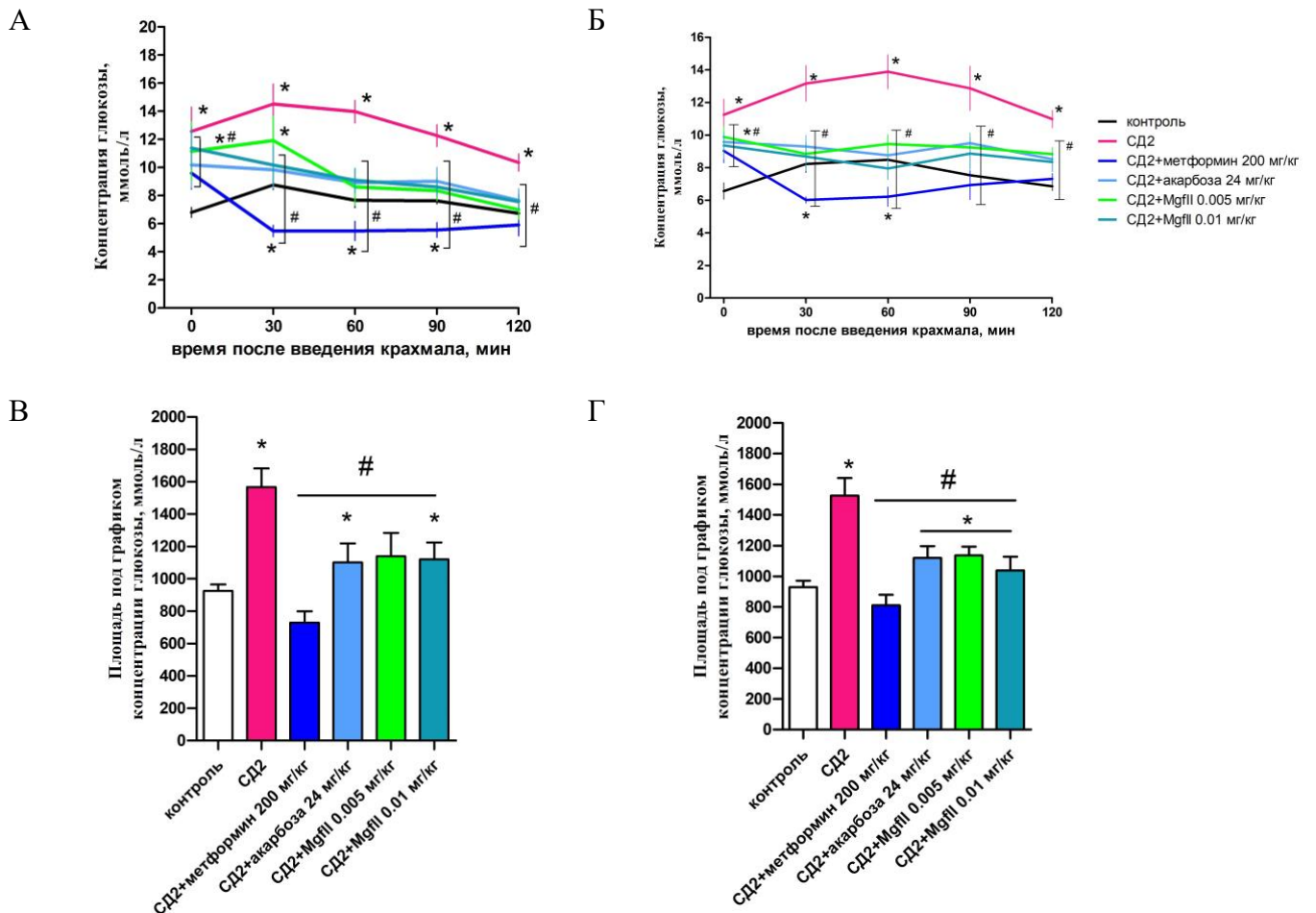


Рисунок 7 – Концентрация глюкозы при проведении крахмального теста на 19 неделю исследования (А) и на 21 неделю исследования (Б). Площадь под графиком концентрации глюкозы при проведении крахмального теста на 19 неделю (В) и 21 неделю (Г). Данные представлены как MEAN  $\pm$  SD. \* $p < 0,05$  относительно контрольной группы согласно тесту Mann-Whitney; # $p < 0,05$  относительно группы СД2 согласно тесту Mann-Whitney.

## Влияние MgflI на развитие диабетической нейропатии в экспериментальной модели СД2

Применение ВЖД в течение 17, 19 и 21 недели привело к повышению чувствительности к холоду у животных. При нанесении ацетона в качестве охлаждающего агента на заднюю конечность, у животных группы СД2 отмечалось значительное увеличение продолжительности реакций относительно контрольной группы. Пероральное введение MgflI в дозе 0,01 мг/кг в течение 4 недель привело к значительному снижению продолжительности реакций при нанесении ацетона на заднюю лапу на фоне моделирования СД2 (Рисунок 8).

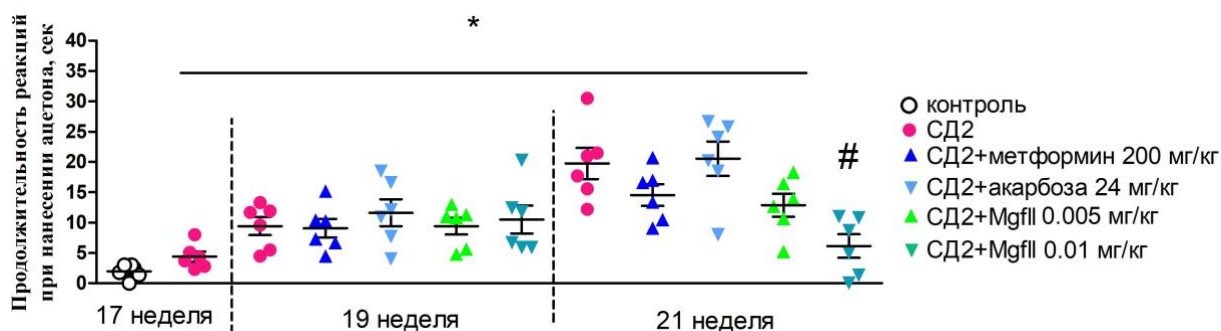


Рисунок 8 – Чувствительность животных к охлаждению в период введения тестируемых веществ: продолжительность реакций при нанесении ацетона на заднюю конечность. Данные представлены как MEAN  $\pm$  SD. \* $p < 0,05$  относительно контрольной группы согласно тесту Mann-Whitney; #  $p < 0,05$  относительно группы СД2 согласно тесту Mann-Whitney.

Чувствительность к нагреванию была повышена у животных с экспериментальным СД2: латентное время подпрыгивания на горячей пластине было значительно снижено в группе СД2 по сравнению с контрольной группой. Введение метформина в течение 4 недель привело к повышению времени нахождения животных на горячей пластине по сравнению с группой СД2. Введение MgflI в дозе 0,005 мг/кг в течение 2 и 4 недель и в дозе 0,01 мг/кг – в течение 2 недель, привело к повышению времени нахождения на горячей пластине животных относительно группы СД2 (Рисунок 9).

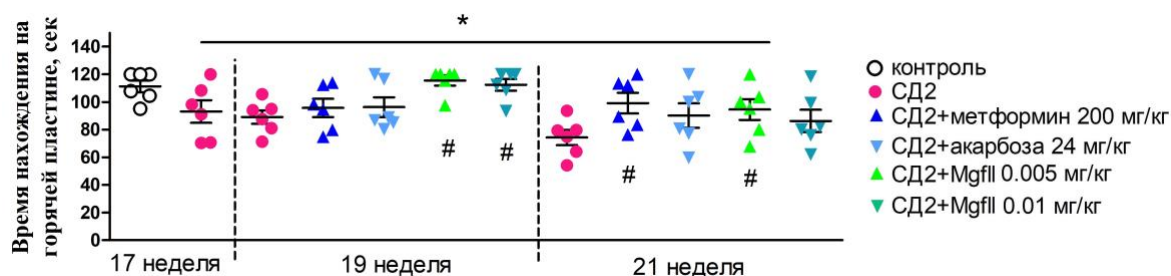


Рисунок 9 – Чувствительность животных к нагреванию в период введения тестируемых веществ: продолжительность нахождения животного на горячей пластине 50°C. Данные представлены как MEAN  $\pm$  SD. \* $p < 0,05$  относительно контрольной группы согласно тесту Mann-Whitney; #  $p < 0,05$  относительно группы СД2 согласно тесту Mann-Whitney.

Применение ВЖД в течение 19 и 21 недели привело к значительному повышению чувствительности задних конечностей животных к механической стимуляции филаментами фон Фрея. При пероральном введении MgfII в дозе 0,01 мг/кг в течение 4 недель не наблюдалось значительных отличий от контрольной группы в силе давления филаментами, в отличие от других тестируемых веществ (Рисунок 10).

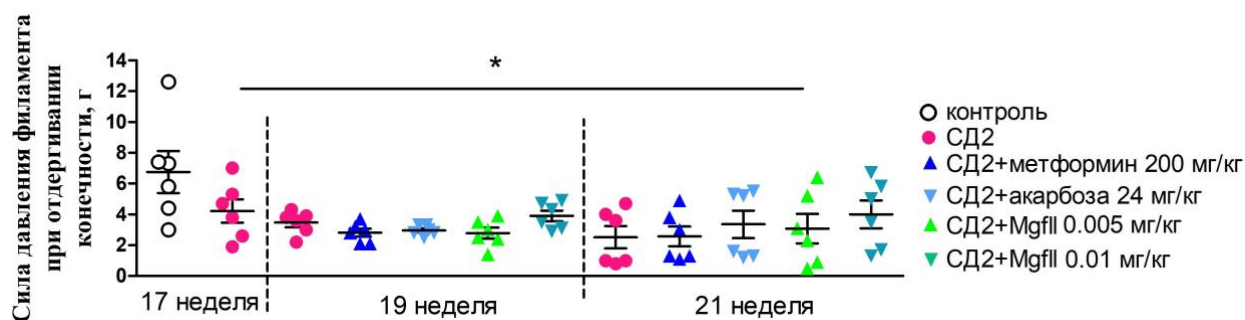


Рисунок 10 – Чувствительность животных к механическим стимулам: значения силы давления филаментами фон-Фрея в момент отдергивания конечности. Данные представлены как MEAN  $\pm$  SD. \* $p < 0,05$  относительно контрольной группы согласно тесту Mann-Whitney.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В диссертации была исследована эффективность пептидных ингибиторов  $\alpha$ -амилаз, Mgf и MgfII, обнаруженных в яде морской анемоны *Heteractis magnifica*, открытые в Тихоокеанском институте биорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН. Ранее было продемонстрировано, что рекомбинантные Mgf и MgfII *in vitro* проявляют на несколько порядков большую ингибиторную активность в отношении панкреатической  $\alpha$ -амилазы, чем акарбоза (Sintsova O.V. et al, 2018, 2023; Leychenko E.V. et al, 2018).

В связи с имеющимся потенциалом устойчивости пептидов в желудочной среде и высокой эффективности *in vitro*, в настоящей работе была исследована ингибиторная эффективность рекомбинантных Mgf и MgfII *in vivo* при их пероральном введении, на экспериментальных моделях гипергликемии и СД2.

Mgf и MgfII значительно замедляют расщепление крахмала, и, следовательно, снижают пиковую концентрацию глюкозы в крови у животных после поступления крахмала в качестве пищи. В пероральном крахмальном тесте на гипергликемических мышах была определена эффективная доза Mgf – 0,005 мг/кг и MgfII – 0,01 мг/кг и 0,005 мг/кг, которые снижали постпрандиальный уровень глюкозы эффективнее, чем акарбоза в дозе 24 мг/кг при однократном пероральном введении.

Выдвигаются следующие предположения по влиянию исследованных пептидов на углеводный обмен и инсулинорезистентность. Задержка переваривания углеводов и

расщепление олигосахаридов с помощью  $\alpha$ -амилаз приводит к тому, что непереваренные углеводы достигают нижних отделов тонкой кишки и стимулируют секрецию GLP-1, который назначается как самостоятельный препарат в терапии СД2 (Zheng M.Y. et al, 2013). Рецепторы свободных жирных кислот экспрессируются в L-клетках кишечника и имеют разную аффинность к свободным жирным кислотам. Вероятно, что MgfII воздействует на рецепторы свободных жирных кислот, которые способны повышать экспрессию глюкагоноподобного пептида-1 (Петунина, Тельнова, 2018). Есть предположение, что пептиды оказывают влияние на эти рецепторы, и таким образом повышают усваиваемость глюкозы инсулин-зависимыми тканями. Также имеются данные, что олигосахариды, не успевшие распасться до глюкозы в тонком кишечнике благодаря  $\alpha$ -гликозидазам, попадают в толстый кишечник, где они уже будут превращаться в свободные жирные кислоты (Crowe et al., 2000). Таким образом, существует несколько гипотез того, как Mgf-II может влиять на инсулинорезистентность и концентрацию глюкозы в крови натощак.

Пероральное применение MgfII в дозах 0,01 мг/кг и 0,005 мг/кг снижало не только постпрандиальный уровень глюкозы в крахмальном тесте, но и уровень глюкозы натощак на фоне моделирования экспериментального СД2.

Одним из очевидных признаков развития гипергликемии является повышение диуреза, повышение уровня глюкозы в моче, и, в связи с этим, полидипсия. Однако в настоящем исследовании у мышей C57BL/6J, находящихся на ВЖД в течение 17, 19 и 21 недели, не было обнаружено изменений в общем анализе мочи и в диурезе, и не было отмечено повышения потребления воды.

Традиционным нарушением при сахарном диабете считается повышение концентрации триглицеридов, секреции ЛПОНП (липопротеинов очень низкой плотности) и нарушение клиренса ЛПОНП и хиломикроннов, повышение уровня ТГ. В настоящем исследовании у животных с экспериментальным СД2 прослеживалось значительное увеличение в сыворотке крови концентрации холестерина, триглицеридов и ЛПВП, а пероральное введение MgfII в дозе 0,01 мг/кг снижало концентрацию триглицеридов через 4 недели введения, в отличие от метформина и акарбозы.

При нарушении липидного обмена происходит избыточное накопление триглицеридов в адипоцитах и отложение липидных включений в гепатоцитах и органах сердечно-сосудистой системы. Был проведен гистологический анализ аорты и сердца, почек и печени. Небольшая положительная динамика в оценке жировой дистрофии эпителиоцитов проксимальных почечных канальцев наблюдалась в группе с применением MgfII в дозе 0,01 мг/кг. В результате моделирования экспериментального СД2 у мышей C57BL/6, наблюдалось увеличение размера адипоцитов, коэффициента массы висцерального жира и проявление инсулинорезистентности.

Пероральное введение MgfII в дозах 0,01 мг/кг и 0,005 мг/кг привело к снижению коэффициента массы висцерального жира и диаметра адипоцитов висцерального жира, аналогично метформину и акарбозе.

Гипертрофия адипоцитов вместе с генетической предрасположенностью играют важную роль в развитии резистентности к инсулину, что играет центральную роль в установлении СД2. Кормление предрасположенных к метаболическим нарушениям мышей линии C57BL/6J высокожировым кормом в течение 19 недель позволило добиться развития инсулинорезистентности, и на 21 неделю ВЖД отмечалась аналогичная тенденция. Применение MgfII в дозах 0,005 мг/кг и 0,01 мг/кг в течение 4 недель на экспериментальной модели СД2 привело к значительному снижению инсулинорезистентности, аналогично метформину в дозе 200 мг/кг.

Неконтролируемая гипергликемия, возникающая при развитии инсулинорезистентности, ведет к формированию множества микрососудистых и макрососудистых осложнений, в том числе развитию диабетической нейропатии. В настоящем исследовании у животных при моделировании экспериментального СД2 была обнаружена повышенная чувствительность к механическим стимулам, нагреванию и охлаждению конечностей. Пероральное введение MgfII в дозе 0,01 мг/кг в течение 4 недель демонстрирует тенденцию к восстановлению нормальной чувствительности к холоду и механическому стимулу у конечностей, в то время как пероральное введение MgfII в дозе 0,005 мг/кг активнее восстанавливало чувствительность к нагреванию.

Таким образом, пероральное введение MgfII в дозе 0,01 мг/кг при комплексной оценке эффективности на фоне моделирования экспериментального СД2 превосходит препараты сравнения метформин в дозе 200 мг/кг и акарбозу в дозе 24 мг/кг. Стоит отметить, насколько низкой является наиболее эффективная доза MgfII – 0,01 мг/кг, что в 200 раз ниже его исследованной безопасной дозы 2 мг/кг (Sintsova O.V. et al, 2023).

## ВЫВОДЫ

1. Продemonстрировано, что пептидные ингибиторы  $\alpha$ -амилаз Mgf и MgfII проявляют антигипергликемические свойства при их однократном пероральном введении мышам ICR. Пероральное введение Mgf в дозе 0,005 мг/кг за 45 минут до приема крахмала приводит к снижению площади под графиком постпрандиальной концентрации глюкозы у гипергликемических мышей ICR на 8,5 %. Пероральное введение MgfII в дозах 0,01 мг/кг и 0,005 мг/кг за 45 минут до приема крахмала приводит к снижению площади под графиком постпрандиальной концентрации глюкозы у гипергликемических мышей ICR на 13,9 % и 12,1 % соответственно.

2. Продемонстрирована эффективность многократного перорального введения MgflI в отношении контролирования обмена глюкозы при моделировании экспериментального СД2 у мышей C57BL/6J. Пероральное введение MgflI в дозе 0,005 мг/кг в течение 2 и 4 недель снижает концентрацию глюкозы в крови натощак на 3,3 ммоль/л и 2,8 ммоль/л соответственно. Пероральное введение MgflI в дозе 0,01 мг/кг в течение 2 и 4 недель снижает концентрацию глюкозы в крови натощак на 3,1 ммоль/л и 3,9 ммоль/л соответственно. Пероральное введение MgflI в дозе 0,01 мг/кг в течение 2 и 4 недель снижает постпрандиальный уровень глюкозы в крахмальном тесте на 27,2 % и 32 % соответственно, а также снижает инсулинорезистентность на 2 неделю и 4 неделю введения на 21,7 % и 29,7 % соответственно при подсчете площади под графиком концентрации глюкозы у мышей с экспериментальным СД2.
3. Продемонстрировано, что пероральное введение MgflI в течение 4 недель у животных с экспериментальным СД2 снижает развитие ожирения. Пероральное ведение в течение 4 недель MgflI в дозах 0,005 мг/кг и 0,01 мг/кг привело к значительному снижению прироста массы тела на 2,8 % и 2,4 % соответственно, к снижению коэффициента массы жировой ткани на 31,9 % и 32,4 % соответственно, а также к снижению диаметра адипоцитов на 13 % и 14,2 % соответственно у мышей C57BL/6J на фоне моделирования экспериментального СД2.
4. Установлено, что пероральное введение MgflI в дозе 0,01 мг/кг и 0,01 мг/кг в течение 4 недель предотвращает повышение чувствительности к охлаждению на 67 %. Пероральное введение MgflI в дозе 0,005 мг/кг в течение 2 и 4 недель предотвращает повышение чувствительности к нагреванию на 22,9 % и 21,4 % соответственно, а MgflI в дозе 0,01 мг/кг – при его пероральном введении в течение 2 недель на 20,7 % у мышей C57BL/6J на фоне моделирования экспериментального СД2 в течение 21 недели.

#### СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **Borozdina, N.A.** Control of postprandial hyperglycemia by oral administration of the sea anemone mucus-derived  $\alpha$ -amylase inhibitor (magnificamide) / Sintsova O, Popkova D, Kalinovskii A, Rasin A, Borozdina N, Shaykhutdinova E, Klimovich A, Menshov A, Kim N, Anastyuk S, Kusaykin M, Dyachenko I, Gladkikh I, Leychenko E. // **Biomedicine & Pharmacotherapy**. – 2023. – Vol. 168. – 115743. [Web of Science].
2. **Бороздина Н.А.** Формирование факторов риска в модели сахарного диабета 2-го типа, индуцированного высокожировой диетой у мышей C57BL/6 / Н.А. Бороздина, Э.Р. Шайхутдинова, Г.А. Слащева, Н.А. Горячева, А.В. Замятина, Е.С. Садовникова, И.А.

- Пахомова, В.М. Павлов, Н.А. Перепеченова, М.С. Северюхина, А.Ю. Федотова, Д.В. Попкова, И.Н. Гладких, Е.В. Лейченко, И.А. Дьяченко // **Бюллетень экспериментальной биологии и медицины**. – 2023. – Т. 176, №10. – С. 460-464. [Web of Science].
3. **Бороздина Н.А.** Promising Directions for Regulating Signaling Pathways Involved in the Type 2 Diabetes Mellitus Development (A Review) / N.A. Borozdina, I.A. Dyachenko, D.V. Popkova // **Russian Journal of Bioorganic Chemistry**. – 2024. – Vol. 50, №4. – P. 1263–1284. [Scopus].
  4. **Borozdina N.A.** Long-term administration of the  $\alpha$ -amylase inhibitor acarbose effective against type 2 diabetes symptoms in C57BL/6 mice / N.A. Borozdina, E.N. Kazakova, I.N. Gladkikh, E.V. Leychenko, I.A. Dyachenko // **Research Results in Pharmacology**. – 2024. – Vol. 10, №2. – P. 65–72. [Scopus].
  5. Бороздина Н.А. Моделирование сахарного диабета 2 типа на мышях линии C57BL/6 и оценка эффективности метформина и акарбозы // Сборник тезисов «Биоресурсные коллекции животных биомоделей и генетические технологии – новые горизонты лечения социальнозначимых патологий человеческого организма сквозь призму трансляционной медицины». – Москва, 2022. – с.17.
  6. Бороздина Н.А. Разработка экспериментальной модели метаболического синдрома с клиническими признаками сахарного диабета 2 типа // Сборник 26-ой Международной Пущинской школы-конференции молодых ученых «БИОЛОГИЯ – наука XXI века». – Пущино, 2023. – с. 209.
  7. Бороздина Н. А. Эффективность магнIFIкамида на модели сахарного диабета 1 типа у мышей ICR // Сборник тезисов Международной научной конференции «Ломоносов-2023», Секция «Физиология человека и животных» - Москва, 2023.
  8. Бороздина Н.А., Попкова Д.В., Дьяченко И.А. Пептидный ингибитор  $\alpha$ -амилаз из *Heteractis magnifica* снижает постпрандиальный уровень глюкозы у гипергликемических мышей при пероральном введении// Сборник 27-ой Международной Пущинской школы-конференции молодых ученых «БИОЛОГИЯ – наука XXI века». – Пущино, 2024. – с. 259.
  9. Бороздина Н.А. Ингибитор  $\alpha$ -амилаз акарбоза эффективно предотвращает нарушение углеводного обмена у мышей C57BL/6 при моделировании сахарного диабета 2 типа // Сборник 27-ой Международной Пущинской школы-конференции молодых ученых «БИОЛОГИЯ – наука XXI века». – Пущино, 2024. – с. 258.

10. Бороздина Н.А., Гладких И.Н. Формирование диабетической нейропатии у мышей C57BL/6 на фоне высокожировой диеты // Материалы XX научно-практической межрегиональной конференции «БИОМЕДИЦИНА И БИОМОДЕЛИРОВАНИЕ» 22-23 мая 2024 г. Московская область – Санкт-Петербург-Ростов-на-Дону.
11. Меньшов А.С., Синцова О.В., Бороздина Н.А., Дьяченко И.А., Гладких И.Н., Лейченко Е.В. Ингибиторы альфа-амилаз из морской анемоны *Heteractis magnifica* как эффективные пероральные антидиабетические препараты // Материалы Всероссийской научной конференции «БИОХИМИЯ ЧЕЛОВЕКА». – Москва. – 2024.
12. Полипептид из морской анемоны *Heteractis magnifica*, ингибирующий  $\alpha$ -амилазы млекопитающих, и его применение в качестве ингибитора  $\alpha$ -амилаз млекопитающих, а также средства для лечения и/или профилактики постпрандиальной гипергликемии, коррекции лишнего веса и ожирения // Патент RU 2 796 823. 2023. Бюл. № 16. // Синцова О. В. (RU), Калина Р. С. (RU), Гладких И. Н. (RU), Попкова Д. В. (RU), Бороздина Н. А. (RU), Дьяченко И. А. (RU), Лейченко Е. В. (RU). Патентообладатель: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова Дальневосточного отделения Российской академии наук (ТИБОХ ДВО РАН) (RU).

### СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АЛТ – аланинаминотрансфераза

АСТ – аспаргатаминотрансфераза

ВЖД – высокожировая диета

ЛПВП – липопротеины высокой плотности

ЛПНП – липопротеины низкой плотности

ЛПОНП – липопротеины очень низкой плотности

НЭЖК – неэтерифицированные жирные кислоты

СД2 – сахарный диабет 2 типа

СТД – стандартная диета

ТГ – триглицериды

ЩФ – щелочная фосфатаза



Автор выражает глубокую благодарность за разработку и предоставление для исследования магнификамида и магнификамида-II сотрудникам Тихоокеанского института биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН. За помощь в проведении экспериментов и участие в их обсуждении автор благодарит сотрудников Лаборатории биологических испытаний Филиала Государственного научного центра Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН.