

Н. И. Чепляева, А. А. Спасов, В. А. Косолапов, В. А. Анисимова

Кафедра фармакологии ВолГМУ

## АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОТИВОДИАБЕТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА ДИАБЕНОЛ

УДК 615.272.4:616.379-008.64-085.31

Диабенол дозозависимо ингибировал образование супероксид-аниона, гидроксильного и пероксильного радикалов в модельных системах *in vitro*. Препарат не оказывал значимого влияния на процесс генерации липидных гидроперекисей. Необходимо проведение дополнительных исследований антиоксидантных свойств препарата «Диабенол» в экспериментах *in vivo*.

*Ключевые слова:* антиоксидантная активность, диабенол, хемилюминесценция.

N. I. Cheplyeva, A. A. Spasov, V. A. Kosolapov, V. A. Anisimova

## ANTIOXIDANT ACTIVITY OF ANTIDIABETIC AGENT DIABENOL

Dose-dependent inhibition of reactive oxygen species (superoxide anion, hydroxyl and peroxy radicals) generation was revealed after diabenol administration in an *in vitro* model. Diabenol did not influence the oxidation of lipoproteins. It is necessary to investigate antioxidant properties of diabenol *in vivo*.

*Key words:* antioxidant activity, diabenol, chemiluminescence.

К основным факторам, способствующим возникновению и прогрессированию микроангиопатий при сахарном диабете относятся: гипергликемия, усиление свободнорадикальных процессов, дислипидемия, нарушение коагуляционного гемостаза и реологических свойств крови, дисфункция эндотелия сосудов [1, 7, 9].

Гипергликемия способствует постоянной усиленной генерации свободных радикалов, снижению активности ферментативной антиоксидантной системы, что приводит к повреждению липидных и белковых компонентов клеток, способствует образованию и накоплению продуктов перекисного окисления липидов. Применение препаратов, обладающих антиоксидантной активностью, могло бы значительно ограничить свободнорадикальные процессы и снизить риск формирования и прогрессирования диабетических ангиопатий [7, 9].

Диабенол — новый гипогликемический препарат, усиливающий секрецию инсулина и обладающий гемореологической активностью [5]. Существуют предпосылки того, что одним из механизмов его терапевтических эффектов является наличие у препарата антиоксидантной активности.

### ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучение антиоксидантной активности препарата «Диабенол» в модельных системах *in vitro*.

### МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Антиоксидантные свойства диабенола изучались на модели аскорбат-зависимого перекисного

окисления липидов (ПОЛ) по методу Ланкина В. З. и соавт. [3]. Для исследования механизмов антиоксидантного действия *in vitro* использовали модели  $Fe^{2+}$  — индуцированной хемилюминесценции (ХЛ) липидов, ХЛ, сопровождающейся аутоокислением люминола с генерацией активных форм кислорода (АФК) и ХЛ с окислением люминола пероксильными радикалами, генерирующимися 2,2-азобис(2-метилпропионамидин) дигидрохлоридом (АБАП). Кинетику ХЛ измеряли на хемилюминометре «Хемилюминомер-03» (Уфа, Россия) [4, 5]. Антирадикальную активность определяли по методу Glavind J., эффект оценивали по проценту ингибирования, рассчитанному как отношение изменения оптической плотности при добавлении веществ в исследуемой концентрации к изменению оптической плотности при добавлении пирогаллола [8].

На данных моделях исследовали диабенол (НИИ Физической и органической химии Южного федерального университета) в диапазоне концентраций от  $10^{-4}$  до  $10^{-6}$  М/л.

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета программ «Statistica 6.0». Для расчета величины  $ИК_{50}$  использовали метод регрессионного анализа, реализованный в программе Microsoft Excel 2000.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Модель аскорбат-зависимого ПОЛ, которая наиболее часто используется для первичного скрининга веществ с антиоксидантным действием, не выявила высокой активности у препарата «Диабе-

нол». Процент ингибирования в концентрации  $10^{-4}$  М/л составил 7 %. Однако данная модельная система позволяет оценить влияние препаратов на процессы ПОЛ косвенно, только по конечному продукту окислительной деградации липидов — малоновому диальдегиду. Для более детального исследования использовали модели ХЛ с генерацией различных свободных радикалов.

Эксперименты по изучению влияния диабенола на кинетику  $Fe^{2+}$ -индуцированной ХЛ липидов подтвердили, что препарат не оказывает значимого влияния на процесс генерации липопероксильных радикалов. При исследовании на модели  $Fe^{2+}$ -индуцированной ХЛ липидов процент ингибирования в концентрации  $10^{-4}$  М/л был равен 18 % ( $p > 0,05$ ).

Диабенол в модельной системе ХЛ с аутоокислением люминола дозозависимо ингибировал образование супероксид-аниона и гидроксильного радикала под действием индуктора ( $Fe^{2+}$ ) в диапазоне концентраций от  $10^{-4}$  до  $10^{-6}$  М/л, что отчетливо видно на записи кривых кинетики данной реакции (рис. 1).

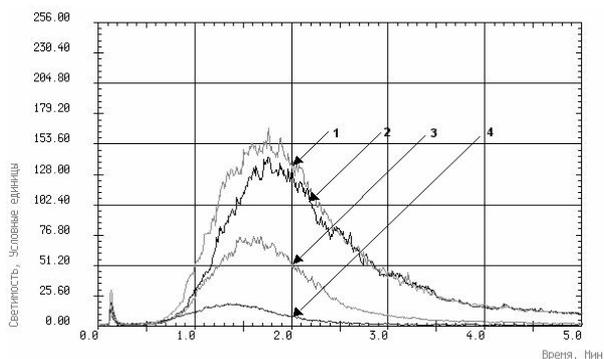


Рис. 1. Влияние диабенола на кинетику ХЛ, сопровождающуюся генерацией активных форм кислорода:  
1 — контрольная кривая ХЛ; 2, 3, 4 — кривая ХЛ после внесения диабенола в концентрации  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$  М/л соответственно

Процент ингибирования в концентрации  $10^{-4}$  М/л составил 76 % ( $p < 0,05$ ), при уменьшении концентрации до  $10^{-5}$  М/л показатель снизился почти в 2,5 раза (рис. 1). Менее выраженную активность препарат проявил на модели ХЛ, сопровождающейся окислением люминола пероксильными радикалами, зависимость доза—эффект наблюдалась в диапазоне концентраций от  $10^{-4}$  до  $10^{-5}$  М/л. Процент ингибирования ХЛ в концентрации  $10^{-4}$  М/л был равен 87 % ( $p < 0,05$ ), в  $2,5 \cdot 10^{-5}$  М/л — 28 % (рис. 2).

На модели ХЛ с генерацией АФК  $ИК_{50}$  для диабенола составила  $2,05 \cdot 10^{-5}$  М/л, а на модели ХЛ, сопровождающейся окислением люминола пероксильными радикалами, эффект был ниже ( $ИК_{50} = 3,8 \cdot 10^{-5}$  М/л). Возможно, антиоксидантная активность диабенола связана с наличием избыточной электронной плотности в бензимидазоль-

ном кольце [2]. При оценке общей антирадикальной активности выявлено, что диабенол в концентрации  $10^{-4}$  М/л практически не снижал оптическую плотность спиртового раствора радикала ДФПГ.

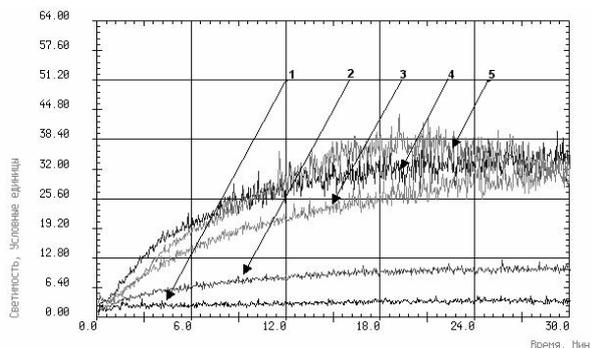


Рис. 2. Влияние диабенола на кинетику ХЛ с генерацией пероксильного радикала:  
1 — контрольная кривая ХЛ; 2, 3, 4, 5 — кривая ХЛ после внесения диабенола в концентрации  $10^{-4}$ ,  $0,5 \cdot 10^{-4}$ ,  $0,25 \cdot 10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  М/л соответственно

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, выявлено, что диабенол является сквенджером супероксид-аниона, гидроксильного и пероксильного радикалов и практически не влияет на процессы ПОЛ, однако концентрации, в которых данный препарат оказывал эффекты, достаточно высоки и не являются терапевтическими. Вместе с тем вероятно наличие антиоксидантной активности на организменном уровне, что требует дальнейшего исследования. Можно предположить, что антиоксидантное действие препарата «Диабенол» в данном случае связано с восстановлением нарушенной функции ферментативной антиоксидантной системы или образованием активных метаболитов.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Балаболкин М. И. Диабетология. — М., 2000. — 672 с.
2. Дудченко Г. П. Противодиабетическая активность производных бензимидазола: автореф. дис. д-ра биол. наук. — Волгоград, 2001. — 42 с.
3. Клебанов Г. И., Любичкий О. Б., Васильева О. В. и др. // Вopr. мед. химии. — 2001. — Т. 47. — С. 288—300.
4. Ланкин В. З., Гуревич С. М., Бурлакова Е. Б. // Труды московского общества испытателей природы. — М., 1975. — Т. 52. — С. 73—78.
5. Спасов А. А., Петров В. И., Анисимова В. А. и др. // Материалы IV Всероссийского диабетологического конгресса. — М., 2008. — С. 336.
6. Фархутдинов Р. Р., Лиховских В. А. Хемилюминесцентные методы исследования свободно-радикального окисления в биологии и медицине. — Уфа, 1995. — 110 с.
7. Bonnefont-Rousselot D., Bastard J. P., Jaudon M. C., et al. // Diabetes & Metabolism — 2000. — Vol. 26, № 3. — P. 163—176.
8. Glavind J. // Acta Chem. Scand. — 1963. — Vol. 17, № 13. — P. 1635—1640.
9. Johansen J. S., Harris A. K., Rychly D. J., et al. // Cardiovascular Diabetology — 2005, <http://www.cardiab.com/content/4/1/5>.