

ФАРМАКОЛОГИЯ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА АНТИОКСИДАНТНЫХ СВОЙСТВ ГИПОГЛИКЕМИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ ДИАБЕНОЛА И ГЛИКЛАЗИДА

А. А. Спасов, В. А. Косолапов, Н. И. Чепляева¹

Исследована антиоксидантная активность гликлазида, диабенола и препарата сравнения мексидола на моделях хемилюминесценции (ХЛ) липидов, ХЛ с генерацией АФК, ХЛ окисления люминола пероксильными радикалами и по методу J. Glavind со свободным радикаломДФПГ. Показано, что гликлазид проявил дозозависимую антирадикальную активность только в отношении стабильного радикалаДФПГ. Его ингибирующий эффект в 15 раз превышал данный показатель для мексидола. Диабенол является скавенджером супероксид-аниона, гидроксильного и пероксильного радикалов. Способность связывать АФК в модельной системе у диабенола была в 8 раз выше, чем у мексидола, а антиоксидантное действие по отношению к пероксильным радикалам в 3 раза ниже, чем у препарата сравнения.

Ключевые слова: антиоксидантная активность, диабенол, гликлазид, мексидол, хемилюминесценция

ВВЕДЕНИЕ

Важным компонентом комплексного лечения сахарного диабета является применение препаратов с антиоксидантным действием, так как окислительный стресс — один из основных факторов, участвующих в формировании диабетических ангиопатий. Антиоксидантные эффекты гипогликемических препаратов могут быть обусловлены коррекцией гипергликемии и, как следствие, снижением окислительного стресса, инаktivацией свободных радикалов молекулами препаратов, активацией ферментативной антиоксидантной системы [2, 9].

Так, установлено, что гликлазид не только понижает уровень глюкозы в крови, но и снижает реактивность тромбоцитов, улучшает реологические свойства крови, стимулирует синтез простаглицина в эндотелиальных клетках, усиливает фибринолиз, активизирует плазминоген [2, 14]. Данные эффекты препарата связывают с его способностью снижать выраженность свободнорадикальных процессов за счет связывания супероксид-аниона, гидроксильного радикала и окиси азота [12, 13]. При этом новый гипогликемический препарат диабенол [7] несколько превосходит по антиагрегантной и гемореологической активности гликлазид [3], что, возможно, также связано со снижением интенсивности окислительного стресса. Целью настоящей работы было сравнительное изучение антиок-

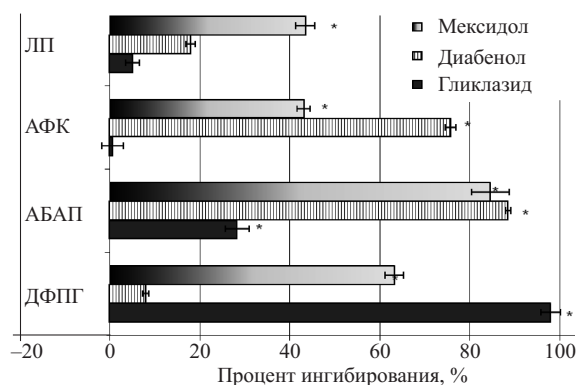
сидантной активности гликлазида и диабенола в экспериментах *in vitro*.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Антиоксидантную активность *in vitro* исследовали на следующих моделях: Fe²⁺-индуцированной хемилюминесценции (ХЛ) липидов, ХЛ, сопровождающей аутоокисление люминола с генерацией активных форм кислорода (АФК) и ХЛ окисления люминола пероксильными радикалами, генерирующимися 2,2'-азобис (2-метилпропионамидин) дигидрохлоридом (АБАП), а также по методу J. Glavind со свободным радикалом 1,1-дифенил-2-пикрилгидразила (ДФПГ) [4, 5, 8, 11] (рисунок). Влияние на ХЛ оценивали по проценту ингибирования, рассчитанному как отношение изменения светосуммы при добавлении веществ в исследуемой концентрации к изменению светосуммы контрольной пробы. Процент ингибирования на модели сДФПГ определяли как отношение оптической плотности, измеренной после внесения вещества, к оптической плотности пробы с пирогаллолом.

На данных моделях исследовали гликлазид (N-{{(гексагидроциклопента[с]пиррол-2 (1H)-ил)амино}карбонил}-4-метилбензолсульфонамид (“Сервье”, Франция)) [14], диабенол (9-β-диэтиламиноэтил 2,3-дигидроимидазо (1,2α) бензимидазол, НИИ физической и органической химии Южного Федерального Университета, Ростов-на-Дону) [5] и препарат сравнения мексидол (2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцинат, “Фармсофт”, Россия) в диапазоне концентраций от 10⁻⁴ М/л до 10⁻⁷ М/л.

¹ Кафедра фармакологии (зав. — член.-корр. РАМН А. А. Спасов) Волгоградского государственного медицинского университета, 400131, Волгоград, пл. Павших борцов, 1.



Антиоксидантная активность диабенола и гликлазида на различных моделях хемилюминесценции (ХЛ) и методом Glavind J. [11].

ЛП — Fe^{2+} -индуцированной ХЛ липидов, АФК — ХЛ, сопровождающей аутоокисление люминола с генерацией активных форм кислорода, АБАП — ХЛ окисления люминола пероксильными радикалами, генерирующимися 2,2'-азобис (2-метилпропионамидин) дигидрохлоридом, ДФПГ — метод Glavind J., * — $p < 0,05$.

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета программ Statistica 6.0. Для расчета величины $ИК_{50}$ (концентрация вещества, ингибирующая реакцию на 50 %) использовали метод регрессионного анализа, реализованный в программе Microsoft Excel 2000.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Модельная система Fe^{2+} -индуцированной ХЛ липидов позволяет оценить влияние изучаемых препаратов на процесс генерации липидных перекисей. При исследовании кинетики ХЛ липидов процент ингибирования в концентрации 10^{-4} М/л для мексидола составил 43 %, а для диабенола и гликлазида изменялся незначительно. На данной модели не выявлено эффекта гликлазида на процессы ПОЛ, однако показано [11], что после внесения 1 мкМ гликлазида повышается резистентность ЛППП к окислению *in vitro* и снижается содержание маркера ПОЛ 8-изопростана у пациентов с сахарным диабетом 2 типа.

Fe^{2+} -индуцированная ХЛ с аутоокислением люминола воспроизводит в условиях *in vitro* генерацию АФК (супероксид-аниона и гидроксильного радикала) и радикала люминола под влиянием окислителя Fe^{2+} . На данной модели для диабенола выявлен дозозависимый антиоксидантный эффект в диапазоне концентраций от 10^{-4} М/л до 10^{-6} М/л, $ИК_{50}$ составила $2,1 \cdot 10^{-5}$ М/л ($R^2 = 0,95$). Ингибирующее действие препарата сравнения мексидола было в 8 раз ниже ($ИК_{50} = 17,05 \cdot 10^{-5}$ М/л, $R^2 = 0,94$). Гликлазид не оказывал влияния на кинетику ХЛ с генерацией АФК во всем диапазоне концентраций.

Зависимость доза — эффект выявлена для диабенола в модельной системе ХЛ с окислением люминола пероксильными радикалами, генерирующимися АБАП, однако показатель $ИК_{50}$ был несколько ниже и

составил $3,8 \cdot 10^{-5}$ М/л ($R^2 = 0,97$). Мексидол был наиболее активен на данной модельной системе продукции свободных радикалов, $ИК_{50}$ составила $1,2 \cdot 10^{-5}$ М/л ($R^2 = 0,94$). Гликлазид лишь на 28 % ($p > 0,05$) ингибировал ХЛ в концентрации 10^{-4} М/л. Литературные данные [4] подтверждают, что мексидол эффективно ингибирует процессы инициации перекисного окисления липидов биомембран, реагируя с перекисными радикалами. Кроме того, антиоксидантная активность может быть обусловлена взаимодействием с ионами двухвалентного железа и снижением эффективной концентрации инициатора свободнорадикальных реакций [4].

Согласно [13] гликлазид дозозависимо связывал супероксид-анион, продуцирующийся в системе ксантин-ксантинооксидаза и гидроксильный радикал, генерирующийся в реакции Фентона. Отсутствие активности в наших исследованиях, возможно, связано с тем, что препарат высоко липофилен, а данные модельные системы позволяют исследовать эффекты веществ в водной фазе.

Метод [11] дает возможность оценить общую антирадикальную активность препаратов, то есть способность отдавать электрон или протон, стабилизировать радикал ДФПГ и в итоге обесцвечивать спиртовой раствор. Достаточно высокая активность на данной модели наблюдалась у гликлазида, процент ингибирования в концентрации 10^{-4} М/л был равен 98 % ($ИК_{50} = 7,3 \cdot 10^{-7}$ М/л, $R^2 = 0,94$), что в 1,5 раза больше, чем у мексидола, тогда как для диабенола данный показатель составил лишь 8 %. Антиоксидантное действие, возможно, связано с тем, что препарат высоко липофилен и защищает от повреждающего действия свободных радикалов только фосфолипиды мембран клеток и препятствует процессам ПОЛ. Свойства скавенджера супероксид-аниона, гидроксильного радикала и NO-радикала обусловлены наличием аминоксантинооксидазного цикла в молекуле гликлазида [14]. В отличие от гликлазида диабенол реализует эффекты в водной среде, то есть обезвреживает свободные радикалы во внеклеточной жидкости и в цитозоле. Антиоксидантная активность данного препарата в отношении супероксид-аниона, гидроксильного и пероксильного радикалов, возможно, связана с наличием избыточной электронной плотности в бензимидазольном кольце [1].

ВЫВОДЫ

1. Гликлазид проявляет выраженное антирадикальное действие и по активности превосходит мексидол в 15 раз.
2. Диабенол обладает дозозависимой антиоксидантной активностью: в модельной системе с генерацией АФК превосходит мексидол в 8 раз, а на моделях ХЛ с пероксильного радикала уступает препарату сравнения.

ЛИТЕРАТУРА

1. В. А. Анисимова, А. М. Смирнова, А. Ф. Пожарский, *Хим. гетероцикл. соед.*, № 6, 797 – 802 (1973).
2. М. И. Балаболкин, *Диабетология*, Медицина, Москва (2000).
3. Г. П. Дудченко, А. А. Спасов, Е. С. Гаврилова, *Вестн. ВМА*, № 3, 47 – 51 (1997).
4. Г. И. Клебанов, О. Б. Любицкий, О. В. Васильева и др., *Вопр. мед. химии*, **47**, 288 – 300 (2001).
5. Г. В. Ковалев, А. А. Спасов, В. А. Анисимова, Г. П. Вдовина, С. Г. Ковалева, М. И. Балаболкин, Г. П. Дудченко, М. В. Левченко, *Патент РФ № 2061481 Зарегистрирован в государственном реестре изобретений*, (1996).
6. В. З. Ланкин, С. М. Гуревич, Е. Б. Бурлакова, *Труды московского общества испытателей природы*, Москва (1975), сс. 73 – 78.
7. А. А. Спасов, В. И. Петров, В. А. Анисимова и др., *Материалы IV Всероссийского диабетологического конгресса*, Москва (2008), с. 336.
8. Р. Р. Фархутдинов, В. А. Лиховских, *Хемилюминесцентные методы исследования свободнорадикального окисления в биологии и медицине*, Уфа (1995).
9. D. Bonnefont-Rousselot, J. P. Bastard, M. C. Jaudon, et al., *Diabetes & Metabolism*, **26**(3), 163 – 176 (2000).
10. R. C. O'Brain, M. Luo, N. Balazs, et al., *J. Diabetes Complications*, **14**(4), 201 – 206 (2000).
11. J. Glavind, *Acta Chem. Scand.*, **17**(13), 1635 – 1640 (1963).
12. P. E. Jennings, N. A. Scott, A. R. Saniabadi, et al., *Metabolism*, **41**(5), 36 – 39 (1992).
13. Y. Noda, A. Mori, E. Cossins, et al., *Metabolism*, **49**(2), 14 – 16 (2000).
14. A. Sikora, J. Btasiak, J. Drzewosk, *Diabetologia Doswiadczalna i Kliniczna rok*, **6**(1), 1 – 5 (2006).

Поступила 06.04.11

COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF ANTIOXIDANT PROPERTIES OF HYPOGLYCEMIC AGENTS DIABENOL AND GLICLAZIDE

A. A. Spasov, V. A. Kosolapov, and N. I. Cheplyaeva

Department of Pharmacology, Volgograd State Medical University, pl. Pavshikh Bortsov 1, Volgograd, 400131, Russia

The antioxidant properties of diabenol and gliclazide with reference to mexidol have been studied *in vitro* on several model systems, including chemiluminescence (CL) of lipids, CL with generation of reactive oxygen species (ROS), CL dependent on luminol oxidation by peroxy radicals, and the Glavind DPPH free-radical method. Diabenol exhibited the properties of a scavenger of superoxide anions and hydroxy and peroxy radicals in model CL systems with ROS generation. The activity of diabenol in inactivating ROS was about 8 times higher compared to mexidol. However, the antioxidant activity of diabenol in CL with peroxy radical generation was 3 times lower compared to mexidol. Gliclazide demonstrated dose-dependent antioxidant activity only on the model with stable DPPH radical, where its inhibitory effect was 15 times greater than that of the reference drug.

Key words: Antioxidant activity, diabenol, gliclazide, mexidol, chemiluminescence