

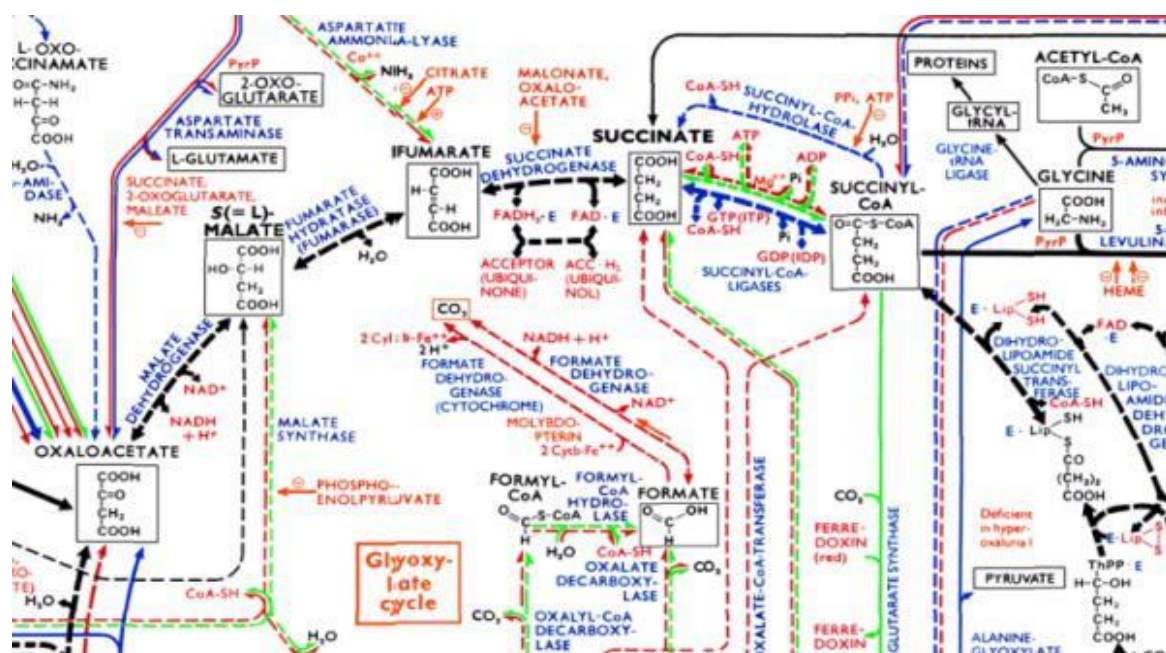
МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН  
ТАШКЕНТСКИЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ



Г.Ю.МАЛИКОВА

О ГИПОГЛИКЕМИЧЕСКИХ СРЕДСТВАХ РАСТИТЕЛЬНОГО  
ПРОИСХОЖДЕНИЯ И ФАРМАКОБИОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ  
ИХ ДЕЙСТВИЯ

МОНОГРАФИЯ



ТАШКЕНТ - 2021

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН  
ТАШКЕНТСКИЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ**



**Г.Ю.МАЛИКОВА**

**О ГИПОГЛИКЕМИЧЕСКИХ СРЕДСТВАХ РАСТИТЕЛЬНОГО  
ПРОИСХОЖДЕНИЯ И ФАРМАКОБИОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ИХ  
ДЕЙСТВИЯ**

**МОНОГРАФИЯ**

**ТАШКЕНТ - 2021**

УДК: 612.352.1:615.015: 577.17

**Г.Ю.Маликова. «О гипогликемических средствах растительного происхождения и фармакобиохимические аспекты их действия»:**

Монография. – Т.: , 2021. – 87с.

В монографии дано общее сведены о сахароснижающем действии некоторых лекарственных растений и биологический эффект гипогликемических препаратов синтетического происхождения. Подробно представлены результаты изучения влияния нового отечественного перорального оахароснижающего препарата "матхин" на некоторые стороны метаболизма углеводов и липидов в тканях и уровень инсулина, участвующего в регуляции этих процессов. Препарат, условно названный "матхин", обладает выраженной гипогликемической активностью и практически не имеет токсичности. Выделен из секрета тутового шелкопряда совместными усилиями ряда кафедр Ташкентского Фармацевтического института. Решением Фармакологического Комитета РУз клиническое испытание препарата разрешено в качестве нового гипогликемического средства для орального применения.

В последних главах изложены результаты исследования гипогликемического препарата матхин.

Монография будет полезна магистрантам, аспирантам, научных сотрудникам, работающих в области биологической химии , биотехнологии, фармакологии, фармации, а также студентам фармацевтических и медицинских специальностей.

Рецензенты:

**Султанова Р.Х.** – заведующая кафедры фармакологии и клинической фармации Ташкентского фармацевтического института, PhD

**Абдуллаева М.М.**- профессор кафедры биологической химии НУРУз, доктор биологических наук

*Монография утверждена на Совете Ташкентского фармацевтического института (протокол № 3 от 28.10.2021г)*

ISBN

УДК: 612.352.1:615.015: 577.17

©Г.Ю.Маликова 2021

<b>СОДЕРЖАНИЕ</b>		
	<b>ВВЕДЕНИЕ</b>	5
<b>ГЛАВА I</b>	<b>БИОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ САХАРОСНИЖАЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ «МАТХИН» В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ДИАБЕТА</b>	8
1.1	О сахароснижающем действии некоторых лекарственных растений	18
1.2	Биологический эффект гипогликемических препаратов синтетического происхождения	19
<b>ГЛАВА II</b>	<b>МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ</b>	30
2.1	Характеристика материала	30
2.2	Постановка эксперимента	31
2.3	Методы исследования	32
<b>ГЛАВА III</b>	<b>РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ</b>	35
3.1	Влияние "матхин" на уровень глюкозы в крови, содержание гликогена и активность гексокиназы в печени и мышцах интактных животных	35
3.1	Влияние "матхин" на уровень глюкозы в крови, содержание гликогена в печени и мышцах при экспериментальном диабете	38
3.3	Влияние "матхин" на активность гексокиназы и фосфорилаз в печени и мышцах при экспериментальном диабете	40
3.4	Влияние "матхин" на транспорт глюкозы в мышечную и жировую ткань	42
3.5	Влияние "матхин" на интенсивность глюконеогенеза в тканях печени в норме и при экспериментальном диабете	46
3.6	Влияние "матхин" на интенсивность глюконеогенеза в условиях адреналиновой гипергликемии	50
3.7	Влияние "матхин" <sup>3</sup> на содержание холестерина, свободных жирных кислот и триглицеридов в норме и при экспериментальном диабете	55
3.8	Влияние "матхин" на уровень инсулина и С пептида в крови в норме и в условиях гипергликемии адреналинового и аллоксанового происхождения	59
3.9	Некоторое соображение о возможном биохимическом механизме действия "матхин" на обмен глюкозы	64
<b>IVBOB</b>	<b>Заключение</b>	74
	Литература	80

## ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время во всем мире активно ведутся исследования, направленные на расширение номенклатуры лекарственных средств [117], обладающих сахароснижающим эффектом. Имеющийся в применении арсенал антидиабетических лекарств или недостаточно эффективен или же наряду со снижением уровня сахара в крови оказывает отрицательное влияние на организм больного. Поэтому создание лекарственных препаратов, нормализующих метаболические процессы при сахарном диабете с предупреждением его многообразных осложнений является объектом пристального внимания медиков, фармакологов, биотехнологов и биохимиков. Фармакотерапия при сахарном диабете предусматривает аспекты усиления секреции инсулина в зависимости от типа диабета, замещение инсулина при его дефиците и нормализация имеющихся метаболических нарушений [81]. Хотя ни один пероральный препарат не может повторить многосторонний эффект инсулина на обмен веществ организма, попытки разработки новых препаратов, удобных для приема больными и обладающие наименьшим побочным действием могли бы помочь в лечении больных диабетом [1, 10, 118]. Основным пероральным средством лечения больных инсулиннезависимым диабетом остаются синтетические производные сульфонилмочевины и бигуанидов, предложенные в конце 50-х годов и их последующие аналоги [4, 10, 11]. Лекарственные растения являются дополнительным средством, по причине их сравнительно низкой биологической активности. Применением антидиабетических пероральных препаратов удается у части больных нормализовать уровень сахара в крови. Но, к сожалению, из-за наличия побочных эффектов, феномена привыкания и в некоторых случаях прямой токсичности они имеют ограниченное применение [81]. К тому же терапевтическое действие их проявляется только в присутствии достаточного количества инсулина. В случаях дефицита инсулина эти средства не эффективны. Поэтому создание лекарственных препаратов, нормализующих метаболические процессы при сахарном диабете, является важной задачей [6,81].

В последние годы совместными усилиями ряда научных групп Ташкентского фармацевтического института из секрета тутового шелкопряда выделено гипогликемическое вещество гликопротеидной природы, условно названное "матхин" [1]. Фармакологические исследования, проведенные на различных видах животных показали, что "матхин" обладает выраженной сахароснижающей активностью и практически не имеет токсичности. Однако эти исследования не затрагивают главного аспекта влияния препарата на биохимические процессы в тканях, что должно способствовать [117] повышению взаимодействия препарата с внутриклеточными обменными процессами в механизме его сахароснижающего действия [117]. Сказанное побудило нас заняться исследованием отдельных этапов обменного превращения глюкозы и ее внутриклеточных изменений под действием "матхин" при экспериментальном диабете [118].

Материалы литературы показывают, что эффективность сахароснижающего действия пероральных препаратов растительного и синтетического происхождения осуществляется различными путями, что связано с химической структурой основного действующего компонента. Анализ их действия на отдельные этапы метаболизма с использованием современных методов биохимии дает возможность правильно трактовать благотворное действие препарата на уровне клетки. Исходя из важного значения интенсивности и направленности углеводного обмена в ответных реакциях организма при фармакологическом воздействии в условиях диабета в данной работе изучались основные звенья обмена глюкозы в печени и мышцах в условиях экспериментального диабета под влиянием "матхин" с одновременным сопоставлением с эффектом инсулина на эти процессы. Для этого были поставлены следующие задачи:

1. Изучить влияние "матхин" на обменные превращения глюкозы в печени и мышцах на основе определения содержания глюкозы в крови, гликогена в тканях и активность гексокиназы и фосфоорилазы в печени и мышцах интактных аллоксандиабетических крыс [118].

2. Исследовать эффект "матхин" на скорость образования глюкозы из ее предшественников, в условиях гипергликемии аллоксанового и адреналинового происхождения в печени [117].

3. Исследовать действие "матхин" на транспорт глюкозы в мышечную и жировую ткань в опытах *in vitro*.

4. Выявить влияние препарата на состояние липидного обмена и скорость липолиза по степени изменения уровня триглицеридов, свободных жирных кислот и холестерина в тканях и крови.

5. Определить уровень инсулина и С-пептида [118] в крови и возможное участие их в действии "матхин"[117].

- В биохимическом аспекте характеризуется механизм гипогликемического эффекта нового перорального препарата "матхин".
- По сахароснижающему действию "матхин" на модели экспериментального диабета не уступает известным синтетическим препаратам сульфонилмочевины (манинилу) и бигуанидам (адебит) [119].
- Действие "матхин" на обмен глюкозы в тканях подобно инсулину или оно осуществляется через повышение чувствительности тканей к действию инсулина.
- "Матхин" является новым отечественным пероральным препаратом, рекомендованным Фармкомитетом республики Узбекистан для лечения сахарного диабета.

# ГЛАВА I. БИОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ САХАРОСНИЖАЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ «МАТХИН» В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ДИАБЕТА

## 1.1. О сахароснижающем действии некоторых лекарственных растений

Наблюдающийся в последние десятилетия рост заболеваемости сахарным диабетом, а также многообразие и тяжесть вызываемых им осложнений ставят вопросы борьбы с сахарным диабетом в число важнейших проблем здравоохранения. В поисках новых возможностей лечения сахарного диабета врачи обращаются к методам народной медицины. Анализ данных литературы показал, что в разных странах с давних времён предпринимались попытки эмпирического использования лекарственных растений в качестве противодиабетических средств [129]. В Китае для лечения сахарного диабета использовали женьшень [128], спаржу, кизил, а также смеси нескольких растений. В Болгарии для лечения лёгких форм диабета применяют такие растения, как галега, кукурузные рыльца, фасоль, одуванчик и др. [70]. В Индии – препараты из лука, чеснока, папоротника, эвкалипта и других растений национальной флоры.

Многие из этих лекарственных растений в последнее время признаны научной медициной в качестве средств, оказывающих положительное влияние на углеводный обмен [33, 97]. Основным методом лечения больных сахарным диабетом – диета, инъекции инсулина, пероральное применение производных сульфонил-мочевины и бигуанидов [39, 64]. Применение лекарственных растений является дополнительным методом. Однако препараты лекарственных растений нашего региона почти не используются в комплексном лечении больных сахарным диабетом. Такое состояние обусловлено тем, что биологическая активность лекарственных растений сравнительно слабая. У большинства не установлено сахароснижающем действии свыше 50 растений отечественной флоры [4, 10, 11]. Авторы



указывают, что сахароснижающее действие обусловлено веществами, находящимися в различных частях растений, а именно: во всем растении целиком, в стеблях, корнях, плодах, семенах, листьях и т.д. Остается неизвестным, какие составные части растений обладают гипогликемизирующим действием, следовательно, провести классификацию растительных гипогликемических веществ по их химическому ингредиентам не представляется возможным. Поэтому мы ниже приводим перечень растений, произрастающих в Узбекистане, разделяя их соответственно на части растений, обладающих сахароснижающим действием.

№	Название растения	Изученная часть	Основное биологически активное вещество
1.	Конский каштан обыкновенный (оддий сохта каштан)	Плоды, кора, листья	Тритерпеновые сапонины (эсцин и др.), флаваноиды, кумарины (фраксин, эскулин) и др. вещества
2.	Лук репчатый (ошпиез)	Корочка, сок	Флаваноиды, эфирное масло, витамин С, В, каротин, углеводы, фитонциды и др.
3.	Чеснок (саримсок пиез)	Луковица, сок	Эфирное масло, фитостерины, витамин С, фитонциды, аллииновое соединение и др.
4.	Сельдерей пахучий (хушбуй карафс)	Листья, корень	Эфирное масло, фурукумарины, флавоноиды, витамины С и В и др.
5.	Берёза повислая (ок кайин)	Листья	Сапонины, флавоноиды, эфирное масло, дубящее вещество и др.
6.	Барбарис обыкновенный (оддий зирк)	Корень, листья, плоды, ветки	Алкалоиды (берберин и др.), кислоты, сахара, флавоноиды и др.

7.	Капуста огородная (белокочанная), каром (сабзовот карам)	Листья, сок	Сахара, в большом количестве калий, фосфор и др. минералы, витамины С, В и др. витамины
8.	Цикорий обыкновенный (оддий сачратки)	Корень, листья	Горечи, кумарины, флавоноиды, инулин, ароматические оксикислоты и др.
9.	Кориандр посевной (экма кашнич)	Корень, листья, плоды	Эфирное масло, масло, флавоноиды, кумарины и др.
10.	Синяк обыкновенный (оддий эхиум)	Корень	Алкалоиды, шиконии и производные, литоспермум и кислоты фенолкарбона и др.
11.	Хвощ полевой (дала киркбугини)	Наружная часть	Сапонины, флавоноиды, витамины С, алкалоиды, горечи, дубящее вещество и др.
12.	Крушина ольховидная (олхасимон франгула)	Кора	Антрагликозиды и др. Производные антрацена
13.	Солодка уральская (Урал кизилмияси)	Корень и корневище	Тритерпеновые сапонины (глицирризин), флаваноиды, сахара, крахмал, горечи и др.
14.	Зверобой продырявленный (обыкновенный)(тешик (оддий) далачой)	Надземная часть, корень	Дубильные вещества, флавоноиды, витамин С, каротин, гиперицин и др.
15.	Девясил высокий (кора илдиз)	Листья, цветки, корень	Эфирное масло, сексивитерпеновые, сапонины, горечи, слизь и др.
16.	Орех грецкий (грек ёнгоги)	Листья	Витамины С, Р, В, каротин, гидроглюконы и гликозиды

17.	Яснотка белая (ок ламлум)	Надземная часть, листья	Эфирное масло, иридоиды, сапонины, флавоноиды, стахидрины, фенолкарбоновые кислоты, дубящее вещество и др.
18.	Лен обыкновенный (оддий зигир)	Семена	Слизистые вещества, масло, гликозиды, линамарина, белок и др.
19.	Люцерна посевная (экиладиган беда-йунгичка)	Надземная часть	Тритерпеновые сапонины, флавоноиды, фенолкарбоновые кислоты, куместрол, кулистаны, витамин С, каротин, углеводы и др.
20.	Мята перечная (каламбир ялпиз)	Листья	Эфирное масло, флавоноиды, урсол, олланол, тритерпен и др.
21.	Шелковица белая тут белый (ок тут)	Листья	Витамины С, В <sub>2</sub> , В <sub>6</sub> , каротин, сахара, флавоноиды, стероиды, дубильные вещества и др.
22.	Шелковица чёрная (шотут)	Плоды, сок плода, листья	Сахара, органические кислоты, витамины С, В, В <sub>2</sub> , РР, флавоноиды, кумарины, тритерпеновые соединения, дубильные вещества и др.
23.	Фасоль обыкновенный (оддий ловия)	Стручки плодов	Флавоноиды, витамины В <sub>1</sub> , В <sub>2</sub> , В <sub>3</sub> , РР, С, Е органические кислоты и др. вещества.
24.	Горец птичийспорыш (куштарон – кизил)	Надземная часть	Флавоноиды, витамины С, К,

	тасма)		кумарины, сапонины, дубильные вещества, фенолкарбоновые кислоты и др.
25.	Гранатовое дерево (гранат обыкновенный - анор дарахти)	Плоды, плодовые сок	Сахара, органические кислоты, тритерпен (урсол) – овая кислота, дубильные вещества и др.
26.	Смородина чёрная (кора коракат)	Листья, плоды	Витамины С, В <sub>1</sub> , В <sub>2</sub> , В <sub>6</sub> , РР, К, органические кислоты, флавоноиды, сахара, пектин, дубильные вещества и др.
27.	Ежевика сизая (зангори маймунжон)	Листья, плоды, корень,	Витамин С, каротин, сахара, антоцианы, фенолкарбоновые кислоты, флавоноиды, дубильные вещества и др.
28.	Бузина чёрная (кора маржондарахт)	Листья, цветы, плоды	Эфирное масло, гликозиды, рутин, витамин С, антоцианы, холины, органические кислоты, дубильные вещества
29.	Шпинат туркестанский (туркистон исмалоги-чучкатикон)	Надземная часть	Витамины С, В <sub>1</sub> , В <sub>2</sub> , каротин, сапонины, кумарины, органические кислоты, алкалоиды и др.
30.	Одуванчик лекарственный (доривор коки)	Корень	Горькие гликозиды, тритерпены, инулин и др. вещества
31.	Липа сердцевидная (мелколистная) (юраксимон майда барг жука)	Листья, цветы	Эфирное масло, гликозиды тилиации и исперидиды, сапонины, витамин С, каротин, слизь, дубильные вещества
32.	Крапива двудомная (икки уйли газанда –	Листья	Витамины С, К, В <sub>2</sub> , каротин, ацетилхолин,

	чаёнут)		эфирные масла, флавоноиды, органические кислоты, дубильные и др. вещества
33.	Горошек (вика) посевной (эква вика)	Семена	Углеводы, циклитоллы, стероиды, азот содержащие и др. соединения
34.	Виноград культурный (ток узум)	Плоды, сок незрелого плода	Сахара, органические кислоты, витамины С, В, жиры, инозит, холин, дубильные и др. вещества
35.	Кукуруза обыкновенная (маккажухори)	Листья, цветы, плоды, рыльца	Сапонины, флавоноиды, эфирное масло, органические кислоты, витамины В <sub>1</sub> , В <sub>2</sub> , В <sub>6</sub> , РР, В <sub>3</sub> , каротин, биотин, инозит, фитостерины и др[128].

Сравнительных исследований о силе действия каждого на этих растений или их частей нет, а сведения о гипогликемизирующем эффекте почерпнуты из народной медицины. Преимущества применения сахароснижающих растений перед инсулином и синтетическими препаратами зависят от трёх факторов: отсутствие токсичности, кумуляции и противопоказаний [6, 104,]. Как видно из выше приведённой таблицы, применяемые в народной медицине растения обладают различным химическим составом. Основное действующее начало биологического эффекта относится к различным классам органических соединений. По данным литературы химические соединения, обладающие сахароснижающим свойством могут быть алкалоидами, сапонинами, стеринами, гликозидами, фенолами и др. [8]. Многие из этих лекарственных растений в последнее время признаны научной медициной в качестве средств, оказывающих положительное влияние на углеводный обмен[130]. Учитывая это, важным является установление и изучение

лекарственных растенная веществ, обладающих сахароснижающим свойствами. Так, на черники выделены гликозиды миртиллин и нео-миртиллин, которые оказывают влияние на углеводный обмен. Женьшень содержит сапонины, вызывающие значительное снижение содержания глюкозы в крови и моче, образование гликогена в печени [72]. Действующим началом лука и человека являются находящиеся в них фитонциды. В других растениях (одуванчик лекарственный, орех грецкий) содержатся инозит и микроэлементы, в частности, медь, марганец, а также витамины и глюкуроновая кислота. В растениях семейства бобовых (стручки фасоли) содержатся аминокислоты, гуанидин и другие вещества, обладающие гипогликемическим действием. В галега лекарственной (козлятник аптечный) обнаружены галегин, положивший начало гуанидинной (бигуаниды и их производные) группе противодиабетических препаратов. Земляника, золотой корень, лопух, хвощ полевой содержат повышенную концентрацию микроэлементов – меди, марганца; листья черники и подорожника – кадмия [5, 6, 7]. Возможным сахароснижающим началом таких растений, как одуванчик, цикорий, девясил другие является фруктоза, способствующая утилизации углеводов без инсулина. Во многих растениях (капуста, зелёный лук, яблоки, зелёный горошек) содержится инозит – шестиатомный спирт, участвующий в обмене углеводов, метаболизме пуринов, биосинтезе липидов, что позволяет применять эти растения в комплексном лечении больных сахарным диабетом[131]. В лаборатории фармакологии Института Химии растительных веществ АН Узбекистана, из растений выделены алкалоиды аккумулядин, вавневрин, эрвин, винканидин, псевдокопсинол, а также смесь алкалоидов изорезерпина и резерпина, винкапан обладающие гипогликемическим действием[28].

Из сапонинов глицирризиновая кислота повышает уровень сахара в крови, в то же время как её агликон – глицирратиновая кислота, образовавшаяся при гидролизе глицирразиновой кислоты, путём отделения двух молекул

глюкуроновой кислоты, обладает противоположными свойством/50/. Флавоноиды, содержащиеся во многих растениях, обладают гипогликемическим эффектом, возможный механизм действия которых осуществляется путём повышения флавоноидами концентрации кальция, стимулирующего секрецию инсулина бета- клетками поджелудочной железы[129].

Настой зверобоя продырявленного снижал сахар в крови у аллоксано-диабетических кроликов, а также концентрацию холестерина, липопротеидов, восстанавливая нарушений процесс гликогенолиза до уровня контроля. Предполагают, что в гипогликемическом действии водного извлечения из бутонов липы при аллоксановом диабете активным веществом является флавоноиды [87]

Показана эффективность настоя листьев белой и чёрной шелковицы при аллоксановом диабете [114]. Для профилактики атеросклероза, тромбоза и ряда других заболеваний диабетикам предложены пищевые добавки, содержащие измельченную шелковицу [70]. Возможно, что противодиабетическое действие ее зависит от наличия в шелковице витаминов, главным образом рибофлавина и дубильных веществ. Наличие флавоноидов и гидрохинона, урсоловой кислоты было обнаружены в составе листьев брусники. Существующее мнение, что действующим веществом в стручках фасоли является гуанидин, нашло подтверждение в работах ряда авторов [57, 62].

Имина стручков фасоли обыкновенной получен комплекс – глифазин, обладающий сахароснижающей активностью. Предполагают, что активность глифазина обусловлена наличием хромонового кольца в соединениях, относящихся к классу флавонола и изофлавона, а также содержаниями аминокислотных остатков, особенно гуанидина и его производные[132]. Гуанидин содержащие препараты являются сильными основаниями и могут действовать по механизму косвенного снижения потребности организма и экзогенном инсулине. С другой стороны, гуанидин является промежуточным

продуктом биосинтеза мочевины и, возможно, действует подобно препаратам сульфаниламочевина [130].

Особый интерес в аспекте влияния на углеводный обмен представляют аминокислоты, которые находятся в большом количестве в растительном сырье. В частности, лейцин повышает активность инсулина плазмы крови, освобождая его из связанного с белком состояния.

В. М. Ковалевым и др. определена гипогликемическая активность 17 флавоноидов: кемпферола, трифолина, ровинина, гиперозида, кверцетин-3-глюкуронида, рутина, изорамнетин-3, 7-диглюкозида, изорамнетин-3, 4-диглюкозида, мирицетина, лютеолина, форлюкопетина, сапонины, тетрацетата сапонины, генестеина опозида и фуранохромонола. [72].

Установлено, что ответственным за проявление сахароснижающего действия является хромоновое кольцо. На уровень сахара в крови оказывают влияние заместители флавоноидов, их положение, природа углеводного остатка и степень гликозилирования.

Последние годы внимание исследователей привлекают полисахариды (биогликоны) из различных растений, обладающие выраженным гипогликемическим, гипохолестеринемическим, иммуностимулирующим, антикоагулянтным [1, 6, 9] и противоаллергическим действиями. Считают, что гипогликемическая активность женьшеня связана с наличием в нем гликонов - паноксанов (Konno C, et.al. 1984). Изучение частичной структуры панаксана показало, что он имеет основную цепь из (1-6) – связанных остатков глюкозы, к которым в положении С-3 присоединены боковые цепи, состоящие из (1-6) связанных остатков L-глюкопиранозы. В Институте Эндокринологии АН РУз выделен полисахарид из листьев белой шелковицы, обладающий биологическим эффектом и снижающим уровень сахара в крови в условиях экспериментальной гипергликемии [1, 2].

Влияние растительных препаратов на многофункциональные изменения эндокринного аппарата поджелудочной железы изучали немногие авторы.



Так, Mahour (1960) в хронических опытах на морских свинках при гистологическом исследовании поджелудочной железы отметил пролиферацию островков Лангерганса с превалированием бета клеток у животных, получавших препараты желчи лекарственной. У животных принимавших препараты лопуха большого, наблюдалась регенерация бета- и альфа- клеток. Аналогичные результаты отмечены в эксперименте на крысах с диабетом, получавших препараты льняного семени.

Из приведённых данных также видно, что механизм гипогликемического действия фитопрепаратов изучен не только недостаточно, но и не затрагивает пути проявления сахароснижающего эффекта. Положительное влияние почти всех препаратов растительного происхождения у животных с экспериментальной гипергликемией основывается на снижении уровня глюкозы в крови, не затрагивая причины, вызывающей это явление. В единичных работах гипогликемическая активность препаратов связывается с увеличением содержания гликогена в печени и молочной кислоты в скелетной мускулатуре. Нам не удалось встретить работу, где изучались бы состояние ферментов гликолиза, гликогенеза или же пентозофосфатного пути. На таком же уровне находятся исследования по влиянию растительных препаратов на показатели липидного обмена. Правда, имеются считанные работы с определением уровня общих липидов и холестерина в крови. В ряде работ благоприятный с их восстанавливающей активностью бета клеток островков Лангерганса поджелудочной железы. Например, одной из причин противодиабетической эффективности препаратов женьшеня при аллоксановом диабете может быть их прямое или опосредованное инсулиногенное действие [55]. Такое предположение подтверждается данным о том, что введение гипогликемической фракции корня женьшеня линейным мышам с генетически детерминированным диабетом приводило к увеличению включения меченного лейцина в синтезируемый инсулин. Механизм этого явления неясен. В экспериментах с использованием меченого гинзенозида Rg,

показано, что это соединение может избирательно накапливаться в поджелудочной железе. Не исключено и опосредованное стимулирующее влияние препаратов женьшеня на инсулинсинтезирующую функцию поджелудочной железы через вегетативную нервную систему, в частности, через ее парасимпатический отдел [8, 128]. Лечебное действие физиологически активных соединений женьшеня (сапонины, гинзенозиды) при аллоксановом диабете, остром токсическом гепатите, появившиеся в восстановлении нарушенной детоксикационной функции печени и содержания гликогена в этом органе может быть следствием действия этих фитосредств, непосредственно активизирующих биосинтетических процессов в органах и тканях.

Многие лекарственные растения, обладающие гипогликемизирующим свойствами, участвуют в регуляции иммунитета. Данные растения повышают уровень гуанидинмонофосфата в печени и мышцах у животных, подобно инсулину.

Опыт применения фитопрепаратов показал их эффективность в основном, для лечения сахарного диабета II-типа (инсулиннезависимого ИНСД). При диабете II-типа фитотерапия применяется самостоятельно или в сочетании с таблетированными препаратами сульфонилмочевины и бигуанидов, что позволяет уменьшить дозу последних.

Таким образом, антидиабетическим действием обладает множество растений. Учитывая важность вопроса о поисках эффективных гипогликемических средств необходимо дальнейшее экспериментальное исследование лекарственных растений, обладающих сахароснижающим действием, с выделением активного компонента с целью синтеза эффективных антидиабетических препаратов.

## **1.2. Биологический эффект гипогликемических препаратов синтетического происхождения**

Благодаря достижениям биологической науки уточнены многие стороны патогенеза сахарного диабета и найдены некоторые пути нормализации обменных процессов при этом заболевании. Основой патогенеза сахарного диабета является нарушение секреции и механизма действия инсулина с развитием гипергликемии и других метаболических нарушений [18,52,65,6, 81]. При лечении диабета в зависимости от его типа и патогенетического механизма применяют две основные группы лекарственных средств: инсулин и его разновидности в качестве заместительной терапии при инсулинозависимом (ИЗСД) диабете (1-тип) и пероральные антидиабетические средства при диабете с сохраненной возможностью бета клеток островков Лангерганса секретировать инсулин (инсулиннезависимый сахарный диабет - ИНСД - 11-тип) [81].

Роль инсулина в обмене веществ многогранна. В регуляции углеводного обмена он благоприятствует транспортировке глюкозы через клеточную мембрану и улучшает ее функции в периферических тканях - в мышечной и жировой; стимулирует превращение глюкозы в глюкозе-б-фосфат, синтез гликогена, белков и жиров; ингибирует глюконеогенез; тем самым снижает повышенное содержание сахара в крови и устраняет проявления диабета.

Синтетическим путем получен ряд препаратов, оказывающих сахароснижающее действие при сахарном диабете. Одной из важных особенностей этих препаратов является их эффективность при пероральном применении.

Пероральные противодиабетические средства у больных ИНСД обладают рядом преимуществ перед инсулином[133]: 1) прием лекарств внутрь удобнее постоянных инъекций инсулина; 2) пероральные препараты благодаря более мягкому и постепенному влиянию на уровень сахара крови, гораздо реже, чем инсулин, вызывают гипогликемические состояния; 3) прием

пероральных препаратов реже по сравнению с инсулинотерапией, сопровождается аллергическими реакциями [52,133,134].

По химической структуре пероральные противодиабетические препараты делят на две группы: производные сульфанилмочевины и бигуаниды.[19].

Сульфаниламидные сахароснижающие препараты относятся к производным сульфанилмочевины[133]. Первые попытки лечения сахарного диабета пероральными препаратами относятся к 1926 г., когда Е.Фрэнки и ооавт. синтезировали синталин-производные гуанидина. В 1942 г. М.Жабен опубликовал данные о гипогликемическом эффекте сульфаниламидов, применяемых для лечения брюшного тифа. Эти наблюдения послужили основанием для проведения серий исследований, в результате которых были разработаны и использованы в клинической практике препараты сульфанилмочевины [19,24].

В настоящее время для лечения сахарного диабета используются следующие средства: бутамид (толбутамид, растинон, орабет), бу- карбон (оранил, диаборал, мидааол), цикламид, хлорцикламид, хлорпропамид [90]. С 1962 г. для лечения сахарного диабета стал применяться глибенкламид - (манинил) - первый препарат сульфанил- мочевины второго поколения. В 1970 г. был применен глиборнурид, в 1971 г. - глинизид. Несколько позже были предложены гликлазид (диамикрон, предидан, диабетон) и глюренорм (гликвидон). Основные отличия этих препаратов в том, что они в 50-100 раз более активны по своему сахаропонижающему действию по сравнению с препаратами первого поколения и поэтому применяются в дозах, составляющих тысячные доли грамма [31,32, 108].

В организме препараты сульфанилмочевины превращаются и экскретируются по-разному, что и определяет различную продолжительность их действия. Хлорпропамид наиболее устойчив к метаболической деградации (продолжительность действия 36-60 ч) и, кроме того, реабсорбируется в

почечных канальцах. Именно поэтому он и обладает наибольшей продолжительностью действия [19]. Все сульфониламидные сахароснижающие вещества содержат структуру  $-\text{SO}_2-\text{NH}-\text{CO}-\text{NH}-$  (для сравнения: мочевины  $-\text{NH}_2-\text{CO}-\text{NH}_2-$ , гуанидин  $-\text{NH}_2-\text{NH}-\text{NH}_2-$ ), которая и обуславливает большинство эффектов, например, сенсбилизацию  $\beta$ -клеток к обычным стимулам, и результате чего возрастает секреция инсулина. Именно по этой причине указанные вещества неэффективны у склонных к кетозу больных с инсулинодефицитным диабетом.

Почти с самого начала изучения препаратов сульфаниламидов предполагалось, что они не только стимулируют секреторную активность  $\beta$ -клеток, но и обладают периферическими эффектами. Так, было описано пониженное связывание инсулина моноцитами крови у больных диабетом. В других исследованиях показано, что связывание инсулина, моноцитами отражает его связывание с мембранами адипоцитов и гепатоцитов. При лечении этих больных хлорпропамидом связывание инсулина возрастало. В некоторых клетках-мишенях препараты сульфаниламидов усиливали реакцию на инсулин и на пострецепторных этапах. Таким образом, эти вещества не только улучшают секрецию инсулина, но могут влиять и на чувствительность периферических клеток-мишеней к гормону. Тем не менее о влиянии препаратов сульфаниламидов на секрецию инсулина существуют и другие мнения, наблюдали увеличение содержания инсулина после внутривенного введения толбутамида. Кратковременная терапия хлорпропамидом приводит к повышению уровня инсулина в крови, при этом уровень глюкозы в крови при глюкозотолерантном тесте снижается.

С другой стороны, прием сульфаниламидных препаратов не стимулирует секрецию инсулина. Кроме того, при длительной терапии сульфаниламидными препаратами уровень инсулина также не повышается, даже несмотря на снижение уровня глюкозы. Однако отмечено, что пролонгированное введение сульфаниламидных препаратов вызывает в

эксперименте пролиферацию бета клеток. Высказывается предположение, что толбутамид и хлорпропамид стимулируют секрецию инсулина ингибируя, возможно, синтез простагландинов. Имеются также данные, что сульфаниламидные препараты снижают секрецию глюкагона и СТГ, вызванную аргинином, и это действие проявляется не через инсулин. Однако терапевтическое действие их проявляется только в присутствии достаточного количества инсулина в организме. В тех случаях, когда имеется выраженный дефицит инсулина в организме, эти средства неэффективны. Механизм действия производных сульфанилмочевины связан, главным образом, со стимуляцией ими бета клеток поджелудочной железы, сопровождающейся мобилизацией и усилением выброса эндогенного инсулина [10,8,19]. Эффективность действия этих препаратов определяется наличием в поджелудочной железе функционально способных  $\beta$ -клеток[135]. В последнее время появились данные о том, что препараты этой группы являются антагонистами калиевых каналов  $\beta$ -клеток поджелудочной железы, что сопровождается уменьшением выхода калия во внеклеточное пространство и стимуляцией освобождения инсулина [45,135].

В основе молекулярного механизма действия сульфаниламидных препаратов лежит высокая степень сродства и прочное лиганд рецепторное взаимодействие этих препаратов с пептидными образованиями, расположенными на мембране  $\beta$ -клеток и дающими возможность стимулировать выделение инсулина[136] . Как известно, ИНСД свойственна сниженная чувствительность периферических тканей к инсулину. В ее основе лежит уменьшение концентрации рецепторов инсулина на плазматических мембранах клеток, а также снижение сродства рецепторов к гормонам[134]. Утверждают, что увеличение выделения инсулина под влиянием сульфаниламидов обеспечивается за счет связывания их с высокооцецифичными рецепторами на мембране клеток [21, 22].

Такое взаимодействие рецепторов и сульфаниламидных препаратов,

предотвращая выход  $K^+$  и блокируя тем самым  $K^+$  - АТФ-чувствительные каналы, запускает процесс выделения инсулина [23, 24,136].

Таблица 1.2.1.

Пероральные сахаросжигающие препараты сульфанилмочевины  
По Н.Т.Старковой [108], Д.Машковскому [90].

Международное название	Коммерческое название (синонимы)	Суточная доза, г
<u>I препараты</u>	<u>сульфанилмочевины I генерации</u>	
	<u>Букарбан,оранил,нади- зан, ивенол</u>	0,5-1,5
Карбутамид Толбутамид	Букарбан, оранил, надизан,ивенол	0,5-2,0
	Бутамид, растинон, ори- наз, диабетол,орабет, мовепол	
Хлорпропамид	Диабинез,хлороназ, хлорпропамид, талирон	0,125-0,5
Хлорцикламид	Орадион	0,125-1,0
Цикламид	Алигал,диаборал	0,5-2,0
Толазамид	Норглицин,толиназ	0,125-1,0
Глимидин Ацетогексамид [137]	Редул	0,5-2,0
		0,25-1,5
<u>II препараты</u>	Димерол	0,0025-0,15
Глибенкламид	<u>сульфанилмочевины II генерации</u> Манилил,даонил,адиаб, кламид,ауглук	
Глиборнурид	Глутарил	0,125-0,075
Глизоксемид	продиабан	0,002-0,016
Глимизид	Глибенез	0,0050-0,030
Гликвидон	Глюренорм	0,015-0,120

Гликлазид'	Диамикрон	0,40-016
Буформин	<u>III. Бигуаниды</u> Глибутид, адебит, буформин- ретард, ,силубин-ретард ,бутилбигуанид, глипор	0,1-0,3
Метморфин	Глюкофаг, диформин, глигуанид, меллитин	0,5-3,0 0,5-1,0
Фенформин	Дб-ретард, дипар-ретард	0,05-0,05

Механизм потенцирующего влияния сульфаниламидов на действие инсулина полностью не выяснен и остается предметом обсуждения [133]. По всей вероятности, он не однозначен. Считают, что они способствуют инактивации инсулиназы протеолитического фермента разрушающего инсулин [101]. Но по мнению других для этого требуются очень большие дозы препарата, в терапевтических же дозах сульфаниламиды не вызывают ее угнетения. Существует мнение, что эти препараты тормозят связывание инсулина с антителами и белками плазмы или освобождают его из этой связи [133]. Не исключено также и пострецепторное влияния сульфаниламидов путем усиления транспорта глюкозы внутрь клеток. В работе Абидова А.А. и соавт. [2] глуренорм стимулировал транспорт глюкозы через плазматические мембраны в присутствии инсулина. Установленное увеличение потребления глюкозы мышечной тканью при сочетании действия препаратов, авторы рассматривают как потенцирование эффектов инсулина в результате вызванном глуренормом повышения чувствительности тканей к инсулину. Наиболее важный эффект сульфанилмочевинны на секрецию инсулина  $\beta$ -клетками объясняется тремя различными механизмами.

- Стимулирование выхода инсулина из запаса.
- Снижение порогового уровня глюкозы, вызывающего секрецию инсулина.
- Усиление секреции инсулина, вызываемой глюкозой.

По сути дела, все эти вошедшие в литературу предположения относительно механизма действия препаратов сульфанилмочевинны является



физиологической функцией самой глюкозы, изменение уровня которой синхронно отражается на количестве инсулина, секретируемого в циркуляцию. В самом деле, в норме не инсулин контролирует, а содержание глюкозы в крови обуславливает функцию бета-клеток. Т.е. в указанном примере наблюдается классическое рецепторное отношение функций, регулирующих постоянство внутренней среды. Поэтому в данном обсуждении мы склонны примкнуть к тем, кто предпочитает первичным в механизме действия сульфаниламидных препаратов лигандо-рецепторное взаимоотношение, лимитирующее транспорт глюкозы в инсулинчувствительных клетках - мишенях.

Следовательно, противодиабетическое действие препаратов сульфаниламочевины основано как на повышении выделения инсулина из  $\beta$ -клеток, так и на повышении чувствительности тканей к инсулину. Показано, что при этом на фоне компенсации диабета отмечается повышение чувствительности жировой ткани к инсулину [10,6,13,14]. Усиливая поглощение глюкозы печенью и мышечной тканью, производные сульфаниламочевины способствуют увеличению синтеза и накопления гликогена. Одновременно снижается свойственный диабету усиленный глюконеогенез [19, 20, 21]. В результате действия сульфаниламидов снижается содержание триглицеридов, свободных жирных кислот (СЖК), холестерина, кетоновых тел в крови [38, 39,44,134].

Длительный непрерывный прием пероральных средств снижает чувствительность к ним  $\beta$ -клеток, а постоянно высокие концентрации сульфаниламочевины развивают к ним резистентность [31].

Побочные явления, вызываемые препаратами сульфаниламочевины, чаще всего неспецифичны - диспепсия или кожная аллергия. Описано токсическое действие их на костный мозг с развитием лейкопении., тромбоцитопении и даже агранулоцитоза [49], возможно развитие гипогликемических состояний.

Тамм образом, сахаропонижающий эффект препаратов сульфанилмочевины складывается из их влияния на островки поджелудочной железы, выражающееся в стимуляции секреции инсулина, восстановлении чувствительности глюкорцептора к гликемии, что приводит к нормализации выделения инсулина. Эти препараты могут ингибировать секрецию глюкагона, повышать чувствительность тканей к инсулину с одновременным усилением его сахароснижающего эффекта; увеличивать количество рецепторов и их сродство к инсулину.

Следовательно, механизм действия сульфанилмочевинных препаратов состоит из нижеследующих их эффектов:

- Повышают секрецию инсулина  $\beta$ -клетками поджелудочной железы.
- Повышают чувствительность  $\beta$ -клеток к выделению инсулина при воздействии глюкозы.
- Усиливают действие инсулина на поглощение глюкозы в мышцах и печени.
- Тормозят глюконеогенез в печени.
- Тормозят липолиз в жировой ткани.

Вторую большую группу пероральных сахароснижающих препаратов представляют бигуаниды. Выше отмечалось, что первый пероральный сахаропонижающий препарат синталин также был производным гуанидинового ряда, но из-за чрезвычайно высокой токсичности не нашел клинического применения. В 1953-1957 предложены для клинического применения фенформин, буформин и метформин. Механизм действия бигуанидов полностью неясен. Имеется мнение, что бигуаниды, как и производные сульфанилмочевины, оказывают сахароснижающее действие только при наличии в организме эндогенного или экзогенного инсулина. Группа авторов наоборот, считает, что они действуют в основном экстрагепатически, т.е. в отличие от сульфаниламидов не стимулируют секрецию инсулина  $\beta$ -клетками панкреатических островков [8, 86]. Бигуаниды

потенцируют действие инсулина, увеличивают проницаемость клеточных мембран для глюкозы и повышают потребление ее периферическими тканями, снижают всасывание поступающей с пищей глюкозы в кишечнике, стимулируя липолиз, уменьшают потребность в избыточной продукции инсулина поджелудочной железой; повышают связывание инсулина с рецепторами, хотя количество рецепторов при этом возрастает значительно меньше, чем таковое при применении сульфаниламидов [20]. По данным других авторов, увеличение количества инсулиновых рецепторов в периферических тканях, не изменяет существенно уровень инсулинемии [138]. Клинические исследования также свидетельствуют, что бигуаниды уменьшают аппетит, чувство голода, снижают скорость всасывания углеводов из кишечника и влияют на пострецепторные механизмы действия инсулина, приводя к улучшению обмена углеводов в организме. Последнее действие названные препараты оказывают путем активации промежуточного обмена глюкозы - гликолиза с образованием лактата и пирувата, что ведет к накоплению в тканях и крови избытка пировиноградной и, особенно, молочной кислоты [121]. По некоторым данным, при этом ингибируется вновь образование глюкозы в печени из ее предшественников, особенно из аминокислот аланина и глутамата. В противоположность препаратам сульфаниламочевины и инсулину производные бигуанидов, помимо их сахароснижающего действия, обладают отчетливым гиполлипидемическим эффектом, что проявляется в снижении эстерификации жирных кислот, холестерина, триглицеридов и бета-липопротеидов в сочетании с прямым липолитическим действием. Все эти свойства способствуют уменьшению массы тела у больных с ожирением, восстановлению чувствительности периферических тканей к инсулину и, что очень важно, не вызывают гипогликемических состояний [121]. Лечение диабета препаратами бигуанидов за последние 10 лет резко уменьшилось из-за боязни развития лактат-ацидоза, хотя имеются данные, что бутил- и метилбигуаниды в

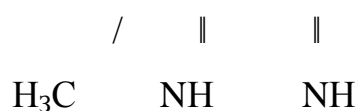
терапевтических дозах не способны вызывать лактат-ацидоз. К благоприятным действиям бигуанидов следует отнести их анаболический эффект на обмен белков путем усиления транспорта аминокислот внутрь клетки; активация фибринолиза. Сахароснижающее действие их наблюдается только у страдающих диабетом, а у здоровых они уменьшают гликемию только при длительном голодании [22, 23, 64]. Побочным эффектом бигуанидов является накопление в крови и тканях избыточного количества молочной кислоты, вызванной стимуляцией ими анаэробного гликолиза при дефиците инсулина [80, 81], что ограничивает их применение.

Таким образом, бигуаниды оказывают периферическое действие. В связи со способностью бигуанидов вызывать состояние лактат-ацидоза эти препараты противопоказаны при сахарном диабете, протекающем с сопутствующей гипоксией, а также при заболеваниях печени, почек и состояниях, сопровождающихся повышением температуры.

Рис.1.2.2. Химическая структура сахароснижающих препаратов бигуанидов.



глибутид (бутилбигуанид гидрохлорид.)



метоформин (N',N' - диметилбигуанид)

---

В общих чертах механизм действия бигуанидов сводится к следующему:

- Повышают поглощение глюкозы мышцами.
- Повышают анаэробный гликолиз и продукцию лактата и пирувата и коэффициента лактат/пируват в крови.

- Тормозят глюконеогенез.
- Изменяют всасывание в тонком кишечнике глюкозы, аминокислот, желчных кислот, соли, воды, витамина В12, фолиевой кислоты, белка.
- Снижают липогенез и повышают уровень триглицеридов в крови [139].
- Повышают липолиз и содержание свободных жирных кислот и глицерина в крови.
- Активируют фибринолиз.

Таким образом, применением антидиабетических пероральных препаратов удастся у части больных нормализовать уровень сахара в крови. Терапевтическое действие их проявляется только в присутствии достаточного количества инсулина. В случаях дефицита инсулина эти средства неэффективны. Поэтому создание лекарственных препаратов, нормализующих метаболические процессы при сахарном диабете на сегодняшний день остается важной задачей. Терапия сахарного диабета предусматривает аспекты усиления секреции инсулина при определенных клинических формах диабета, замещение инсулина при его дефиците и нормализацию имеющихся метаболических нарушений[81]. Хотя ни один пероральный препарат не может повторить многосторонний эффект инсулина на обмен веществ в организме, попытки разработки новых препаратов, удобных для приема больными, дающих меньше осложнений могли бы помочь в лечении больных сахарным диабетом [118].

## ГЛАВА II. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1. Характеристика материала

В настоящей работе представлены результаты изучения влияния нового отечественного перорального сахароснижающего препарата "матхин" на некоторые стороны метаболизма углеводов и липидов в тканях и уровень инсулина, участвующего в регуляции этих процессов. Препарат, условно названный "матхин", обладает выраженной гипогликемической активностью и практически не имеет токсичности. Выделен из секрета тутового шелкопряда совместными усилиями ряда кафедр Ташкентского Фармацевтического института. Решением Фармакологического Комитета РУз клиническое испытание препарата разрешено в качестве нового гипогликемического средства для орального применения.

"Матхин" представляет собой слегка сероватый порошок без вкуса и запаха, практически нерастворимый в воде, растворимый в слабощелочном растворе. Фармакологические свойства этого препарата подробно изучены сотрудниками кафедры фармакологии ТашФарми под руководством профессора Х.У.Алиева [117]. При однократном введении препарата экспериментальным животным даже в дозах 4000-5000 мг/кг не наблюдается их гибель. При длительном (в течении 6 месяцев) введении крысам препарат не оказывал отрицательного влияния на рост, кровообращение и морфологию внутренних органов. Препарат не обладает канцерогенным и тератогенными свойствами, а по широте сахароснижающего действия значительно превосходит испытываемые в клинике растительные аналоги.

Большой интерес к антидиабетическим препаратам и полное отсутствие сведений о биохимических механизмах благоприятного эффекта "матхин" в условиях диабета "матхин" послужили основанием для исследования отдельных этапов обменного превращения углеводов и липидов, и их внутриклеточных изменений при экспериментальном диабете [117] (в лит.обз.3.3.).

## 2.2. Постановка эксперимента

Для выяснения характера изменения метаболизма углеводов и липидов при действии "матхин" были проведены исследования у интактных животных в норме и на фоне патологии углеводного обмена с введением аллоксана. Эксперименты проводили на 440 белых половозрелых крысах, весом 180-200 г, содержащихся на обычном рационе. Животные были распределены на две группы [81]. В первой группе, состоящей из 140 крыс изучали состояние углеводно-липидного обмена в норме, во второй (300 животных) исследовали изучаемые показатели в условиях сахарного диабета [117]. Экспериментальный диабет вызывали единичными подкожными инъекциями аллоксана в дозе 170 мг/кг. За ходом развития диабета следили по повышению уровня глюкозы в крови не ниже 17-20 ммоль/л, увеличению потребления воды; снижению веса. Препарат "матхин" вводили перорально в дозе 25 мг/кг один, раз в сутки в течение 1,3,7 дней. Выбор указанной дозы и сроки исследования обусловлены тем, что фармакологи эффект "матхин" изучали именно в этой дозе и в эти сроки [117]. Поэтому показатели, полученные нами в эти периоды служили критерием для сопоставления наших данных с результатами литературы. В соответствии с задачами нашей работы тестами исследования служили: 1. Уровень глюкозы, свободных жирных кислот и холестерина, в крови [81]. 2. Содержание гликогена в печени, активность фосфоорилазы и гексокиназы в печеночной ткани.

3. Содержание гликогена, активность фосфоорилаз и гексокиназы в мышцах.

4. Интенсивность глюконеогенеза в срезах печеночной ткани.

5. Содержание инсулина и С-пептида в крови.

6. Транспорт глюкозы в клетки диафрагмы и жировой ткани *in vivo*.

Все перечисленные тесты проведены в норме у интактных животных, а также у контрольных и опытных животных с диабетом под действием "матхин" [81].

## 2.3. Методы исследования

1. *Определение содержания глюкозы в крови* проводили с помощью глюкозооксидазного метода [47]. Принцип метода состоит в том, что глюкоза окисляется кислородом при каталитическом действии фермента глюкозооксидазы с образованием перекиси водорода и глюконата [127]. Возникшую перекись водорода, определяют по реакции окислительного азосочетания производного фенола с 4-аминофеназо- ном, катализируемой пероксидазой [100].

2. *Определение свободных жирных кислот (СЖК) в сыворотке крови* проводили колориметрическим способом [93]. Метод основан на способности медных солей СЖК образовывать комплексные окрашенные соединения с диэтилдитиокарбоматом натрия [81].

3. *Определение содержания гликогена в печени* осуществляли с помощью антронового реактива [30,37, 81]. Принцип метода состоит в том, что ткань печени подвергается десмолизу 30%. КОН; из десмолизата прибавлением спирта осаждаются гликоген; осадок гликогена обрабатывается реактивом антрон,а в концентрированной серной кислоте. Образующаяся в результате гидролиза гликогена глюкоза дегидратируясь в присутствии концентрированной серной кислоты, конденсируется с антроном, давая соединение, окрашивающее раствор в синий цвет, которое и колориметрируется против контроля при красном фильтре ФЭК.

4. *При определении активности фосфорилаз (164 глюканортофосфат- глюкозилтрансфераза- 2. 4. 1.1.)* в ткани печени мы пользовались методом [43], основанном на определении уменьшения неорганического фосфора в инкубационной среде под влиянием фосфорилаз в результате распада гликогена. Для этого измельченную ножницами кашицу печеночной ткани (200 мг) инкубировали в течение 1 часа в 2 мл 3% гликогена, в 0,15 м фосфатном буфере с рН - 7,2 при 30°C. Ферментативный процесс после инкубации прекращали путем осаждения белков 10%. трихлоруксусной



кислотой. Количество неорганического фосфора до и после инкубации определяли по методу Фиске-Суббароу [92,100]. Активность фермента выражали в мг Р/г печени.

5. *Активность гексокиназы* (АТФ: Д-гексозо-6-фосфотрансфераза 2.7.1.1.). Определяли методом [94, 82], основанном на убыли глюкозы, расходуемой на образование глюкозо-6-фосфата в процессе гексокиназной реакции:

Глюкоза+АТФ+г ексокиназа-----> Г люкозо- 6 - фосфат+АДФ

Методика определения состоит из двух этапов: 1). Собственно гексокиназной реакции. 2). Количественного определения глюкозы в опытной и контрольной пробах. Активность ГК выражается в условных международных единицах (МЕ). 1 МЕ равна 1 микромолю глюкозы, преобразованной за 1. мин на 1 л сыворотки крови (или другой исследуемой жидкости) при температуре 37°C, рН - 7,8. Экстракт мышечной ткани выделяли в среде: Трис буфер - 50 мМ раствор, рН - 8,2 [81,84,100]. Содержание состава глюкозы определяли ферментативным методом.

6. *Скорость глюконеогенеза в срезах печеночной ткани* определяли [139/ при инкубации срезов печени в Кребс-Рингеровском бикарбонатном буфере (рН - 7,4) с добавлением одного из субстратов (аланин, ос-кетоглутаровая кислота, пировиноградная кислота, янтарная кислота) и конечной концентрации 0,01 М. Инкубацию проводили в аэробных условиях при 37°C и постоянном покачивании в течение 1 ч. Количество глюкозы в инкубационной среде определяли глюкозооксидазным методом [83,100]. Скорость глюконеогенеза выражали в мг новообразованной глюкозы в 1 час в расчете на 1 г сырой ткани печени.

7. *Определение потребления глюкозы диафрагмой крыс* [71, 117]. Принцип метода. Диафрагму инкубируют в среде с глюкозой и определяют потребление глюкозы по убыли ее из среды инкубации. Методика . После забоя быстро вырезают диафрагму и помещают в среду инкубации при 0°C на 20 минут. Среда инкубации состоит из Кребс-Рингер бикарбонатного буфера

(рН-7,4), содержащего 5 ммоль/л глюкозы [124]. После отмывания диафрагму помещают в колбочки со средой инкубации (1,7 мл), продувают в течение 2-3 мин. кислородом, закрывают пробками и инкубируют при 37°C в течение 120 мин. при периодическом встряхивании. После окончания инкубации диафрагму вынимают пинцетом, промокают на фильтровальной бумаге и взвешивают на торсионных весах. Потребление глюкозы определяют по разнице в содержании глюкозы в среде до и после инкубации и рассчитывают на 1 г сырой диафрагмы за 2 часа [100].

8. *Радиоиммунологическое определение инсулина в сыворотке крови* производили с помощью наборов, выпускаемых институтом биорганической химии республики Беларусь. *Характеристика метода.* Чувствительность определения инсулина в пробе 0,2 мкМЕ или 2 мкМЕ/мл. Коэффициент вариации в серийных определениях в разные дни 8,6-9,7. Перекрестная реакция антисыворотки к бычьему и свиному инсулину 100%, к инсулину крысы - 90%. Это позволяет использовать данный набор и для определения инсулина на животных. Перекрестная реакция с проинсулином 7,0 глюкагоном - 0,2; с 0-пептидом меньше 0,08. Содержание инсулина в сыворотке крови у крыс по данной методике  $30,6 \pm 7,2$  мк ед/мл плазмы.

9. *Радиоиммунологическое определение С-пептида* производили набором, выпускаемым институтом биоорганической химии республики Беларусь, которые рассчитаны на 100 определений. При приготовлении раствора необходимо избегать слишком интенсивного встряхивания, образования пены, не смешивать компоненты набора разных партий. Строго придерживаться последовательности ступеней анализа. Время измерения на счетчике установить таким образом, чтобы подсчитывались по крайней мере 10000 импульсов в минуту. Сыворотка набирается без добавки антикоагулянтов, обычным способом и должна храниться при температуре - 20°C. Не используется гемолизованная сыворотка [45]. 10. *Определение холестерина в крови* проводили реактивом Либермана- Бурхарда [81].

## ГЛАВА III

### РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

#### **3.1. Влияние "матхин" на уровень глюкозы в крови, содержание гликогена и активность гексокиназы в печени и мышцах интактных животных**

Для выяснения сахароснижающего действия препарата предварительно определяли эффективную концентрацию "матхин" на модели алиментарной гипергликемии, вызванной скармливанием животным (крысам) глюкозы в дозе 9г/кг массы тела с помощью желудочного катетера. Дозы "матхин" в количестве 25,50,100 мг/кг массы вводили перорально. При этом максимальный гипогликемический эффект был получен при дозе 25 мг/кг, что и служило в дальнейшем рабочей дозой препарата при проведении данного исследования [118]. Для определения динамики действия препарата на показатели гликемии и уточнения продолжительности его эффекта нами были проведены опыты о одноразовым введением препарата в дозе 25 мг/кг на этой же модели с определением содержания сахара в крови с интервалом в 1 час в течение 24х часов. Показано, что уровень сахара достоверно снижается к исходу 2 часа после приема, препарата. При этом продолжительность действия сохранялась в течение 6 часов с момента введения препарата. Отсюда вытекает, что максимум снижения сахара крови при приеме препарата перорально проявляется к четвертому часу. Продолжительность максимального гипогликемического действия "матхин" порядка. 30% сохранялась в промежутке времени от 4 до 6 часов с момента введения как на модели алиментарной гипергликемии, так и аллоксанового диабета. Аналогичные результаты на модели алиментарной гипергликемии были получены также с введением применяемых в клинике пероральных

импортных сахароснижающих препаратов - "манинил" и "адебит".

Изучение метаболического эффекта "матхин" нами начато с определения глюкозы в крови и гликогена в печени и мышцах, а также активности интактных животных (табл. 3.1.1.).

Таблица 3.1.1.

**Влияние "матхин" на показатели углеводного обмена  
у интактных крыс**

Показатели	Контроль (норма) n =12	Опыт (с введением	Р
1.Глюкоза в крови в м/моль/л	4,3±0,2	4,8±0,2	> 0,1
2.Гликоген в печени в мг%	291±44	168±23	< 0,05
3.Гликоген в мышцах в мг%	63±4	48 ±6	> 0,05
4.Гексокиназа в печени в МЕ	26,4±1,3	39, 3± 2,4	< 0,05
5.Гексокиназа в мышцах в МЕ	17,4±0,8	12,3±0,3	< 0,05

Примечание.- n - количество животных.

По данным табл. III.1.1. видно, что введение "матхин" здоровым крысам в течение 7 дней вызывает достоверное снижение гликогена в тканях печени и мышц интактных животных, соответственно на 42% и 24%, не оказывая заметного влияния на уровень глюкозы крови. Наблюдалось стимулирование активности гексокиназы в печени (38%) при одновременном снижении ее в мышцах (на 30%). Снижение содержания гликогена под действием препарата может быть вследствие подавления его ресинтеза или же в результате усиления гликогенолиза с образованием глюкозы. Оба этих предполагаемых процесса в данном случае должны были сопровождаться возрастанием уровня глюкозы в крови. Однако этого нами не отмечалось. Можно допустить, что обнаруженное обусловлено возможным стимулированием включения

глюкозы в обменные процессы. Об этом же говорит активирование гексокиназы в ткани печени. Здесь следует упомянуть, что уровень глюкозы в крови один из самых постоянных показателей в норме, сдвиги которого можно наблюдать только в условиях серьезного повреждения его регулирующих компонентов - нервного или гормонального. Известно, что уровень глюкозы одновременно контролируется вегетативной нервной системой, гормонами - адреналином, глюкокартикоидами, инсулином, тироксином, соматотропным гормоном, биохимическими процессами - гликолизом, гликогенолизом, глюконеогенезом, словом всеми процессами, которые направлены на поддержание постоянства внутренней среды организма, т.е. гомеостаза.

Такой многосторонний контроль прежде всего связан с ролью глюкозы как единственного субстрата, обеспечивающего энергией мозг. Поэтому, заметные сдвиги уровня глюкозы продолжительное время, за исключением алиментарной гипергликемии, имеют место только в условиях экстремальных случаев, часто связанных с патологией.

Вот почему полученные результаты у интактных животных служили основанием для проведения аналогичных опытов в условиях патологии с высоким уровнем гликемии при экспериментальном, аллоксановом диабете.

Отсутствие прямой количественной корреляции между уровнем глюкозы и снижением гликогена наводит на мысль о том, что в данном случае падение уровня гликогена, происходит в результате включения глюкозы в обмен веществ [117]. Если сказанное выше правомерно, то под действием "матхин" осуществляется субстратное обеспечение тканей организма энергетическими источниками [117]. Для этого необходимо первичное фосфорилирование глюкозы за счет АТФ с образованием глюкозо-6-фосфата, катализируемое гексокиназой [81, 84]. Регуляторная способность гексокиназы и тканей играет важную роль в регуляции углеводного метаболизма в качестве пусковой реакции гликолиза.

Результаты опытов представленные в таблице 3.1.1. показывают, что "матхин" способствует стимуляции гексокиназы печени на 40% при повторном введении на фоне одновременного снижения ее активности в мышцах на 99%. Приведенные факты позволяют допустить, что длительное введение препарата интактным животным вызывает уменьшение активности фермента в мышцах [118]. А.Б.Панин, используя метод выявления неравновесных (ключевых) реакций гликолиза по скорости продукции лактат, ив субстратов отдельных реакций гликолиза убедительно показал, что в печени и в мышце основным фактором ограничения скорости гликолиза является гексокиназная реакция как в условиях физиологического покоя, так и при голодании и физической нагрузке. Эти данные можно экстраполировать в том плане, что "матхин" ингибируя гексокиназную реакцию в мышцах сопрягает скорость [117] окисления жирных кислот, так как жирные кислоты блокируют гликолиз на уровне всех ключевых этапов его регуляции [126,40,41,56, 81,].

### **3.2. Влияние "матхин" на уровень глюкозы в крови, содержание гликогена печени и мышцах при экспериментальном диабете**

Результаты опытов показали, что "матхин" при ежедневном введении в течение 7 суток приводит к снижению уровня глюкозы в крови диабетических крыс более, чем в два раза (табл. 3.2.1.).

Как известно, токсическое действие аллоксана на  $\beta$ -клетки поджелудочной железы опосредовано с угнетением ядами сульфгидрильных групп островков, играющих эффекторную роль в глюкозависимой секреции инсулина [23]. Поэтому, можно априорно признать, что на ранних сроках аллоксанового диабета действие "матхин" осуществляется не через секрецию инсулина[119].

Таблица 3.2.1.

**Влияние "матхин"\* на некоторые показатели углеводного обмена при аллоксановом диабете**

Показатели	Глюкоза ммоль/л	гликоген в мг	
		печень	мышца
I. Интактные (норма) n = 20	5,4±0,1	60+ 8,5	18±2,2
II. Контроль (диабет) n = 20	19,2±3,4*	46,8+7,1	17,6+3,4
III. Опыт (диабет+матхин) n = 20	8,8+0,9*	38,5+1,1	20,5+2,8

- p < 0,001

Уменьшение глюкозы крови может быть вызвано возрастанием интенсивности гликолиза или же включением ее в ресинтез гликогена [81]. Как видно из приведенных в таблице 3.2.1. результатов, семикратное ежедневное введение изучаемого препарата не привело к накоплению гликогена в тканях. Возможной причиной обнаруженного снижения уровня глюкозы при одновременном отсутствии накопления гликогена может быть использование глюкозы в процессах обмена [117]. Это допущение поддерживается еще и тем, что гипогликемический эффект препарата проявляется также и на фоне алиментарной гипергликемии. По-видимому, в этих условиях катаболический процесс превалирует над анаболическим. Не вдаваясь в подробности механизма и путей снижения содержания глюкозы на фоне постоянного уровня гликогена в печени и мышцах, обнаруженный эффект можно рассматривать как положительное действие препарата, направленное на использование глюкозы для метаболических целей клетки.

**3.3. Влияние "матхин" на активность гексокиназы и фосфорилаз в печени и мышцах при экспериментальном диабете**

Вступление глюкозы в реакцию энергетического обмена клетки осуществляется посредством ее первичного фосфорилирования с участием глюкокиназы (гексокиназы) в печени и гексокиназы в мышцах[119]. Фосфорилирование - основной механизм вовлечения глюкозы в обменные процессы. Образование гликогена из глюкозы в тканях начинается с конверсии глюкозо-6-фосфата в глюкозо-1-фосфат через уридин - фосфатглюкозу. Скорость этой реакции в клетках печени определяется активностью соответствующих ферментов, а именно гексо- и глюкокиназ. При диабете, вследствие недостатка инсулина, контролирующего синтез этих ферментов, их активность снижается.

Дефицит фермента приводит к торможению анаэробного гликолиза и, соответственно, к стимуляции глюконеогенеза [23, 73, 83]. Поэтому для выяснения механизма действия "матхин" представлялось целесообразным выяснить состояние гексокиназной системы в условиях диабета[119].

Таблица 3.3.1.

**Влияние "матхин" на активность гексокиназы при диабете (в МЕ)**

Группы	Печень	Мышцы
Норма n = 15	145±10	118±11
Диабет n= 14	103±16	100±12
Диабет + матхин n =14	146±9	248±21*

\*- p < 0,05

Представленные данные в таблице 3.3.1. показывают, что "матхин" способствует стимуляции гексокиназы мышц при повторном введении более чем в 2 раза. При диабете происходит резкое снижение активности гексокиназы, несмотря на высокое содержание в сыворотке крови глюкозы -



субстрата для данного фермента. Есть основание считать, что изменение активности гексокиназы, играющей главную роль в поддержании гомеостаза глюкозы, происходит в результате изменения количества фермента[118]. В опытах *in vitro* на культуре гепатоцитов установлено, что у крыс при диабете происходит снижение образования мРНК гексокиназы. Введение инсулина диабетическим животным увеличивало количество мРНК гексокиназы и нормализовало активность фермента. Возрастание гексокиназного фосфорилирования под влиянием препарата является прямым доказательством стимуляции гликолиза и использования глюкозы в качестве источника энергии в условиях диабета, так как гексокиназная реакция является основным фактором ограничения скорости гликолиза в печени и скелетной мышце при голодании и физической нагрузке[118].

Таблица 3.3.2.

**Влияние “матхин\*” на активность фосфорилаз мышц крыс (n=8) при диабете (мг рН/г ткани, n=8).**

Условия опыта	Продолжительность инкубации	
	30 мин	60 мин
Норма n = 15	19,30±3,6	29,6±2,4
Диабет n = 14	27,1±3,2	43,5±4,1*
Диабет + матхин n = 14	19,9±2,5	31,2±5,2*

\*- p < 0,05

Приведенные в табл.3.3.2. данные ясно указывают на значительное (24-30%) снижение активности фосфорилаз мышц у крыс с диабетом, получивших многократно "матхин". Следовательно, в содержании гликогена, обнаруженного нами под влиянием "матхин", определенное значение имеет

угнетение фосфорилазной активности, приводящей к ограничению распада гликогена. Причем, наиболее заметное снижение активности фермента, (до 30%) соответствует многократному введению препарата[117]. Эти свойства препарата можно расценить как. его благоприятный эффект, направленный на сохранение одного из энергетических субстратов, и такое состояние само по себе является фактором, повышающим аэробный обмен в мышце.

Относительно механизма снижения активности фосфорилаз на данном этапе изучения действия "матхин" сказать что-либо определенное не представляется возможным. Фосфорилаза относится к регуляторным ферментам и имеет активную и неактивную формы, причем последняя активируется цАМФ [98,117]. Активация фосфорилазы с помощью цАМФ зависимой протеинкиназы имеет чрезвычайно важное значение в гормональной регуляции многих метаболических процессов. Существование двух форм фосфорилаз различных по своей каталитической активности и способных к ферментативному взаимопревращению наводят на мысль, что они участвуют в механизмах действия "матхин" на интенсивность гликогенолиза в тканях[117]. Глюкоза служит не только субстратом, но и регулятором синтеза гликогена [95,100]. В опытах глюкоза в физиологических концентрациях активирует гликогенсинтазу и инактивирует фосфорилазу. Регуляция глюкозой активности этих ферментов основана на их кооперативном взаимодействии.

### **3.4. Влияние "матхин" на транспорт глюкозы в мышечную и жировую ткань**

Во всех тканях в физиологических условиях транспорт глюкозы определяет ее внутриклеточный метаболизм, оцениваемый по окислению глюкозы до углекислоты [82, 96, 107]. Очевидно, транспорт представляет собой первичную лимитирующую реакцию в утилизации глюкозы клетками, так как в

отсутствие инсулина поток переносимой глюкозы всегда меньше скорости фосфорилирования глюкозы[125]. Интенсивность главных метаболических путей глюкозы зависит от структурно-функциональных особенностей отдельных тканей, Например, в эритроцитах человека и в печени животных отмечается наиболее высокая скорость транспорта глюкозы, превышающая примерно на порядок соответствующие величины в других тканях, вследствие чего, по-видимому, транспорт не ограничивает потребление глюкозы в печени. Лимитирующей реакцией в утилизации глюкозы в этой ткани служит фосфорилирование глюкозы. В мышечной и некоторых других тканях увеличение скорости гликолиза осуществляется за счет стимуляции поглощения глюкозы и активации гексокиназы с последующим окислением пирувата в цикле Кребса. Причем роль  $\text{H}$  пентозофосфатного пути в скелетных мышцах незначительна и не играет роли в продукции энергии. Эксперименты с меченой глюкозой показали, что у мышей и крыс через несколько часов после парентерального введения метки около 70% глюкозы окисляется до углекислоты, 12%, превращается в белок, 8% - в гликоген, 5%, - липиды и 5%, обнаруживается в моче в форме различных окисленных соединений. Следовательно, биосинтез аминокислот является главным путем промежуточного обмена глюкозы в нормальном организме.

Учитывая сказанное, дальнейшие экспериментальные исследования были посвящены изучению влияния "матхин" на транспорт глюкозы в мышечную ткань. Для этого в опытах *in vitro* определили потребление глюкозы диафрагмой и содержание в ней гликогена[117].

По этой причине в поиске возможного механизма влияния препарата основывались на наблюдаемых изменениях содержания глюкозы, гликогена, активности фосфорилаз и гексокиназы под действием "матхин".

Исходя из известных данных литературы о том, что транспорт глюкозы в клетки и ее потребление находится главным образом под контролем инсулина [117], мы решили провести дальнейшее изучение потребления глюкозы

диафрагмальной тканью под действием препарата с одновременным сопоставлением результатов с эффектом инсулина в аналогичных условиях опыта.

При этом было установлено, что в тканях животных, предварительно получавших "матхин" в течение 7 дней в дозе 25 мг/кг, убыль глюкозы из инкубационной среды была выражена более, чем в контроле. При добавлении инсулина в среду инкубации потребление глюкозы усиливалось в обеих группах, однако в опытной это повышение было больше, (табл.3.4.1.). В группе крыс с аллоксановым диабетом, которым ввели "матхин", потребление глюкозы эпидидимальной жировой тканью достоверно преобладало при добавлении инсулина в среду инкубации по сравнению с контрольной группой. Наблюдаемые различия эффектов на мышечную и жировую ткани вероятно связаны с тем, что в последнем случае препарат явно усиливает действия инсулина на потребление глюкозы.

Таблица 3.4.1

**Поглощение глюкозы мышечной тканью аллоксандиабетических крыс до и после введения "матхин" (мкмоль/г n=6)**

Варианты групп	Поглощение глюкозы из среды инкубации	
	без инсулина	с инсулином
Контроль	1,50±0,20	1,90±0,25
Опыт	3,01±0,28*	3,40±0,15*

\*-  $p < 0,05$

Таблица 3.4.2.

**Потребление глюкозы эпидидимальной жировой тканью аллоксан-диабетических крыс под влиянием инсулина и адреналина (мкмоль/г ткани, n=6)**

Варианты групп	Потребление глюкозы из среды инкубации		
	без инсулина	с инсулином	с адреналином

Контроль	1,27±0,05	1,90±0,13	0,59±0,04
Опыт	1,65±0,08*	4,00±0,23*	0,54±0,09*

\*-  $p < 0,05$

Хотя пути реализации эффектов "матхин" на перечисленные факторы в большинстве своем остаются неясными [117], некоторые из этих данных могут быть использованы для интерпретации механизма метаболического эффекта препарата. Нам представляется, что на основании опытов установленное усиление транспорта глюкозы в скелетных мышцах при одновременном сочетании с эффектом инсулина на активность фосфорилаз и гексокиназы, в определенной степени обусловлено реакцией тканей на инсулиноподобный эффект препарата [117]. Выяснение оказанного может помочь в понимании стимуляции мембранного транспорта глюкозы под влиянием "матхин". Аналогичный механизм лежит в основе регуляции инсулином ключевых ферментов гликолиза и глюконеогенеза, активация или ингибирование которых первично осуществляется при помощи гормонов. Усиление мембранного транспорта глюкозы [83], показывает, что "матхин" подобно инсулину усиливает в тканях потребление глюкозы, синтез гликогена, блокирует гликогенолиз, а также нормализует ряд тканевых процессов, вторичных по отношению к перечисленным его метаболическим эффектам. Таким образом, совокупность полученных экспериментальных данных сводится к тому, "матхин" в печени и мышечной ткани первично ускоряет транспорт глюкозы через цитоплазматическую мембрану с последующим накоплением глюкозо-6-фосфата, который активирует ферменты гликолиза с одновременным ингибированием фосфорилаз.

### **3.5. Влияние "матхин" на интенсивность глюконеогенеза в тканях печени в норме и при экспериментальном диабете**

В последние годы было проведено большое число экспериментальных работ [100, 113], посвященных выяснению состояния, интенсивности течения и гормонального контроля глюконеогенеза как у интактных животных, так и с печеночной патологией в изолированной перфузируемой печени. Глюконеогенез - синтез глюкозы из неуглеводных предшественников, главным образом из аминокислот и метаболитов промежуточного обмена веществ - является специфической функцией гепатоцитов и клеток коркового слоя почек [124]. Наиболее важной функцией глюконеогенеза является сохранение уровня глюкозы крови в условиях снижения потребления пищи и запасов гликогена. Глюконеогенез в печени человека увеличивается при метаболическом ацидозе, а также при голодании и диабете за счет распада мышечных белков. Вместе с тем глюконеогенез, как фундаментальный процесс, протекающий в печени и имеющий прямое отношение к углеводному обмену, недостаточно исследован в фармакобиохимическом аспекте при различных заболеваниях. Кроме того, изучение скорости образования глюкозы из неуглеводных соединений актуально, потому что глюконеогенез может служить источником дополнительных количеств глюкозы для энергообеспечения ряда существенно важных защитно-приспособительных явлений: компенсаторной гиперфункции сердца, пластических процессов (синтез, РНК, ДНК), особенно для активности мозга [67].

Существенным для данной работы является то, что гипогликемический эффект целого ряда пероральных антидиабетических препаратов сульфанилмочевины и бигуанидов связан с ингибирующим влиянием их на

процессы цАМФ зависимого фермента. Ферменты глюконеогенеза относятся к цАМФ зависимым, их состояние имеет важное значение в регуляции углеводного обмена.

Указанное выше, послужило основанием изучению глюконеогенной функции печени в условиях диабета под действием "матхин" (табл.3.5.1.).

Основными предшественниками образования глюкозы в печени являются глицерин, аминокислоты и лактат. Результаты опытов с перфузируемой печенью крысы указывают на то, что увеличение концентрации в плазме любого из этих предшественников, может приводить к стимуляции глюконеогенеза [103].

Наши опыты показывают, что у интактных животных глюконеогенез в ткани печени оцененный по приросту глюкозы в присутствии различных предшественников протекал одинаково[117].

Прирост новообразованной глюкозы независимо от характера субстрата, за исключением аланина, не превышал базального уровня.

Отсутствие заметного увеличения глюконеогенеза у интактных животных соответствует сведениям литературы [103], где показано, что аминокислоты (аспартат, глутамат), пропионат и др., а также метаболиты цикла Кребса (цитрат, сукцинат, лактат и  $\alpha$ -кетоглутарат) незначительно превышали контрольный уровень глюконеогенеза или совсем не влияли на его скорость, т.к. в срезах печени эксперименты по изучению скорости продукции глюкозы из индивидуальных предшественников проводились, как правило, при больших концентрациях субстратов и отражают максимальную скорость глюконеогенеза [84].

Таблица 3.5.1.

**Состояние глюконеогенеза в печени интактных крыс  
(мг глюкозы/1 г ткани/час, n=8)**

Варианты групп	Контроль	Опыт	Изменение в %	P
Без субстрата	0,566±0,060	0,488±0,490	-11	P >0,1
Аланин	0,622±0,041.	0,507±0,022	-18	P <0,05
Пируват	0,623±0,092	0,563±0,057	-9	P >0,5
Сукцинат	0,634±0,050	0,603±0,044	-5	P >0,5
Кетоглутарат	0,630±0,021	0,612±0,046	“3	P >0,5

В то же время в присутствии в инкубационной среде аланина показало достоверное снижение концентрации глюкозы (на 18%), по сравнению с крысами, не получавшими "матхин". Это связано с тем, что в норме аланин занимает особое место в поддержании уровня глюкозы, синтезируемой *de novo*, углеродный скелет которого в печени легко трансформируется в глюкозу. Возможно, под действием "матхин" несколько ограничивается участие аланина в глюконеогенезе.

Установленные результаты служили контролем при изучении действия "матхин" на скорость глюконеогенеза в условиях диабета. Из материалов таблицы 3.5.2. видно, что "матхин" способен угнетать скорость образования глюкозы из ее предшественников *de novo* в печени[117].

Как видно из таблицы, при введении препарата наблюдается заметное подавление глюконеогенеза, причем направленность изменений одинакова как без субстрата, так и с субстратом, особенно если в качестве субстрат использован аланин. Такое состояние представляет определенный интерес в свете роли аланина в углеводном обмене, считающегося ключевой аминокислотой в процессе глюконеогенеза[117].

Таблица 3.5.2.



**Состояние гликонеогенеза в печени крыс с диабетом при введении  
"матхин" (1 мг глюкозы/1 г сырой ткани/час, n=40)**

Варианты групп	Контроль	Опыт	Изменение в %	Р
Вез субстрата	0,572±0,054	0,412±0,048	-28	<0,05
Аланин	0,615±0,044	0,387±0,042	-37	<0,01
Пируват	0,650±0,066	0,562±0,058	-14.	>0,05
Сукцинат	0,632±0,038	0,502±0,052	-21	<0,05
Кетоглутарат	0,640±0,021	0,458±0,033	-28	<0,05

Известно, что гликонеогенное действие аминокислот в организме находится под жестким гормональным контролем, особенно инсулина, являющегося антагонистом адреналина в регуляции гликонеогенеза[117]. Инсулин является единственным гормоном, подавляющим образование глюкозы в организме, путем торможения всех ключевых ферментов гликонеогенеза [96]. Исходя из этих соображений, можно полагать, что ингибирующее воздействие "матхин" на гликонеогенез опосредуется через его действие на инсулин или глюкагон[117].

В этом плане совокупность представленных материалов свидетельствует о том, что ингибирование гликонеогенеза под действием "матхин" протекает при параллельной стимуляции чувствительности тканей к инсулину секретлируемого неповрежденными тканями при диабете или восстановлении под действием препарата гормон-рецепторного взаимоотношения при одновременном повышении утилизации глюкозы в тканях [117].

**3.6. Влияние "матхин" на интенсивность гликонеогенеза  
в условиях адреналиновой гипергликемии**

Известно, что при дефиците инсулина адреналин вызывает более высокую

гипергликемию и ослабляет потребление глюкозы в тканях [10, 18, 19]. Поэтому изучени эффекта адреналина у крыс, получавших в течение нескольких дней "матхин", представляет определенный интерес в интерпретации инсулиноподобного действия препарата, препятствующего продукции глюкозы, и таким путем блокирующего эффект адреналина на глюконеогенез[117].

Регуляция глюконеогенеза адреналином имеет некоторые особенности. В частности, у крыс адреналин стимулирует глюконеогенез в большей степени, чем глюкагон. Это связано с тем, что адреналин в отличие от глюкагона усиливает гликогенолиз в мышцах и продукцию лактата, одного из основных субстратов глюконеогенеза в печени [77, 79, 83]. Взаимодействие катехоламинов с адренорецепторами предопределяет последующую продукцию цАМФ, который опосредует гормональную стимуляцию глюконеогенеза [83].

В последнее время фармакологическим средствам, обладающим свойством ингибировать глюконеогенез, стали уделять особое внимание. Это связано с тем, что способность ингибировать продукцию глюкозы - залог эффективности потенциальных противодиабетических средств, обладающих гипогликемическим действием [2, 4, 5, 83].

Выше уже отмечалось, что "матхин" обладает наряду с гипогликемическим также антиглюконеогенным эффектом. Продолжением этих исследований было изучение влияния "матхин" на скорость глюконеогенеза в печени крыс, стимулированного введением адреналина (табл.3.6.1.)

Таблица 3.6.1.

**Образование глюкозы срезами печени из эндогенных источников при введении адреналина аллоксандиабетическим крысам, получавших "матхин" (в мг глюкозы/1 г ткани/1 час, n= 6)**

Варианты групп Без субстрата	Однократное введение	Трехкратное введение	Семикратное введение
I. контроль (интактные)	0,545±0,060	0,537±0,063	0,547±0,054
II. контроль + адреналин	0,666±0,043	0,618±0,049	0,635±0,082
III. матхин + адреналин	0,533±0,049	0,527±0,043	0,446±0,041

pII- III > 0,05    pII- III > 0,05    pII- III < 0,05

В условиях эксперимента без внесения экзогенных субстратов в инкубационную среду адреналин стимулирует образование глюкозы из эндогенных источников. Введение животным "матхин" не только тормозило образование глюкозы из тканевых субстратов, но даже снижало уровень его до контрольных величин. Это особенно хорошо заметно при введении препарата в течение 3-7 дней [117].

Результаты экспериментов, приведенные в табл. 3.6.2. подтверждают представление о том, что в печеночной ткани из предшественников неоглюкогенеза наиболее выгодным источником является аланин. Действительно, вклад аланина в субстратное обеспечение глюконеогенеза при введении адреналина намного превысило остальные источники, процентное выражение которого было больше почти на 50% контрольной величины. Распределение субстратов по их использованию в качестве источника глюкозы по степени убывания имело следующую последовательность: аланин > сукцинат > пируват > α-кетоглутарат. Эти данные находятся в соответствии с показанным в литературе значением субстратов в обеспечении глюконеогенеза в печени.

Как видно из табл.3.6.2., скорость образования глюкозы срезами печени

животных, подвергнутых действию двух факторов - "матхин" и адреналина, намного отстает по сравнению с таковой при введении только гормона. При этом длительное введение крысам [117] "матхин" приводило не только к значительному снижению интенсивности стимулированного глюконеогенеза адреналином, из все изучавшихся субстратов, но также к снижению скорости синтеза глюкозы из эндогенных предшественников (см. контроль при семикратном введении).

Таблица 3.6.2.

**Образование глюкозы срезами печени из различных субстратов при введении аллонсандабетическим крысам адреналина на фоне "матхин". (глюкоза мг на 1 г ткани/1 час. n=6)**

Субстраты	Варианты групп	Однократное введение	Трехкратное введение	Семикратное введение
Аланин	I контроль	0,622±0,061	0,613±0,041	0,675±0,044
	II контроль+	0,935±0,084	0,900±0,038	0,927±0,067
	адреналин	0,766±0,082	0,598±0,068*	0,541±0,048*
Пируват	I контроль	0,623±0,092	0,630±0,072	0,650±0,066
	II контроль+	0,705±0,064	0,673±0,036	0,712±0,065
	адреналин III матхин+	0,628±0,037	0,593±0,047	0,475±0,074*
Сукцинат	I контроль	0,637±0,050	0,620±0,050	0,632±0,038
	II контроль+	0,802±0,072	0,762±0,060	0,800±0,061
	адреналин	0,665±0,050	0,503±0,030*	0,572±0,043*
Кетоглу- тарат	I контроль	0,630±0,021	0,633±0,016	0,640±0,021
	II контроль+	0,660±0,057	0,652±0,047	0,670±0,042
	адреналин	0,622±0,040	0,528±0,047	0,554±0,051*

\*II - III - p<0,05

На основании этих данных можно полагать, что "матхин" обладает непосредственным тормозящим действием на глюконеогенез в печени.

Известно, что основным внутриклеточным медиатором глюконеогенеза в

гепатоцитах (и в клетках коркового слоя почек) является циклический с цАМФ. Он является универсальным регулятором метаболических процессов и, поэтому, анализ гормональной регуляции клеточных процессов сводится к выявлению взаимоотношений циклических нуклеотидов. Поэтому в эффекте "матхин" на глюконеогенез можно допустить отклонения в цАМФ регулируемом механизме действия адреналина [117].

Известно, что действие катехоламинов на метаболизм обусловлено взаимодействием их с двумя типами рецепторов [124] -  $\alpha$  и  $\beta$  адренорецепторами, которые, ингибируются  $\alpha$  и  $\beta$ -адреноблокаторами [39, 49]. Причем взаимодействие катехоламинов с  $\beta$ -рецепторами приводит к активации аденилатциклазы, вторым посредником в этом случае служит циклический 3'5'АМФ, а при взаимодействии с  $\alpha$ -рецепторами не приводит к активации аденилатциклазы и образованию цАМФ. Учитывая, что ц 3'5'АМФ является внутриклеточным активатором глюконеогенеза в печени, можно предположить наличие в эффекте "матхин"  $\beta$ -адреноблокирующего свойства. С другой стороны, адреналин является гормоном - антагонистом инсулина в отношении глюконеогенеза в печени [10, 19, 20]. Как уже говорилось выше, метаболические изменения глюкозы в печени под влиянием инсулина, внутриклеточный механизм которого, как считают в настоящее время, реализуется через активацию фосфодиэстеразы, приводящей к распаду 3'5' цАМФ [124] таким образом, гипогликемический эффект "матхин" складывается из его способности усиливать потребление глюкозы в мышечной ткани, угнетать глюконеогенез в печени, активировать фосфорилирование глюкозы гексокиназой и синтез гликогена, снижать распад гликогена фосфорилазой. Эти изменения сопровождаются стимуляцией липолитического распада триглицеридов с выбросом СЖК в кровь и возрастанием окисления жирных кислот в митохондриях.

Следовательно, в основе механизма действия "матхин" лежит гипогликемия, обусловленная сочетанием торможения глюконеогенеза и

усиления потребления глюкозы в периферических тканях. Ингибиторами глюконеогенеза являются также сульфаниламиды и бигуаниды, широко применяемые в клинике как средства пероральной терапии диабета. При исследовании метаболизма меченой  $C^{14}$  глюкозы в организме больных диабетом людей установлено, что бигуаниды понижают гликемию главным образом путем подавления глюконеогенеза без заметного влияния на скорость элиминации глюкозы из кровотока [10,17,79,93]. Механизм действия производных сульфанилмочевины связан со стимуляцией ими бета клеток поджелудочной железы, сопровождающейся мобилизацией и усилением выброса эндогенного инсулина[123,63], В тех случаях, когда имеется выраженный дефицит инсулина в организме, эти средства неэффективны, т.е. терапевтические действия их проявляются только при наличии в поджелудочной железе функционально активных бета клеток. Механизм потенцирующего влияния сульфаниламидов на действие инсулина[122] полностью не выяснен. По всей вероятности он не однозначен. В противоположность препаратам сульфанилмочевины и инсулину, производные бигуанидов оказывают почти исключительно периферическое действие. Помимо их сахароснижающего действия они обладают отчетливым гипополипидемическим эффектом, что проявляется в снижении синтеза и эстерификации жирных кислот, холестерина, триглицеридов и бета-липопротеидов в сочетании с прямым липолитическим действием [32]. Все эти свойства и восстановление чувствительности периферических тканей к инсулину [121] имеют место и при проявлении сахароснижающего действия нашего препарата, и, что очень важно, не вызывает гипогликемии. Результаты наших исследований и теоретические предпосылки с достаточной аргументацией позволяют рассматривать "матхин" как эффективное антидиабетическое средство, абсолютно нетоксичное при пероральном использовании.

### **3.7. Влияние “матхин” на содержание холестерина, свободных жирных кислот и триглицеридов в норме и при экспериментальном диабете**

Метаболизм глюкозы в организме контролируется прежде всего субстратными факторами. В [81] регуляции активности ферментов гликолиза в организме важную роль играют свободные жирные кислоты (СЖК). Взаимодействие жирных кислот и глюкозы осуществляется в глюкозо-жирнокислотном цикле Рэндла, направленность которого определяется величинами концентрации и утилизации его субстратов. При уменьшении концентрации глюкозы в плазме крови происходит мобилизация жирных кислот из жировой ткани в результате усиления липолиза, что приводит к увеличению содержания жирных кислот в плазме и их окислению в мышцах и других тканях, участвующих в данном цикле. В итоге, в этих тканях повышается утилизация глюкозы и повышается ее концентрация в плазме, вследствие чего в жировой ткани утилизация глюкозы усиливается, а мобилизация жирных кислот уменьшается [120]. Цикл функционирует без участия гормонов, однако гормоны могут изменять соотносительность реакций цикла посредством модификации концентрации глюкозы или жирных кислот [120]. При высокой скорости окисления жирных кислот происходит накопление ацетил-КоА и цитрата и снижение активности гексокиназы. Таким образом, жирные кислоты блокируют гликолиз на уровне всех ключевых этапов его регуляции [1, 2, 6, 19, 94, 95]. Освобожденные жирные кислоты, согласно рассмотренному механизму цикла Рэндла, тормозят утилизацию глюкозы, т.е. гликолиз и окисление глюкозы в цикле Кребса в различных тканях, в печени кроме того, стимулируют глюконеогенез и синтез кетоновых тел [44].

Таким образом, переключение биоэнергетики организма на жирные кислоты, вызванное дефицитом внутриклеточной глюкозы, сопровождается

усилением продукции глюкозы в печени и более экономным расходом ее в других тканях[120]. Для проверки возможного переключения обмена веществ на аэробный путь, в котором в основном используются жирные кислоты, нами изучено содержание свободных жирных кислот в крови под действием "матхин".

Липидный обмен при сахарном диабете претерпевает значительные изменения, характерными показателями которого является повышение содержания в сыворотке крови СЖК,  $\beta$ -липопротеидов, фосфолипидов и триглицеридов. Гиперлипопротеидемия - постоянный признак сахарного диабета и рассматривается как, основной фактор риска диабетических ангиопати. Как видно из цифровых показателей, приведенных в табл.3.7.1, в условиях диабета имеет место повышение липолиза в тканях, приводящего к увеличению содержания СЖК в крови, при одновременном снижении количества триглицеридов[81].

Таблица 3.7.1.

**Содержание СЖК, триглицеридов и холестерина в сыворотке крови диабетических крыс до и после многократного введения "матхин"**

Варианты групп	СЖК ммоль/л	Триглицериды ммоль/г	Холестерин мг%
Норма	0,63+0.07	1.54+0.03	162+7,0
Контроль (диабет)	(n=10)	(n=10)	(n=10)
Опыт (диабет +матхин)	0,92+0,02*	1,35+0,02*	156±8,0
	(n=14)	(n=15)	(n=17)
	1,17+0,02*	1,40+0,04	166+6,0
	(n=15)	(n=14)	(n=14)

\* -  $p < 0,01$

Введение на этом фоне "матхин" в течение 7 дней способствовало дальнейшему возрастанию уровня СЖК (на 27%,  $p < 001$ ) в крови. Уровень триглицеридов и холестерина при этом оставался без изменений[81].



Обнаруженный факт в принципе можно объяснить двояко: увеличение СЖК могло быть обусловлено высокой скоростью распада триглицеридов, т.е. мобилизацией нейтральных липидов в тканях, вызванной возрастанием липолиза, или же подавлением скорости  $\beta$ -окисления жирных кислот при нормальном липолизе. Учитывая сведения литературы [81,102,103], о том, что степень утилизации субстратов тканями [81] находится в прямой зависимости от их концентрации в крови, можно думать, что наблюдаемое явление вряд ли связано с подавлением под действием "матхин" окислительного превращения жирных кислот [81].

Тем более, что диабет характеризуется высоким уровнем превращения жирных кислот в тканях [18,81], способствующим возникновению кетонемии. Вероятнее всего данный феномен является результатом прямой или косвенной стимуляции липолиза триглицеридов в печени и жировой тканях. Такое допущение предполагает возрастание доли углеводистых субстратов в энергетическом балансе тканей, и соответственно, снижение окислительного превращения СЖК. Такое объяснение исходит из того, что бигуаниды стимулируя липолиз, уменьшают потребность в избыточной продукции инсулина поджелудочной железой, влияют на пострецепторные механизмы действия инсулина, приводя к улучшению обмена углеводов в организме [1,2,6,19,94,95].

Отсюда можно предположить, что "матхин" обладает липолизстимулирующим свойством, но он является вторичным по отношению к его сахароснижающему эффекту[81].

В утилизации глюкозы в отдельных тканях ряд гормонов обладает противоположным инсулину действием. Учитывая это, нами изучались также потребление глюкозы эпидидимальной жировой тканью диабетических животных в опытах *in vitro* на фоне стимуляции гликогенолиза адреналином. Такая постановка эксперимента ответит на вопрос связан ли эффект "матхин" на липолиз с его прямым влиянием на жировую ткань или он опосредуется

через действие контринсулярных гормонов.

Таблица 3.7.2.

**Влияние адреналина на потребление глюкозы и скорость липолиза  
в жировой ткани у крыс при диабете под действием "матхин"  
в опытах *in vitro* (n=8)**

Варианты групп		Без инсулина	С инсулином
Потребление глюкозы в мкмоль/г	Контроль	1,27±0,05	1,90±0,13
	Опыт	1,65±0,08	4,00±0,23
Липолиз в мкэкв/г	Контроль	2,24±0,09	0,98±0,05
	Опыт	3,92±0,19	0,95±0,03

Примечание. За 20 мин до забоя крысам введен адреналин в виде 0,7-0,8 мл/кг живой массы.

С этой целью были проведены опыты с глюкозой с инкубацией жировой ткани диабетических крыс, предварительно за 20 мин до забоя получивших адреналин в дозе 0,7-0,8 мг/кг живой массы [117]. При этом нами не наблюдалось увеличение СЖК в инкубационной среде, что свидетельствует о прямом эффекте "матхин" на жировую ткань без посредства контринсулярных гормонов, (табл.3.7.2). Как выше было показано, "матхин" совместно с инсулином способствует увеличению поглощения глюкозы жировой тканью более чем в 2 раза, хотя сам инсулин, как видно в контроле, тоже достоверно повышает транспорт глюкозы в жировую ткань. Это говорит о том, что "матхин" потенцирует эффект инсулина в жировой ткани.

Возможно, этим объясняется отсутствие действия адреналина на жировую ткань на фоне введения "матхин". Анализируя влияние "матхин" на жировую ткань крыс с диабетом в опытах *in vitro*, следует признать, что "матхин" потенцирует действие инсулина.

### **3.8. Влияние "матхин" на уровень инсулина и С- пептида в крови в норме и в условиях гипергликемии адреналинового и аллоксанового происхождения**

Выше нами было высказано предположение о том, что под действием "матхин" снижение сахара в крови и подавление интенсивности глюконеогенеза осуществляется путем ускорением транспорта глюкозы через плазматическую мембрану и обуславливает инсулиноподобный эффект препарата, возможно, опосредованный через усиление секреции инсулина в  $\beta$ -клетках островков Лангерганса поджелудочной железы. Поэтому в следующей серии исследований нами были определены содержание инсулина и С-пептида в крови методом радиоиммунного анализа у крыс, получавших "матхин" в указанный дозировке в норме и на фоне введения контринсулярного гормона адреналина. В предыдущей серии опытов было установлено, что как при адреналиновой гипергликемии, так и при аллоксановом диабете препарат демонстрирует примерно равную гипогликемическую активность, тогда как на нормальный уровень глюкозы крови он не действует. Сравнительная оценка гипогликемической активности "матхин" и применяемых в клинике пероральных сахароснижающих препаратов "манинила" и "адебита" показала, что на модели алиментарной гипергликемии "матхин" не уступает по активности указанным препаратам[119]. Тогда как, в условиях аллоксанового диабета, где возможность синтеза инсулина резко ограничена вследствие разрушения  $\alpha$ -клеток аллоксаном, оценка инсулин секретирующего влияния "матхин" на поджелудочную железу объективно затруднена, хотя известно, что организм крысы чрезвычайно устойчив к действию неблагоприятных факторов среды и недостаткам рациона. Более того, даже при диабете средней тяжести часть животных быстро приспосабливается к условиям опыта, следствием чего является слабое возрастание содержания глюкозы в крови, [119] т.е.

проявляется устойчивость глюкозного гомеостаза. Известно, что аллоксан действует на  $\beta$ -клетки поджелудочной железы угнетая их сульфгидрильные группы, играющие ключевую роль в глюкозависимой секреции инсулина [1, 2, 6, 19, 94, 95]. Можно предположить, что в ранние сроки аллоксанового диабета оахароснижающее действие "матхин" не опосредовано через секрецию инсулина бета-клетками. Такое состояние вероятнее всего, является следствием использования глюкозы в окислительном обмене. Правомочность такого допущения подтверждается еще и тем, что гипогликемический эффект "матхин" также имеет место и на фоне введения адреналина, ограничивающего синтез гликогена в мышцах [119]. Следовательно, в основе гипогликемического действия "матхин" лежит не только ингибирование глюконеогенеза, но и стимуляция гликолитического и окислительного обмена глюкозы в тканях, что может протекать при непосредственном участии гормонального компонента – инсулина [119]. Для проверки данного предположения в этой серии использовали модель адреналиновой гипергликемии. При этом животным скармливали препарат "матхин" за 4 часа до контрольного взятия крови; адреналин вводили (50 мкг/кг) за 1 час и после взятия крови на первый анализ процедуру повторяли.

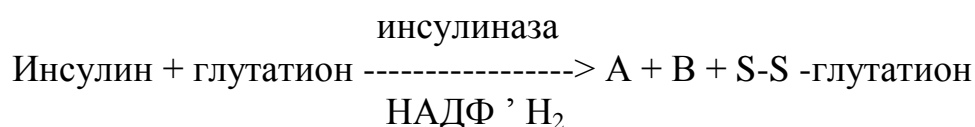
Перед опытом по методике крысы голодали в течение 24 часов. За это время у них почти полностью расходуется гликоген печени, и вызванная введением адреналина на этом фоне гипергликемия связана, в основном, с распадом гликогена в мышцах и частичной активацией глюконеогенеза [19], параллельно отмечается ингибирование гликогенсинтазы [48, 88].

Отсюда вытекает, что выявленный нами выше сахароснижающий эффект "матхин" на модели адреналиновой гипергликемии является следствием стимуляции гликолиза и подавления новообразования глюкозы в печени в результате ингибирования процесса глюконеогенеза.

В настоящее время одновременное определение содержания инсулина и С-пептидом служит мерилем уровня секреции и печеночной экскреции

инсулина [10, 45]. Как выяснилось в последнее время, оценка секреции инсулина путем определения его уровня в плазме оказалась ненадежной. Такое отношение сложилось ввиду имеющейся значительной и весьма вариабельной экстракции инсулина печенью. Поскольку известно, что С-пептид и инсулин секретируются бета-клетками в эквимолярной концентрации и, что С-пептид не экстрагируется печенью в значительных количествах, стали широко использовать определение С-пептида в периферической крови для оценки эндогенной секреторной активности бета-клеток [118, 11]. В условиях нашего опыта введение "матхин" способствовало достоверному возрастанию уровня инсулина в крови, подъем которого находился в зависимости от количества вводимого препарата (табл.3.8.1.)[117].

Аналогичная направленность имела место и в отношении количественного изменения С-пептида, только с разницей, превышающей контрольные величины более чем в два раза. Выраженное нарастание уровня С-пептида по сравнению с инсулином является убедительным доказательством стимулирования секреции инсулина под влиянием [117] "матхин". Следовательно, обнаруженные нами гликемические изменения, вызванные изучаемым препаратом обусловлены стимуляцией эндогенной секреции инсулина. Несовпадение количественного уровня инсулина и С-пептида, очевидно, следует отнести к расщеплению инсулина в печени ферментом [117] инсулиназой [45]. Инсулиназа является НАДФ \*Н<sub>2</sub> - зависимой глутатион - инсулин - трансдегидрогеназой, восстанавливающей дисульфидные мостики инсулина и окисляющей цистеиниловые остатки глутатиона [95, 100, 101]. В результате этой реакции инсулин распадается на А и В цепи, а глутатион переходит в окисленную, дисульфидную форму S-S-глутатион по следующей реакции:



**Влияние "матхин" на уровень инсулина и С-пептида в крови  
у крыс в норме ( контроль - без введения, опыт - с введением  
"матхин"; n=10)**

Показатели	Инсулин в мкЕД/мл		С-пептид в пг/мл	
	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
1.Одно-кратно	10,55±1,58	11,87±1,38	0,44±0,14	0,47±0,09
2.Трех-кратно	11,82±1,92	13,08±2,23	0,49±0,13	0,53±0,28
3. Семи-кратно	10,07±2,08	17,06±2,14*	0,45±0,10	0,92±0,17*

\* -  $p < 0,05$

Поэтому, соотношение С-пептида к инсулину, если принять условно равным 1 в контроле, то под действием "матхин" оно возросло до 1,22 при многократном введении.

В свете полученных результатов можно допустить, что возможным посредником в реализации метаболического эффекта "матхин" на внутриклеточном уровне является инсулин[117].

То обстоятельство, что адреналин является антагонистом инсулина в регуляции транспорта глюкозы, глюконеогенеза, липолиза, синтеза гликогена и белка, было заманчиво проследить за изменением уровня инсулина и на фоне адреналиновой гипергликемии. В специальных экспериментах было показано что при введении адреналина в количествах, создающих физиологический стресс, гипергликемия сопровождалась снижением утилизации глюкозы и секреции инсулина. В наших опытах (табл.3.8.2.) после введения адреналина, действительно, имело место снижение уровня инсулина

в крови, но оно было статистически недостоверным[117]. Поэтому обнаруженное только с введением адреналина уменьшение инсулина и С-пептида можно рассматривать как тенденцию к снижению.

Таблица 3.8.2.

**Влияние "матхин" на уровень инсулина и С-пептида в крови у крыс с адреналиновой гипергликемией. (n=8)**

Показатели	Инсулин в мкЕД/мл		С-пептид .в пг/мл	
	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
1. Одно-кратно	9,38±1,23	9,00 ± 1,38	0,23±0,13	0,45±0,10
2.Трех-кратно	9,20±1,10	12,16±1,81	0,32±0,11	0,58±0,11*
3.Семи-кратно	9,93±0,99	16,88±2,29*	0,27±0,15	0,79±0,14*

Примечание. -  $p < 0,05$  Контроль - введение адреналина.

Опыт - адреналиновая гипергликемия + "матхин"

В то время как в условиях гипергликемии, сочетанной с введением "матхин" количества как инсулина, так и С-пептида возросли соответственно на 80% и 155% по сравнению с контролем.

Сравнивая показатели, приведенные в 3.8.1. и 3.8.2., нетрудно заметить, что эффект адреналина на секрецию инсулина не проявляется при сочетанном введении его с "матхин". Поскольку инсулин не изменяет концентрацию цАМФ и активность цАМФ зависимой протеинкиназы [45, 100], отсутствие эффекта адреналина при сочетанном введении следует интерпретировать как полную блокаду его действия "матхин" -ом на  $\alpha$ -адренорецептор и цитоплазматическую аденилат-циклазу[117]. Результаты этой серии экспериментов в условиях адреналиновой гипергликемии убедительно свидетельствуют об ингибирующем действии препарата на проявление физиологического эффекта адреналина[117]. "Матхин" в зависимости от концентрации частично или полностью ингибировал глюконеогенез,

способствовал утилизации глюкозы путем стимуляции гексокиназы, ограничивал распад гликогена, т.е. те стороны обмена, которые в естественных условиях ингибируются адреналином[117]. Осуществление этого возможно, как нами было подчеркнуто выше, только при наличии функционирующих бета-клеток и поступлении физиологически активного инсулина в циркуляцию за счет стимуляции его выброса, высвобождения из связанного с транспортными белками крови состояния или повышении чувствительности тканей к инсулину вследствие увеличения числа рецепторных мест на мембране инсулинчувствительных тканей.

### **3.9. Некоторое соображение о возможном биохимическом механизме действия "матхин" на обмен глюкозы**

Основной метод лечения больных сахарным диабетом - диета, инъекции инсулина, применение перорально производных сульфанилмомевины и бигуанидов [20 21]. Фитотерапия является дополнительным методом. Такое состояние обусловлено тем, что биологическая активность лекарственных растений сравнительно слабая, у большинства не установлено сахароснижающее химическое начало, не представляется возможным их классифицировать по гипогликемическим составным частям. Преимущества применения сахароснижающих растений перед инсулином и синтетическими препаратами зависят от трех факторов, а именно отсутствие нетоксичности, кумуляции и противопоказаний [1, 2, 6, 8]. Учитывая это, важным является установление и изучение веществ, обладающих сахароснижающими свойствами. Исследуемый нами препарат "матхин" по своей природе относится к биогенным веществам, извлекаемым из слюнного секрета тутового шелкопряда. По химическому составу относится к гликопротеидам. Последнее свойство является весьма важным для перорального приема



препарата, ибо гликопротеины очень устойчивы к воздействию кислот и не подвергаются гидролизу в среде, какова является желудочный сок, человека (рН = 1,5-2,0). Предварительный анализ химического состава показал, что углеводная, часть "матхин" - состоит из полисахарида, а белковая часть - из аминокислот, среди которых преобладают аминокислоты основного характера аргинин, лизин, гистидин, а также имеется повышенная концентрация микроэлементов - меди, марганца и др. Словом, "матхин" является сложным природным соединением, подлежащим тщательному химическому изучению с применением современных методов химического анализа.

Существует мнение, что действующим началом в растениях семейства бобовых (стручки фасоли) является гуанидин, аминокислоты, обладающие гипогликемическим действием [6, 9, 15, ]. 4/. Из стручков фасоли обыкновенной получен комплекс (глифазин), обладающий сахароснижающей активностью. Предполагают, что активность глифазина обусловлена наличием хромонового кольца в соединениях, относящихся к классу флавонола и изофлавонона, а также содержанием аминокислотных остатков, особенно гуанидина и его производных [132]. В галеге лекарственной (козлятник аптечный) обнаружен галегин, положивший начало гуанидиновой группе (бигуаниды и их производные) противо- диабетических препаратов. Гуанидинсодержащие препараты являются сильными основаниями ( $-\text{NH}_2^+$ ), где глюкоза спонтанно превращается во фруктозу или маннозу. Для усвоения этих сахаров не требуется инсулин, что может косвенно снижать потребность организма в экзогенном инсулине. С другой стороны, являясь промежуточным продуктом биосинтеза мочевины, они могут действовать подобно препаратам [130] сульфамочевины [51, 52]. Многие лекарственные растения гипогликемического действия (женьшень, элеутерококк, лимонник, аралия) подобно инсулину, обладают способностью повышать уровень гуанидинмонофосфата в печени и мышцах у животных. Между количеством групп гуанидина в инсулине и

уменьшением его эффекта имеется корреляционная связь. При блокировании основных групп молекулы инсулина через лизин и гистидин образуется гуанидиновая группа аргинина. Вещества животного и растительного происхождения, такие как креатин и аргинин, содержащие группу гуанидина и снижающие содержание сахара в крови экспериментальных животных названы гликокининами. Химизм гликокининов не изучен, возможно, это пептиды, содержащие серу или аргинин; подобно галегину, полученному из стручков фасоли. Гликокинины растворимы в воде, в 75% -ном спирте, они, хотя не воспроизводят все эффекты инсулина, но при сахарном диабете способны уменьшать содержание сахара в крови. Особый интерес в аспекте влияния на углеводный обмен представляют аминокислоты, которые находятся в большом количестве в растительном сырье. В частности, лейцин повышает активность инсулина плазмы крови, действует содружественно с ним, высвобождая из связанного с белком состояния [72, 78]. Изучение морфофункциональных изменений инкреторного аппарата поджелудочной железы показало, что у гвинейских свинок, получавших препараты козлятника лекарственного, имеющего в своем составе гуанидиновые группы, в панкреатических островках увеличивается количество бета-клеток. Препараты элеутерококка снижают уровень сахара в крови при алиментарной и адреналиновой гипергликемии, повышают проницаемость клеточных мембран для глюкозы, увеличивают активность гексокиназы, а профилактическое его введение препятствует развитию аллоксанового диабета у крыс и уменьшает угнетающее действие аллоксана на потребление глюкозы изолированной диафрагмой крыс в опытах *in vitro* [47, 52]. Таким образом, антидиабетический эффект большинства растений связан с наличием в их составе основных аминокислот, что определяет их активность. Поэтому мы вправе в определенной степени объяснить гипокликемическое действие "матхин" содержанием в нем большого количества щелочных аминокислот с гуанидиновой группой.

В последние годы привлекает внимание изучение сахароснижающих свойств полисахаридов растений. Фитохимический анализ лекарственного сырья из ганодермы блестящей показал наличие двух активных начал - пептидогликанов /109/, которые состоят из 55,1% полисахаридов и 44,4% пептидной фракции, в другом случае ганодеран содержал 72,5% полисахаридной и 25,5% - пептидной фракции .

По данным авторов [71, 72, 78]. ганодераны усиливают утилизацию глюкозы, повышают уровень инсулина в плазме, стимулируют активность гликолитических ферментов и метаболизм глюкозы в печени. При этом уровень холестерина и триглицеридов в плазме и печени оставались неизменными. Полисахариды женьшеня (панаксаны А и В) оказали ингибирующее влияние на глюкозо-6-фосфатазу, стимулировали глюкозо-6-фосфатдегидрогеназу и фосфофруктокиназу, потенцировали секрецию инсулина поджелудочной железой *in vivo*. Интересные результаты были получены при внутривенном введении кроликам экстракта полисахаридных и белковых фракций *niman-halia-elongata*, значительно понижающих содержание глюкозы в крови. Полисахаридная фракция (в дозе 5 мг/кг) снижала концентрацию глюкозы в крови у здоровых кроликов на 18%, с аллоксановым диабетом - на 50%, а белковые фракции (в дозе 200 мг/кг) на 30% при диабете. В институте Эндокринологии АН РУ под руководством проф.Абидова А.А. из листьев белой шелковицы выделен полисахарид, снижающий уровень сахара при диабете [1, 2, 4, ].

Из приведенных выше данных видно, что антидиабетическим действием обладают множество растений. В данном разделе мы остановились на тех растениях, действующее начало которых по химическому составу приблизительно сходно с изучаемым нами препаратом. Ни в одной работе не раскрывается механизм гипогликемического эффекта растительных средств. Положительное влияние почти всех препаратов растительного происхождения оценивается по их сахароснижающему эффекту. Знание

сказанного необходимо не только для уточнения точек приложения препарата в цепи, клеточного метаболизма, но и важно для правильной оценки состояния инсулинсекретирующей способности поджелудочной железы с целью использования препарата при различных формах диабета.

Как указано в обзоре литературы, для лечения сахарного диабета II-типа (инсулинезависимая форма) в основном используются пероральные препараты сульфаниламочевина и бигуанидов. Содержащиеся в их составе химические структуры, такие, как сульфаниламочевина ( $-SO_2-NH-CO-NH-$ ) и гуаниды ( $-NH_2-NH-NH_2-$ ) обуславливают секрецию инсулина. Именно по этой причине эти вещества не эффективны при инсулинодефицитном диабете (I тип). Однако терапевтическое действие их проявляется только в присутствии достаточного количества инсулина в организме. В тех случаях, когда имеется выраженный дефицит инсулина, эти средства неэффективны. В этом отношении "матхин" отличается от сульфаниламидов, т.е. мы имеем возможность проследить его сахароснижающее действие в ранние сроки развития аллоксанового диабета, где из-за органотропного разрушения бета-клеток аллоксаном значительно подавлена возможность биосинтеза инсулина. Поэтому на этом фоне введение препарата сульфаниламочевина "манинил" не привело к заметному изменению секреции инсулина по сравнению с "матхин". Исходя из наших результатов, где снижение глюкозы под действием "матхин" протекает при отсутствии накопления гликогена, можно думать, что "матхин" способствует использованию глюкозы и в условиях значительного дефицита инсулина. Подобное состояние может проявляться в результате параллельного стимулирования как гликолиза, так и гликогенолиза. Наблюдаемое нами снижение уровня глюкозы в крови имело место на фоне падения активности тканевой фосфоорилазы, приводящее к ограничению распада гликогена. Однако, способ проявления этого механизма на данном этапе исследования "матхин" остается открытым.

С другой стороны стимуляция гексокиназы в условиях нашего опыта

свидетельствует о ресинтезе глюкозо-6-фосфата. Это является прямым доказательством использования глюкозы в качестве источника энергии, так как гексокиназная реакция является определяющим фактором скорости гликолиза [66, 71, 94]. Первичным лимитирующим звеном в этих реакциях остается транспорт глюкозы, зависящий от инсулина, ибо при отсутствии инсулина поток переносимой глюкозы внутрь клеток всегда меньше, чем скорость ее фосфорилирования гексокиназой [125, 45, 100]. Сравнительное влияние "матхин" и инсулина на транспорт глюкозы в мышечную ткань [117] убедили нас в том, что "матхин", как и инсулин, обладают стимулирующим действием на потребление глюкозы диафрагмой [117]. Поскольку "матхин" животные получали предварительно, данные этой серии экспериментов можно интерпретировать как результат инсулиноподобного эффекта препарата или он осуществляется через потенцирование инсулинчувствительных тканей к действию препарата. Совокупность этих данных можно представить таким образом, что "матхин" в печени и мышечной ткани подобно инсулину первично ускоряет транспорт глюкозы через плазматическую мембрану с последующей активацией цитозольной гексокиназы с образованием большого количества глюкозо-6-фосфата, который стимулирует гликолиз с одновременным ингибированием превращения фосфоорилазы В в ее активную форму - фосфоорилазу А. Из результатов влияния "матхин" на интенсивность глюконеогенеза в ткани печени с использованием различных глюконеогенных субстратов следует, что "матхин" способен угнетать скорость образования глюкозы из ее предшественников в печени, [117] что особенно выражено по отношению к аланину. Известно, что инсулин подавляет образование всех ключевых ферментов глюконеогенеза [128]. С другой стороны, для понимания гипогликемического эффекта препаратов сульфаниламидов и бигуанидов существенным является их ингибирующее влияние на активность цАМФ зависимых ферментов, к которым относятся ферменты неоглюкогенеза [117].

Исходя из этих соображений., можно полагать, что ингибирующее действие "матхин" на глюконеогенез опосредуется через секрецию инсулина.

Действительно, оценка секреции инсулина путем определения его уровня и С-пептида в плазме показала достоверное возрастание их уровня в крови. Выраженное нарастание уровня С-пептида по сравнению с инсулином убедительно доказывает стимулирующее действие "матхин" на секрецию инсулина[117]. Следовательно, можно полагать, что инсулин является возможным посредником в реализации метаболического эффекта "матхин" на внутриклеточный обмен [117]. Ввиду того, что адреналин является антагонистом инсулина в регуляции транспорта глюкозы, глюконеогенеза, липолиза представляет определенный интерес проследить состояние выше изученных показателей в условиях экзогенного введения адреналина. Такая постановка эксперимента связана в выяснением роли контринсулярных гормонов в проявлении инсулиноподобного эффекта "матхин" на обмен глюкозы. При этом введение адреналина животным, предварительно получавшим "матхин" не только не привело к возрастанию уровня глюкозы и активности фосфоорилазы, а наоборот, способствовало противоположному эффекту. Следовательно, "матхин" блокировал гликогенолитический эффект адреналина. Имеются указания о том, что при дефиците инсулина извне введенный адреналин вызывает более высокую гипергликемию и слабее стимулирует потребление глюкозы в тканях [84, 93, 114, 45]. Возможно, в условиях нашего опыта "матхин", стимулируя секрецию инсулина бета-клетками, препятствует гипергликемическому эффекту адреналина. У крыс адреналин стимулирует глюконеогенез в большей степени, чем глюкагон. Взаимодействие катехоламинов с адренорецепторами предопределяет последующую продукцию цАМФ, который опосредует гормональную стимуляцию глюконеогенеза [81, 83]. Выше было отмечено, что "матхин" обладает свойством блокировать неоглюкогенез. Продолжением этих исследований было изучение влияния "матхин" на скорость глюконеогенеза в

печени крыс, стимулированного экзогенным введением адреналина. При этом установлено, что образование глюкозы глюконеогенным путем в срезах печени, подвергнутых действию одновременно "матхин" и адреналина, намного меньше, чем при введении только одного гормона. Учитывая это, можно предположить, что в эффекте "матхин" очевидно имеется в-адреноблокирующее свойство, приводящее к ингибированию аденилатциклазы мембран, и соответственно, образование цАМФ. Следовательно, гипогликемический эффект "матхин" обусловлен сочетанием торможения глюконеогенеза и усиления потребления глюкозы в периферических тканях.

Метаболизм глюкозы в организме контролируется субстратными факторами, прежде всего свободными жирными кислотами[81]. Липидный обмен при сахарном диабете характеризуется повышением СЖК в сыворотке крови[81]. Введение на этом фоне "матхин" привело к дальнейшему возрастанию уровня СЖК, оставляя без изменений уровень триглицеридов и холестерина[81]. Данный феномен явился результатом стимуляции липолиза в печени и жировой ткани. Высокое содержание СЖК влияет на пострецепторные механизмы действия инсулина, приводя к возрастанию доли участия углеводистых субстратов в энергетическом балансе тканей за счет сбалансированной доли окислительного превращения СЖК. Такая интерпретация имеет свою аналогию в механизме действия бигуанидов, где они стимулируя липолиз, уменьшают потребность в избыточной продукции инсулина поджелудочной железой[81].

Отсюда следует, что "матхин" одновременно стимулируя мобилизацию СЖК переключает биоэнергетику организма частично на жирные кислоты и более экономичное расходование глюкозы в тканях.

Таким образом, суммируя вышеизложенные результаты можно считать, что гипогликемический эффект "матхин" складывается из его способности усиливать потребление глюкозы в мышечной ткани, угнетать глюконеогенез в

печени [117], активировать фосфорилирование глюкозы гексокиназой, снижать распад гликогена путем блокировки гормонального контроля фосфорилаз при одновременном усилении липолиза в жировой ткани с возрастанием уровня СЖК в крови.

Таблица 3.9.1.

**Сравнительное действие "матхин", инсулина, производных сульфанилмочевины и бигуанидов на показатели углеводно-липидного обмена при диабете. (По нашим результатам и данным литературы)**

Показатели	Инсулин	"Матхин"	Сульфанил-мочевина	Бигуаниды
1	2	3	4	5
1.Уровень глюкозы	—	—	—	—
2.Транспорт глюкозы	+	+	+	+
3.Глюконеогенез	—	—	—	—
4.Гликогенез	+	±	+	+
5.Гексокиназа	+	+	+	+
6. Фосфорилаза	—	—	—	±
7. СЖК	—	+	—	+
8.Липолиз	—	+	—	+
9. Триглице-	+	±	+	±
10.Эффект адреналина	—	—	—	—

Примечание: - - - подавление

+ — активирование

± -- эффект отсутствует или незначителен



Изложенные материалы позволяют утверждать, что метаболический эффект "матхин" на превращение глюкозы осуществляется главным образом путем периферической стимуляции транспорта глюкозы через клеточные мембраны с последующим повышением ее потребления. Стимулируя липолиз, "матхин" уменьшает потребность в избыточной продукции инсулина поджелудочной железой [81]. Наличие в организме умеренного количества эндогенного или экзогенного инсулина служит основой его механизма действия на обмен веществ. Все эти свойства способствуют уменьшению сахара в крови, восстановлению чувствительности периферических тканей к инсулину, и, что очень важно, не вызывает гипогликемии (табл.3.9.1.). Наши результаты исследования и их анализ с достаточной аргументацией позволяют рассматривать "матхин" как новый пероральный гипогликемический препарат биогенной природы и рекомендовать его в условиях нарушения углеводного обмена, протекающего в виде инсулиннезависимого сахарного диабета (II-тип).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленная работа посвящена выяснению метаболической основы сахароснижающего действия нового отечественного перорального препарата "матхин", разрешенного Фармакологическим Комитетом для использования в терапии сахарного диабета. Однако, несмотря на благоприятное влияние препарата на течение патологического процесса, мы не располагаем сведениями о взаимодействии препарата с внутриклеточными обменными превращениями, способствующими проявлению его биохимического эффекта. Исходя из этого, мы задались целью выяснить некоторые стороны биохимии сахароснижающего эффекта "матхин" путем изучения состояния углеводного обмена, главным образом, глюкозы. Выбор обменного изменения глюкозы в качестве показателя направленности метаболических процессов клетки обусловлен тем, что изучая отдельные звенья ее включения в метаболизм, можно оценить не только вклад углеводов субстратов в балансе энергии организма при действии лекарственного препарата, но и попытаться найти связь протекающих реакций с ее гормональным контролем, в частности, с участием гормонов поджелудочной железы.

Основным объектом наших исследований явилась ткань печени и мышц. Одной из ведущих метаболических функций печени является выработка глюкозы и ее утилизация в виде гликогена. Согласно данным, увеличение продукции глюкозы печенью связано с активацией в ней ферментов глюконеогенеза. Нами установлено, что "матхин" вызывает достоверное снижение гликогена в тканях печени и мышц интактных животных, не оказывая заметного влияния на уровень глюкозы крови. Обнаруженное обусловлено возможным стимулированием использования глюкозы в гликолитическом цикле, вызванном активацией гексокиназы. Здесь необходимо учитывать, что содержание глюкозы в крови - один из постоянных показателей внутренней среды организма, находящийся под контролем нервной и гормональной системы, отклонение от нормы которого

наблюдается в условиях серьезного нарушения со стороны регулирующих процессов. Поэтому, значительные сдвиги уровня глюкозы в ту или иную сторону на длительные сроки может случиться только при состоянии патологии.

В условиях аллоксанового диабета "матхин" приводил к снижению уровня глюкозы более чем в два раза. При этом содержание гликогена в мышце оставалось на уровне контроля, а в печени даже несколько снизился. Возможной причиной обнаруженного снижения уровня глюкозы при одновременном отсутствии накопления гликогена может быть использование глюкозы в процессах обмена[117].

Сказанное имеет свое подтверждение в возрастании активности гексокиназы в мышцах. Известно, что диабет сопровождается резким снижением активности гексокиназы, что связано с изменением количества фермента в результате подавления мРНК. Возрастание количества фермента, следовательно, гексокиназного фосфорилирования глюкозы под влиянием препарата является прямым доказательством стимуляции гликолиза и использование глюкозы в качестве источника энергии в условиях диабета [118], т.к. гексокиназная реакция является основным фактором ограничения скорости гликолиза в печени и скелетной мышце. Приведенные выше изменения происходили при значительном снижении активности тканевой фосфоорилазы мышц. Следовательно, под влиянием "матхин" ограничивается участие гликогена в обмене глюкозы. Такое состояние само по себе является фактором прямого использования глюкозы в энергообразовании в мышцах. Глюкоза служит не только субстратом, но и регулятором содержания гликогена [43]. В опытах глюкоза в физиологических концентрациях активизирует гликогенсинтазу и инактивирует фосфоорилазу. Регуляция глюкозой активности этих ферментов основана на их кооперативном взаимодействии. Найденное хорошо согласуется с вышерассмотренным механизмом о том, что усиление окисления глюкозы блокируя синтез

гликогена, то есть гликогенез, стимулирует гликолиз, в данном случае мы имеем классический пример эффекта Пастера. Описанное совпадает с результатами наших исследований по транспорту глюкозы в мышечную ткань, в которых показано усиление под действием изучаемого препарата потребления глюкозы диафрагмой с накоплением в ней гликогена.

Данная серия опытов под действием препарата выполнялась в сравнительном аспекте с эффектом инсулина. Полученные результаты являются достаточным для утверждения о том, что метаболический эффект "матхин" на скорость транспорта глюкозы внутрь клетки и включения ее в состав гликогена совпадает с аналогичным эффектом инсулина. Полученные результаты являются достаточным для утверждения о том, что метаболический эффект "матхин" на скорость транспорта глюкозы внутрь клетки и включения ее в состав гликогена совпадает с аналогичным эффектом инсулина. В группе крыс с аллоксановым диабетом, которые получали "матхин" потребление глюкозы эпидидимальной жировой тканью достоверно преобладало при добавлении инсулина в среду инкубации. Наблюдающееся различие эффектов на мышечную и жировую ткани говорит о том, что в последнем случае препарат явно усиливает действие инсулина на потребление глюкозы. Приведенные результаты позволяют предполагать, что действие "матхин" на течение углеводного и жирового обмена в тканях сходно с инсулиноподобным. Его действием осуществляется через потенцирование чувствительных тканей к действию инсулина. Совокупность этих экспериментальных данных показывает, что "матхин" в печени и мышечной ткани первично ускоряет транспорт глюкозы через плазматическую мембрану с последующей стимуляцией образования глюкозо-6-фосфата, который в свою очередь аллостерически активизирует ферменты гликолиза с одновременным ингибированием фосфорилаз. Аналогичный механизм лежит в основе регуляции инсулином ключевых ферментов гликолиза и глюконеогенеза, активация или ингибирование которых первично

осуществляется гормоном путем усиления мембранного транспорта глюкозы. Изучение действия "матхин" на скорость глюконеогенеза показало, что он способен угнетать в печени скорость образования глюкозы из ее предшественников. Наиболее заметное подавление глюконеогенеза наблюдается при многократном введении препарата, причем особенно выражено по отношению к аланину [117]. Введение адреналина животным в сочетании с "матхин" не привело к проявлению гликолитического и глюконеогенного эффектов адреналина. Можно предположить, что "матхин" обладает непосредственно тормозящим действием на глюконеогенез в печеночной ткани [117].

Известно, что глюконеогенез в организме находится под жестким гормональным контролем, особенно инсулина [45, 117], в связи с этим можно полагать, что ингибирующее воздействие "матхин" на глюконеогенез опосредуется через его действие на инсулин. Действительно, "матхин" при диабете способен угнетать скорость образования глюкозы из ее предшественников *de novo* в печени [117]. В этом плане представляют интерес материалы предыдущих исследований, где установлено, что под действием "матхин" повышается чувствительность тканей к инсулину, возможно, путем восстановления инсулин-секретируемой способности бета-клеток. Существенным для данной серии исследований является то, что гипогликемический эффект целого ряда пероральных антидиабетических препаратов сульфанилмочевины и бигуанидов связан с ингибирующим влиянием их на ферменты глюконеогенеза, относящиеся к цАМФ зависимым ферментам.

Следовательно, гипогликемия в механизме действия "матхин" обусловлена сочетанием торможения глюконеогенеза и усиления потребления глюкозы в периферических тканях.

Метаболизм глюкозы в организме контролируется субстратными факторами, прежде всего уровнем свободных жирных кислот [81,100, 101].

Внутриклеточный дефицит глюкозы сопровождается переключением биоэнергетики организма с глюкозы на жирные кислоты [81, 83]. Возможность подобного состояния в условиях диабета рассматривается как [81] приспособление обмена тканей, направленное на обеспечение функций энергетическими субстратами [19, 81]. Введение на этом фоне "матхин" способствовало дальнейшему возрастанию уровня СЖК в крови, вызванного возрастанием липолиза в жировой ткани [81]. Учитывая сведения литературы [71, 78, 82] о том, что степень утилизации [81] субстратов тканями находится в прямой зависимости от их концентрации в крови, можно думать, что наблюдаемое явление под действием "матхин" связано [81] с компенсаторным процессом энергетического обмена в клетке, обусловленное возрастанием доли участия жирных кислот в окислительном метаболизме. Такое объяснение подразумевает, что бигуаниды стимулируя также липолиз уменьшают потребность клеток в избыточной продукции инсулина [81]. Отсюда вытекает, что липомобилизирующее свойство "матхин" является вторичным по отношению к его первичному сахароснижающему эффекту [81].

Выше было высказано предположение, что снижение сахара в крови и подавление скорости глюконеогенеза под действием "матхин" обусловлено ускорением транспорта глюкозы через плазматические мембраны, стимулированный инсулиноподобным эффектом препарата, возможно, опосредованный через усиление секреции инсулина.

Определение содержания инсулина и С-пептида в крови методом радиоиммунного анализа показало, что "матхин" на фоне адреналиновой гипергликемии способствовал достоверному возрастанию уровня инсулина [117] и С-пептида в крови. Выраженное нарастание уровня С-пептида по сравнению с инсулином является убедительным доказательством стимулирования секреции инсулина под влиянием "матхин". Не совпадение количественного уровня инсулина с уровнем С-пептидом, очевидно, следует

отнести к расщеплению инсулина в печени ферментом инсулиназой [117]. Следовательно, обнаруженные нами гликемические изменения, вызванные изучаемым препаратом обусловлены стимуляцией эндогенной секреции инсулина. При сочетанном введении адреналина с "матхин" не удалось обнаружить адреналиновый эффект блокады на секрецию инсулина, что связано с действием "матхин" на уровне  $\beta$ -адренорецептора.

Результаты экспериментов убедительно свидетельствуют об ингибирующем влиянии "матхин" на проявление физиологического эффекта контринсулярных гормонов.

Таким образом, изложенные материалы позволяют утверждать, что гипогликемический эффект "матхин" осуществляется путем стимуляции транспорта глюкозы через плазматические мембраны с последующим повышением ее потребления в клетках. Все эти изменения являются вторичными по отношению к первичной секреции эндогенного инсулина. Именно повышенная секреция инсулина лежит в основе гипогликемии, обусловленной сочетанием торможения глюконеогенеза и усиления потребления глюкозы в периферических тканях[117].

Наши результаты исследования позволяют рассматривать "матхин", обладающий гипогликемическим свойством как новое пероральное антидиабетическое средство.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Абидов А.А., Санавова М. Использование сахароснижающего свойства полисахаридов, выделенных из листьев шелковицы.//Киме ва фармация.-1997,-N5-6.-с.103-105.
2. Абидов А. А. Дураку лов Я. У, Каткова С.П., Изменение показателей углеводного обмена у крыс с экспериментальным диабетом под действием препарата из шелковицы//Узб.биол.жур.,-1995.-N1. -с.6-9.
3. Абидов А. А. Дураку лов Я. У, Каткова С.П., Изменение показателей углеводного обмена у крыс с экспериментальным диабетом под действием препарата из шелковицы//Узб.биол.жур.,-1995.-N1. -с.6-9.
4. Абидов А.А., Жураева А.А., Маликова Г.Ю., Файзуллаева Н.С К механизму гипогликемического эффекта полисахаридов шелковицы при сахарном диабете.// фармацевтика журналы 2009,-№3, -С.54-56.
5. Аvezов Г.А. Экспериментальное обоснование применения зверобоя продырявленного при сахарном диабете.//IX-Рос.нац.конгресс тез.докл.-М.,2020.-С.191.
6. Айзикова И.М.,Курмуков А.Т. Гипогликемизирующие свойства растительных препаратов.//Сб."Фармакология растительных веществ", Ташкент,2008. -С.188-201.
7. Алиев Х.У., Ахмедов У.А.Ибн Сино ишлатган сачратки усимлигини биологик активлиги /Бухоро « Ибн Сино – Авиценна».- №3-4,2005,-78б
8. Алмагамбетова Н.А.,Беловалова И.М.,Перепигина А.А. /Резистентность к пероральной сахароснижающей терапии у больных с инсулиннезависимым диабетом. //Пробл. эндокринол. -2019., - Т. 37,N3.-с.38-39.
9. Амаева Л.А., Ладыгина Е.А. Изучение сахароснижающей активности цветков липы и содержание в них флавоноидов в зависимости от срока заготовки сырья.//V Всеросс.съезд фармацевтов/Тезисы докл.-Ярославль, 2013. -С.408-409.
10. Аметов А.С. Секрция инсулина в норме и при сахарном диабете 2-го типа / А.С. Аметов // Сахарный диабет. - 2007. -№4.-С. 11-12.
11. Аметов А.С. Современные методы терапии сахарного диабета 2-го типа / А.С. Аметов // Русский медицинский журнал. -2008. - Т.16, № 4. - С. 173-177.
12. Аметов А.С. Факторы риска сахарного диабета. Роль ожирения // Русский медицинский журнал. - 2003. -Т. 11, № 27.-С58



13. Аметов А.С., Грановская-Цветкова А.М. Пероральная терапия инсулиннезависимого сахарного диабета. *Терапев. архив*-1994.-Т.66, №10-С 17-19
14. Аметов А.С. Сахарный диабет 2 типа: проблемы и решения // *Фарматека*-2003.-№8.-С.14-18
15. В.Ф. Громова и др. Антиоксидантные свойства лекарственных растений // *Химико-фармацевтический журнал*. -2008. - Т. 42, № 1.- С. 26-29.
16. Анциферов М.Б. Старостина Е.Г. Эффект применения диформина у больных сахарным диабетом 11-типа с гиперлипидемией. // *Пробл. эндокринол.*-1989.-№5.-С.42-45.
17. Арбатская Н.Ю. Сахарный диабет типа 1 и беременность / Н.Ю. Арбатская, И.Ю. Демидова // *Consilium medicum* - 2003. -Т. 5, №9.-С. 3-7.
18. Аринина Е.Е. Лекарственное обеспечение больных сахарным диабетом // *Лекарственное обеспечение в России*. - 2011.-№3.-С. 36-52.
19. Бабичев В. Н., Савельева И.П., Балоболкин М.И. Характеристика рецепторов  $\beta$ -клеток поджелудочной железы, связывающих сульфониламидные препараты. // *Проблемы эндокринол.* 2013г.-Т.42.№5.-С.37-38.
20. Балаболкин М.И. Лечение инсулиннезависимого сахарного диабета. // *Тер. архив*. 2019.-№6.-С.144-148.
21. Балаболкин М.И., Новикова О.М. Механизм влияния фенформина на течение сахарного диабета II типа в степени с ожирением // *Пробл. эндокринол.*, 2017. т.42.
22. Баранов В.Г., Соколова И.М., Гаспарян Э.Г. Экспериментальный сахарный диабет. К 115-летию со дня рождения великого ученого Василий Гаврилович Баранов *Наука*, 2014.-70-87 с.
23. Белявский А.Д. Сахарный диабет: современные аспекты в патогенезе и в подходах к интенсивной терапии А.Д. Белявский, А.А. Лагутина, Н. П. Милютин // *Вестник интенсивной терапии*. - 2003. -№1.-С. 3-9.
24. Беляева Ю. Б., Ф. К. Рахматуллоев Сахарный диабет в практике диабета учебный пособие Пенза 2011 с 23-45
25. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия М. «Медицина», 2004. с 93-125
26. Биологическая химия с упражнениями и задачами / Под ред. С. Е. Северина. — М.: Издательская группа «ГЭОТАР-Медиа», 2011. — 624 с.
27. Головкин Б.Н. и др. Биологически активные вещества растительного происхождения в 3 т. - М. : Наука, 2001. - Т. 1. -350 с.

28. Северина Е.С. Биохимия: Учебник/Под ред...-2-е изд.испр.-М.: ГЭОТАР- Северин С.Е. Биологическая химия с упражнениями и задачами.М.: «ГЭОТАР-Медиа», 2011 .С-87
29. Благосклонная Я.В, Е В Шляхто, Е И Красильникова. Сахарный диабет / Научный медицинский рецензируемый журнал Том5, №4. 2002, .-с.116-119.
30. Благосклонная Я.В.,Красильникова Е.И.,Батенко А.В. Влияние бигуанидов на показатели тромбоэластограммы и уровень молочной кислоты при сахарном диабете.//Сов.медицина.-1990.-N12. -с.17-20.
31. Блинов В.А. Лекарственные растения при сахарном диабете. //М: Радуга, 2000.-63с.
32. Бродус А. Е.,Фелиг Ф., Бекстер Дж. Д., Нромен Л. А. (ред.) — Эндокринология и метаболизм. — Москва, 19 мая 2015 г. — М., 2015. — С. 216—222.
33. Бродус А.Е. и др. Эндокринология и метаболизм. Пер.с англ. М, медицина, 2005. Т. 2. -4.16 с.
34. Будневская Л.М.,Кит В.С. Лекарственные растения противодиабетического действия.//111-съезд эндокринологов Укр.ССР тез. докл.-Киев.2007.-С.103.
35. Валихонов М.Н. Биокимё. Тошкент. "Университет". 2009.
36. Васюкова Е.А. Обмен липидов при сахарном диабете.//Актуальные проблемы диабетологии.М.,мед.,2009.-с.61-80.
37. Васюкова Е.А.,Зефирова Т.С. Современные вопросы диабетологии. //Клин. мед. -2013. - N8. - С. 4.3.
38. Вовша Р.И.,Исакова П.Ш. Активность гексокиназы в эритроцитах у больных сахарным диабетом.//Сахарный диабет:сб.научи. тр.-Саратов.2019.~Т.123.-с.19-21.
39. Воронина Л.Н., Мадиевская Н.Н. и др. «Биологическая химия» учебник для фармацевтических институтов - Харьков, 1999 г.
40. Воронкова М.П. Противодиабетическая активность гимне-мовых кислот: автореф. дис. ... д-ра биол. наук / Воронкова М.П.-М., 2009.-44 с.
41. Вульфсон П.Л.,Алексахина Н.В. Структура и функции гликогенфосфорилазы-ВКН.//Структура и функции ферментов;вып.1.М., изд-во-Моск. ун~та-200.-С.60.
42. Маликова Г.Ю., А.Н. Максудова “Influence of the hypoglycemic harvest to the activity of tissue enzymes in experimental diabetes” человеку-лекарство конференция харков 2017 г №62.-С 18

43. Маликова Г.Ю., А.Н. Мақсудова “Влияние сбора на уровень инсулина и с –пептида в крови в норме, гипергликемии адреналинового и аллоксанового происхождения” 2017 г 30 -31март харков Человеку-лекарство конференция С 188-192

г С.90-94

44. Маликова Г.Ю., А.Н. Мақсудова, М.А.Маликова “Влияние гипогликемического сбора на активность тканевых ферментов в условиях экспериментального диабета” Фармацевтический журнал № 4 2016

45. Маликова Г.Ю., Н.У.Каримова Гипогликемик йиғма экстрактини гипергликемия шароитида гликолизга таъсири “Ёш олимлар тадқиқотларида иновацион ғоялар ва тадқиқотлар” Мирзо Улуғбек номидаги Миллий Университетнинг 100 йиллигига бағишланган илмий амалий анжуман ЎзМу 27 апрель 2018 С177-182

46. Галлер К.Т. Функция глюкагона и коррекция его инсулином //Пробл.эндокринол.,1976.-N1.-с.92-99.

47. Гандемко Г.Ф.,Лакиза В.В. Сульфониламидорезистентность больных сахарным диабетом 1I-типа.//Врачебное дело.-1993.-N4. -С.50.

48. Гарниевич Н. И. Лекарственные растения.// М:Высш.шк., 1991.-396 с.

49. Ковалев В.Н. и др, Гипогликемическая активность флавоноидов // Фармацевтический журнал. — 1985. - № 1. - С. 51-55.

50. Якимова Т.В. и др. Гипогликемическое действие экстракта из *Galega officinalis* (Fabaceae), культивируемой на Алтае // Растительные ресурсы. - 2005. - Т. 41, вып. 2. - С. 134 - 138.

51. Колесниченко Л.С и др. Глутатион и ферменты его метаболизма у больных СД 2-го типа // Сибирский медицинский журнал - 2009. - № 2. - С. 58-60.

52. Давыдов В.В.,Молоковский Д.С.,Лимаренко А.Ю. Эффективность препаратов женьшеня при инсулинзависимом диабете и токсическом гепатите в эксперименте.//Пат.физиолог. и эксп.терапия, 1990.-N5.-с.49-52.

53. Дасон Р., Элпиот Д. и др. «Справочник биохимика». – Москва, издательство «Мир», 1991 г., перевод с английского.

54. Дедов И.И. Сахарный диабет [Текст] : руководство для врачей / Дедов И.И., Шестакова М.В. - М., 2003. - С. 151-175.

55. Дедов И.И. Сахарный диабет у детей и подростков: (руководство для врачей) / Дедов И.И., Кураева Т.Л., Петеркова В.А. - М. : Медицина, 2008. - 160 с.

56. Дедов И.И.,Сунцова К.И.,Кудряков С.В. О национальном регистре сахарного диабета: распространенность ИНСД и его осложнений.//Проблемы

эндокринология.-1990.-Т.42.-с.3-9.

57. Денисова И.Н., Шевченко Ю.Л., Назиров Ф.Г. Клинические рекомендации и фармакологический справочник -М:ГЭОТАР-Медиа, 2005.-С. 328-335.

58. Н.А. Белякова, Д.В. Килейников, С.А. Роккина, О.А. Васюткова//Диагностика и лечение сахарного диабета / - Тверь: Триада, 2010.- 104 с.

59. Дихтярева В.И. Фармакогностическое изучение некоторых видов фасоли.//Дис.канд.фарм.наук,-Харьков.1984.-17 с.

60. Долгов В.А., Морозова В.Т., Марциевская Р.Л. и др. Клинико-диагностическое значение лабораторных показателей.–М.Центр, 1999

61. Ефимов А.С. К патогенезу диабетических ангиопатий //Пробл.эндокринология,-1985.-№5.-0.55-59.

62. Ефимов А.С.,Германюк Я.Л.,Генсе С.С. Сахарный диабет-Киев, 2005.-с. 163-169.

63. Зайед Назем Хасан. Использование производных бигуанидов в лечении сахарного диабета.//Автореф.канд.дисс.Л.,1991.-18 с.

64. Зубаиров Д.М., Тимербаев В.Н., Давыдов В.С. “Руководство к лабораторным занятиям по биологической химии»/Учебное пособие для ВУЗов. – М.Изд. «Геотар-Медиа», 2005 г.

65. Зупанец И.А., Миеюрева И.А. и др. «Клинические лабораторные методы исследования». – Харьков «Прапор», 2000 г.

66. И.И. Дедова, М.В. Шестаковой Клинические рекомендации «алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом» 7-й выпуск Standards of specialized diabetes care edited by dedov I, Shestakova MV 7th Edition Сахарный диабет. 2015

67. Йорданев Д.,Николаев Н.,Бойченко А. Фитотерапия: лечение лекарственными растениями.-София,2018 3-е изд.-32 с.

68. Кандроп В.М.,Хоа Доан Хан, Крюкова И.В. Механизмы гормональной регуляции гликемии в динамике тиреотоксикоза.// Пробл. эндокринология.- Том 6 2010.-№4.-С.41-45.

69. Квасова Т.М. Исследование гипогликемических свойств и химического состава нового водорастворимого экстракта сбора арфазетин сухоготема диссертации и автореферата по ВАК РФ 14.03.06, кандидат биологических наук 2012

70. Ефимов А. С., Скробонская Н. А// Клиническая диабетология — 1-е изд. — Киев: Здоровья, 1998. — С. 219—221. — 320 с. — 3000 экз. — ISBN 5-311-00917-9.
71. Кнорре Д.Г., Мызина С.Л. «Биологическая химия» учебник для химико-биологических и медицинских специальностей. – Москва, 2002 г.
72. Кольман Я., Рём К.—Г. Наглядная биохимия. — 4-е изд.. — М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2012. — 469 с. — ISBN 978-5-9963-0620-6.
73. Комов В.П., Шведова В.Н. Биохимия. М.: «Дрофа», 2008
74. Косовский М.И. Инсулинрезистентность при некоторых патологических и физиологических состояниях и пути ее устранения. // Автореф. дисс. док. биол. наук, - Киев. 2020. - 34 с.
75. Кухта В.К., Морозкина Т.С., Таганович А.Д., Олецкий Э.И. Основы биохимии. М., Медицина, 1999
76. Лавренова Г.Ю. Влияние некоторых полисахаридов на когулянтную активность крови животных. // Фармакол. токсикол., 2017. т. 49. - №4. - 0.38-40.
77. Лифшиц В.М. «Биохимические анализы в клинике»- М. Медицина, 2001 г.
78. Маликова Г.Ю., А.А. Жўраева, Н.Т. Фарманова, А.Н. Мақсудова “Гипогликемик йиғма курук экстрактини гипергликемия шароитида глюкоза катаболизмига таъсирини ўрганиш” Ўзбекистон Фармацевтик хабарномаси журнал. - № 32014-2015 йил С.18
79. Маликова Г.Ю., А.А. Жўраева, Н.У. Каримова, А.Н. Мақсудова Эффект сбора на интенсивность глюконеогенеза в тканях печени в норме и при экспериментальном диабете Фармацевтика журнал №1 2018 С92-96
80. Маликова Г.Ю., Азимова М.Т., Маликова М.А “Влияние гипогликемического сбора на катаболизм глюкозы при экспериментальной гипергликемии” Фармацевтична наука та практика: проблеми, досягнення, перспективи розвитку” Харків Фармацевтична наука та практика: проблеми, досягнення, перспективи розвитку” Харків 2016 24-25 березня 2016 С 287-289.
81. Маликова Г.Ю., Мақсудова А.Н., Азимова М.Т., Влияние гипогликемического сбора на обмен липидов при экспериментальной гипергликемии EUROPEAN SCIENCE April 2016, №4 (14) – С 40- 46
82. Маликова М.А., Азимова М.Т. “Қанд миқдорини пасайтирувчи янги маҳаллий ўсимликлар йиғмасининг таъсир этиш механизми” ЎзМу Ўзбекистон Республикаси олий ва ўрта махсус таълим вазирлиги, Мирзо Улуғбек номидаги Ўзбекистон Миллий Университети Кимё факультети табиий бирикмалар кимёси ЎзМу Кимё факультети табиий бирикмалар

“Ўзбекистонда табиий бирикмалар кимёсининг ривож ва келажги” мавзусидаги Республика илмий амалий анжуман Тош-2016 С 256-258

83. Маликова Г.Ю., А.А.Жураева., А.Н.Мақсудова Новый гипогликемический растительный сбор и механизм его действия. Вклад Абу Али Ибн Сино в развитии фармации и актуальные проблемы современной фармацевтики Ибн сино 11 май 2018 117-118

84. Маршалл В.Дж. Клиническая биохимия. 2-е изд. Пер. с англ.-М.-СПб.: “Издательский БИНОМ”–“Невский Диалект”, 2002.-384с.

85. Матковская А.Н.,Трумпе Т.Е. Фитотерапия в комплексном лечении сахарного диабета.//Пробл.эндокринолог.-2003.Т.37.№3.-с. 35-38.

86. Машковский М.Д. Лекарственные средства.Медицина и здоровье, фармакология:2014г. -С 87-178

87. Методы клинических лабораторных исследований. – Учебник под ред. проф. В.С.Камышникова. – М. «Медпрессинформ». 2009. Раздел III. Биохимические исследования.-С.48-56

88. Мешкова Н.П.,Северин С.Е. Практикум по биохимии - М.,2018.-430 с.

89. Науменко В.Г.,Ефимов Д.А. К особенностям липидного обмена у больных сахарным диабетом Г-типа.//Сахарный диабет:об науч .тр.-Саратов.2000.-Т.123.-с.33-35.

90. Нейфах С.А.,Грех И.Ф.,Монахов Н.К. Гексокиназный тест для диагностики рака желудка и некоторых опухолевых заболеваний системы крови.//Метод.инстр.НИИ.экопер.мед.АМН СССР, 2015.-11 с.

91. Нельсон Д., Кокс М. Основы биохимии Ленинджера М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2011.-С.112-156

92. Николаев А.Я. Биологическая химия.- 3-е изд.,перераб. и доп. –М.: Медицинское информационное агенство. 2004. – 566 с.

93. Николайчук Л. В. Сахароснижающие растения.-Минск.’Урожай,2021.-190 с.

94. Ньюхолм Э.,Старт К. Регуляция метаболизма. М.,”Мир”, 2015.-с.125-126.

95. Обидов О.О., Жураева А.А., Маликова Г.Ю. Биологик кимё – Т. 2012 С.148

96. Обидов О.О., Жураева А.А., “Biologik kimyo” лаборатория амалиёти – Т. 2010 –С.105

97. Окарев Н.Н. Сахарный диабет : руководство для врачей / Бокарев Н.Н., Беликов В.К., Шубина О.И. - М. : МИА, 2006. - 393 с.

98. Петунина Н. А., Л. В. Трухина, Е.И.Синицына, М. В. Шестакова Глюкагон и альфа-клетки - новая терапевтическая мишень в лечении сахарного диабета Том 16, № 3 2013 -С.35-48
99. Потемкин В.В. Сахарный диабет.//Эндокринология,-М. Медицина, 2009.-с.215-311.
100. Пустовалова Л.М. «Практикум по биохимии» для студентов ВУЗов, «Ростов на Дону». 1999 г.
101. Савельева Л.И. Применение лекарственных растений при сахарном диабете.//Фельдшер.и акушерка,2018.№12.-с.32-37.
102. Северин Е.С. «Биохимия» учебник. – М.Медицина, 2000 г.
103. Северин С.Е., Алейникова Т.А., Осипов Е.В. «Биохимия»/учебник для студентов медицинских институтов. – М., Медицина, 2000 г.
104. Соколов С.Я. ,Замотаев И.П. Справочник по лекарственным растениям. М.Медицина,-2015.-462 о.
105. Старкова Н.Т. Клиническая эндокринология.М.,Медицина, 2002.
106. Титов В.Н. Лабораторные и инструментальные исследования в диагностике. – М., Медицина, 2004 г.
107. Ткачук В.А. Клиническая биохимия. -2-е изд.исправ. и доп.-М.ГЭОТАР-МЕД, 2004 .- 512с.
108. Тўрақулов Ё.Ҳ. Биокимё. Тошкент. «Ўзбекистон», 1996.
109. Фармонова Т.,Ф.Ф.Урманова, Н.М.Султанбаева.Стандартизация нового гипогликемического сбора //Farmasevtika jurnali.–Тошкент, 2013.-№1.– 40–42
110. Халиков К.М. Состояние глюконеогенеза и мочевинообразования при экспериментальном гепатите и циррозе печени. Их коррекция аминокислотами.//Автореф.канд.дисс.Ташкент.1995. -С.18.
111. Ходжаев Б.Р.,Холматов Х.Х. Изучение лекарственных растений народной медицины, применяемых при диабете.//Анализ,синтез и фармакол. Изучение некоторых физиологически активных веществ. Тез.докл.,-Ташкент.1987,-с.100-101.
112. Холматов Х.Х., Обидов А.А. Антидиабетик хусусиятли доривор гиёхлар тугрисида.//Киме ва фармация,-1993.-№3.-0.126-129.
113. Цыганенко и др.Клиническая биохимия М.:ГЭОТАР-МЕД,2002.-502с.
114. Шулятева Л.Д. Влияние некоторых растительных препаратов на ускорение глюкозы крысами.//Фармакол.и токоикол.,2011.-№5.-С. 565-566.
115. Юдаев Н.А. Биохимические основы патогенеза сахарного диабета. -Тер. архив, 12019.-№5.-с.6-11.
116. Ярошевский Ю.А. К механизму действия противодиабетических сульфаниламидов.//III-съездэндокринологовУкр.ССР;-Киев.2013.-с.181.

117. Сами Мухаммед Эль-Саид Салех Исследование эффекта 18-дегидроглицерретоной кислоты на показатели обмена гликогена и регулирующих его гормонов :автореферат дис. ... кандидата биологических наук : 03.00.04 с:Акад. наук Узб. ССР. Ин-т биохимии:Ташкентс:1991.- 20 с.: ил. РГБ ОД, 9 91-6/1254-2

118. Жураева, Азиза Абдиназаровна Исследование эффекта спинулины на обмен глюкозы : автореферат дис. ... кандидата биологических наук : 03.00.04 Ташкент 2000

119.Санавова, Мукаддам Холбаевна Полисахариды MORUS и их влияние на углеводный обмен : автореферат дис. ... кандидата биологических наук : 02.00.10 Ташкент 1998

120.Валентина ФедоровнаЭкспериментальное обоснование лечебно-профилактического применения питьевых минеральных вод при нарушении функций печени : диссертация ... доктора биологических наук : 14.00.51 Пятигорск с:2001

121. КАДЖАРЯН В.Г., КАПШИТАРЬ Н.И .НОВОЕ В ЛЕЧЕНИИ САХАРНОГО ДИАБЕТА 2 ТИПА ЗАПОРЖСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ ЖУРНАЛ Номер: 1 (82) Год: 2014 Страницы: 74-79 Поступила в редакцию: 23.10.2013 Запорожский государственный медицинский университет УДК: 616.379-008.64-08

122. Мазовецкий, А. Г.; Великов, В. К Осложнения инсулинотерапии -. Сахарный диабет серия: Библиотека практического врача...Url:<http://zrenielib.ru/docs/index-4681.html?page=7>

123. Носова Э. В.Химия карбоциклических биологически активных веществ : учеб. пособие ISBN:978-5-9765-3191-8Москва : Флинта2017 с156

124.Гайнутдинов, Марат Хамитович Цитоплазматические регуляторы транспорта катионов и метаболитов через мембрану митохондрий : диссертация ... доктора биологических наук : 03.00.02 Ташкент 1983

125.Мусин Рамиль Фаритович Способ и устройство для микрокалориметрического измерения скорости локального метаболизма ткани, содержания воды в межклеточной ткани, концентрации биохимических компонентов крови и давления в сердечно-сосудистой системе номер россия год публикации: 2010 <http://elibrary.ru/item.asp?id=18515697>.

126. Пинхасов Борис Борисович Патогенетические особенности первичного ожирения и его типов у женщин репродуктивного возраста :диссертация ... доктора медицинских наук : 14.03.03 [Место защиты: ГУ "Научный центр клинической и экспериментальной медицины Сибирского отделения РАМН"];Новосибирск с:2011

127.Лунева, Светлана Николаевна диссертация ... доктора биологических наук : 03.00.04, 03.00.13 Курган 2003

128. КИСЕЛЕВА В.А.<sup>1</sup>,РЯБКОВ А.Н.<sup>1</sup>,БАБЕШИНА Л.Г.<sup>1</sup> ФАРМАКОЛОГИЯ ПРИРОДНЫХ АНТИОКСИДАНТОВ РАСТИТЕЛЬНОГО И ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ<sup>1</sup> Государственный гуманитарно-технологический университет, 142611, Московская обл., г. Орехово-Зуево, ул. Зеленая . д. 22

129. Гильмулина, Светлана Александровна Обоснование и исследование потребительских свойств фитонапитков для лиц с нарушением углеводного обмена:диссертация ... кандидата технических наук : 05.18.15:Кемерово: 2006 с.180

130.В. Ф. Корсун и др Псориаз :Старинные и современные методы лечения : советы, рецепты и составы травяных сборов с учетом возраста и сопутствующих заболеваний Москва str с:2010

131. Кусивака | Настойка чистотела при сахарном диабете. R Ue <http://kusivaka.ru/diabet/nastoyka-chistotela-pri-saharnom-diabete/>.

132.Корячкина С. Я., Матвеева Т.В. Функциональные пищевые ингредиенты и добавки для хлебобулочных и кондитерских изделий Санкт-Петербург : ГИОРД Year:2013

133. Мазовецкий, А. Г.; Великов, В. К Осложнения инсулинотерапии -. Сахарный диабет серия: Библиотека практического Url:<http://zrenielib.ru/docs/index-4681.html?page=7>

134. Мазовецкий, А. Г.; Великов, В. К Осложнения инсулинотерапии -. Сахарный диабет серия: Библиотека практического врача...Актуален:30 Янв 2017

135.<http://www.sciteclibrary.ru/texts/rus/medens/drug1744.htm>.

136. <http://elibrary.ru/item.asp?id=18530711>.



137. Фелиг - Эндокринология и метаболизм. Дос: 29 Янв 2017 <http://www.e-reading.org.ua/download.php?book=142053>.

138. Мазовецкий, А. Г.; Великов, В. К. Сахарный диабет серия: Библиотека практического врача  
Издательство: ... (1/2) 01 Янв 2017 <http://zrenielib.ru/docs/index-4681.html?page=8#1>.

139. ГАВРОВСКАЯ ЛЮДМИЛА КОНСТАНТИНОВНА, ТИХОНОВ ВЛАДИМИР ПЕТРОВИЧ, САПРОНОВ НИКОЛАЙ СЕРГЕЕВИЧ, КРЫЛОВА ИРИНА БОРИСОВНА  
СРЕДСТВО, ОБЛАДАЮЩЕЕ ГИПОГЛИКЕМИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ  
регистрации: 23.10.2008 Дата публикации: 10.04.2010