Сравнение гипогликемической активности нового агониста GPR119 и ингибитора ДПП-4 ситаглиптина

Член-корр. РАН И.Н. ТЮРЕНКОВ¹, к.фарм.н. Д.В. КУРКИН¹, Д.А. БАКУЛИН^{1*}, к.м.н. Е.В. ВОЛОТОВА¹, к.х.н. М.А. ШАФЕЕВ²

¹ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет», Волгоград, Россия; ²ЗАО «Исследовательский институт химического разнообразия», Химки, Московская область, Россия

В регуляции секреции эндогенных инкретинов участвует ряд рецепторов энтероэндокринных клеток; среди таких рецепторов наиболее перспективным был признан GPR119. При его активации повышается секреция инкретинов и возрастает глюкозозависимая секреция инсулина, что важно для эффективного контроля постпрандиальной гликемии и снижения риска гипогликемий.

Цель исследования — сравнение гипогликемической активности ингибитора ДПП-4 (ситаглиптина) и нового агониста GPR119 (соединения ZB-16) у животных с экспериментальной формой сахарного диабета 2-го типа (СД2).

Материал и методы. Сахароснижающее действие 4-недельного введения ZB-16 (по 0,1 и 1 мг/кг, *per os*) и ситаглиптина (по 10 мг/кг, *per os*) изучали на 50 беспородных половозрелых крысах-самках (возраст 6 мес, масса тела 240—260 г) со стрептозотоцин/никотинамид-индуцированным СД2. Пероральный глюкозотолерантный тест (ПГТТ) проводили на 14-й и 28-й день после начала лечения.

Результаты. У животных, получавших ZB-16 в дозе 1 мг/кг, к концу лечения наблюдалось значимое снижение гликемии натощак по сравнению с контролем ($7,9 \pm 0,43$ ммоль/л против $9,6 \pm 0,54$ ммоль/л). По результатам ПГТТ на 28-й день лечения соединение ZB-16 улучшало скорость утилизации глюкозы, снижая уровень «пика» гипергликемии ($15,7 \pm 0,88$ ммоль/л против $21,6 \pm 1,06$ ммоль/л), а также площадь под кривой «концентрация глюкозы—время» (на 25%) по сравнению с контролем.

Выводы. Агонист GPR119 — соединение ZB-16 при 4-недельном введении животным с СД2 в дозе 1 мг/кг оказывает гипогликемическое действие, сопоставимое таковому у ситаглиптина.

Ключевые слова: сахарный диабет 2-го типа, GPR119, ситаглиптин, ГПП-1, крысы.

Comparing hypoglycemic activity of novel GPR119 agonist and DPP-4 inhibitor sitagliptin

I.N. TYURENKOV¹, D.V. KURKIN¹, D.A. BAKULIN¹, E.V. VOLOTOVA¹, M.A. CHAFEEV²

¹Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia; ²Chemical Diversity Research Institute, Khimki, Russia

Hypoglycemic drugs affecting the incretin system increasingly becoming popular because of its high safety and efficacy. The regulation of the secretion of endogenous incretin involves a number of receptors on the enteroendocrine cells, among which the most promising is GPR119. After activation it increases the incretins secretion and glucose-dependent insulin secretion, that is important from the point of view of effective control of postprandial glucose levels with minimal risk of hypoglycemia.

Aims. To conduct a comparative study of hypoglycemic activity of DPP-4 inhibitors (sitagliptin) and novel GPR119 agonist receptor — compound ZB-16 in streptozotocin-nicotinamide-induced rat model of type 2 diabetes mellitus (T2DM).

Material and methods. The hypoglycemic effect of ZB-16 (0.1 and 1 mg/kg *per os*) and sitagliptin (10 mg/kg *per os*) was studied during 4-week administration in 50 adult female rats (6 months, 240—260 g) with streptozotocin-nicotinamide-induced T2DM. The oral glucose tolerance test (OGTT) was performed on the 14th and 28th day after the start of treatment.

Results. Animals receiving compound ZB-16 at a dose of 1 mg/kg by the end of treatment there have a significant reduction in fasting glucose as compared with the control group (7.9 ± 0.43 and 0.54 ± 9.6 mmol/l, respectively). During the OGTT on day 28 of treatment compound ZB-16 improves the rate of glucose utilization, reducing «peak» of growth glycemia (15.7 ± 0.88 versus 21.6 ± 1.06 mmol/L) and area under the curve «glucose concentration-time» (to 25%) compared with the control group during the OGTT.

Conclusions. Novel GPR119 agonist — ZB-16 (1 mg/kg) has a clear hypoglycemic effect comparable to that of sitagliptin in rats with streptozotocin-nicotinamide-induced T2DM.

Keywords: T2DM, GPR119, sitagliptin, GLP-1, rat.

doi: 10.14341/probl201662138-43

Сахарный диабет (СД) и его осложнения остаются важнейшей медико-социальной проблемой практически во всех странах мира. В Российской Федерации в 2013 г. были зарегистрированы около 4 млн больных СД, но реальное число больных значительно больше и может достигать 10 млн [1].

Среди пациентов с сахарным диабетом 2-го типа (СД2) абсолютное большинство (80—90%) страдают ожирением, а половина людей с ожирением имеют

СД2; поэтому при поиске новых сахароснижающих препаратов целесообразно обращать внимание на соединения, обладающие дополнительным анорексигенным эффектом [2, 3].

Несколько лет назад исследователи обратили внимание на группу рецепторов, локализованных преимущественно на энтероэндокринных клетках (GPR40, GPR41, GPR43, GPR119 и др.). Физиологическими агонистами этих рецепторов являются

жирные кислоты и их производные, введение которых приводит к повышению глюкозозависимой секреции инкретиннов, инсулина, снижению массы тела и ряду плейотропных эффектов. Создание синтетических агонистов к данным рецепторам считается перспективным путем разработки средств регуляции углеводного обмена [3–5]. Одним из наиболее перспективных рецепторов этой группы был признан GPR119 [6, 7]. Его активация повышает секрецию инкретиннов, продукция которых при СД снижена [8], и стимулирует секрецию инсулина при повышении гликемии. Это крайне важно с точки зрения эффективного контроля постпрандиального уровня глюкозы, а также снижения риска развития гипогликемии.

Цель исследования — сравнение гипогликемической активности ингибитора ДПП-4, ситаглиптина, и нового агониста GPR119, соединения ZB-16 у животных с экспериментальным СД2 [9].

Материал и методы

Субстанция агониста GPR119 (соединение под шифром ZB-16) синтезирована ЗАО ИИХР. Эксперименты выполнены на 50 беспородных половозрелых крысах-самках из питомника ФГУП ПЛЖ «Рапполово» (возраст 6 мес, масса тела 240–260 г) с учетом правил, изложенных в «Руководстве по проведению доклинических исследований лекарственных средств» [10].

Экспериментальный сахарный диабет (ЭСД) моделировали однократным внутрибрюшинным введением никотинамида (Sigma-Aldrich, США), 230 мг/кг, и через 15 мин после этого — стрептозотцина (Sigma-Aldrich, США), 65 мг/кг. Предварительное введение никотинамида повышает устойчивость β -клеток островков Лангерганса к повреждающему действию цитотоксина [9]. Такая комбинация воспроизводит состояние, близкое к СД2, которое проявляется умеренной и стабильной гипергликемией, нарушением толерантности к глюкозе, глюкозурией без ацидоза и увеличением массы тела. Через 72 ч после введения стрептозотцина измеряли уровень глюкозы в крови и отбирали животных с гликемией после 6-часового голодания в пределах 8–14 ммоль/л. Были сформированы 5 экспериментальных групп по 10 особей в каждой: 1-я группа — интактные животные («Интакт»); 2-я — группа «ЭСД» (ЭСД + вода очищенная); 3-я группа — ZB-16 0,1 мг/кг (ЭСД + суспензия ZB-16, 0,1 мг/кг/день); 4-я группа — ZB-16 1 мг/кг (ЭСД + суспензия ZB-16, 1,0 мг/кг/день); 5-я группа — ситаглиптин (ЭСД + суспензия ситаглиптина, 10 мг/кг/день).

Во 2–5-й группах средний исходный уровень глюкозы в крови (12,4–13,6) различался не более чем на 7–8%.

Пока еще нет препаратов, которые, подобно агонистам GPR119, стимулировали бы глюкозозависимую секрецию инкретиннов и глюкозозависимую секрецию инсулина. Поэтому в качестве препарата сравнения был выбран ингибитор ДПП-4 — ситаглиптин (Янувия, «Merck Sharp & Dohme B.V.», Нидерланды), который, как и агонисты GPR119, в конечном счете усиливает физиологический эффект инкретиннов, подавляя их деградацию и повышая глюкозозависимую секрецию инсулина. Доза ситаглиптина (10 мг/кг) была выбрана на основании данных литературы [11]. Дозы ZB-16 (0,1 и 1 мг/кг) были наиболее эффективными по результатам пробной серии экспериментов. Препараты вводились внутривентрикулярно ежедневно в течение 4 нед.

Пероральный глюкозотолерантный тест (ПГТТ) проводили на 14-й и 28-й день после начала лечения на фоне 6-часового голодания. Глюкозу (из расчета 3 г/кг) вводили перорально через зонд. Гликемию измеряли перед введением глюкозы, а затем через 30, 60 и 120 мин. Использовали глюкометр Контур ТС и тест-полоски («Вауег», Германия).

Для оценки потребления воды и пищи на 7, 14, 21 и 28-й день после начала лечения, животных на сутки помещали в метаболические клетки («TECNIPLAST», Италия). Массу тела крыс измеряли ежедневно, начиная с 1-го дня исследования.

Статистическую обработку результатов проводили в программе Prism 5 с использованием критериев Шапиро—Уилка, Краскела—Уоллиса, Ньюмена—Кейлса. Данные представлены в виде среднего значения (гистограммы, таблицы) и в виде медианы с указанием 25-го и 75-го квартилей (диаграммы размаха). Значения $p < 0,05$ расценивались как статистически значимые.

Сведения об авторах:

Тюрников Иван Николаевич — член-корр РАН, д.м.н., проф., зав. каф. фармакологии и биофармации факультета усовершенствования врачей ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет», Волгоград, Россия;

Куркин Денис Владимирович — к.фарм.н., асс. каф. фармакологии и биофармации факультета усовершенствования врачей ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет», Волгоград, Россия;

Бакулин Дмитрий Александрович — асс. каф. фармакологии и биофармации факультета усовершенствования врачей ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет», Волгоград, Россия, e-mail: mbfdoc@gmail.com;

Волотова Елена Владимировна — к.м.н., асс. каф. фармакологии и биофармации факультета усовершенствования врачей ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет», Волгоград, Россия;

Шафеев Михаил Айратович — к.х.н., нач. отд. медицинской химии ЗАО «Исследовательский институт химического разнообразия», Химки, Россия

Результаты и обсуждение

Гипогликемическая активность ZB-16 при курсовом введении крысам с ЭСД

Моделирование СД2 сопровождалось повышением уровня глюкозы в крови животных (рис. 1).

До начала лечения уровень глюкозы у животных колебался от 12,4 до 13,6 ммоль/л, т.е. в 3–3,5 раза превышал таковой у интактных животных ($p < 0,05$). В последующие дни (до 28 сут наблюдения) гликемия у животных всех экспериментальных групп снижалась, но более выражено — у животных, получавших ZB-16 в дозе 1 мг/кг и ситаглиптин. На 21-е и 28-е сутки после начала лечения степень снижения гликемии была значимо больше, чем в контроле (см. рис. 1).

Влияние ZB-16 на результаты ПГТТ у животных с ЭСД

ПГТТ у животных с ЭСД проводили через 14 и 28 сут после начала лечения. У крыс с ЭСД, помимо высокой концентрации глюкозы в крови, отмечалось нарушение ее утилизации (рис. 2). Средняя площадь под кривой «концентрация глюкоза—время» в группе ЭСД в 4 раза превышала таковую в интактной группе.

На 14-й день лечения наименьшее отклонение уровня глюкозы от исходного к 120-й минуте теста регистрировалось у животных, получавших ZB-16 в дозе 1 мг/кг и ситаглиптин, что говорит о более высокой скорости утилизации глюкозы у крыс этих групп, чем у животных с ЭСД без лечения (табл. 1). На это указывает также снижение площади под

кривой «концентрация глюкоза — время» у животных соответствующих групп (см. рис. 2, а).

К 28-м суткам эксперимента у животных, получавших лечение, отмечалась тенденция к улучшению переносимости глюкозной нагрузки (см. табл. 1). Так, через 30 мин после введения глюкозы наименьшая гликемия регистрировалась у животных, которые получали ZB-16 в дозе 1 мг/кг (+98,7%) и препарат сравнения ситаглиптин (+84%), что значимо отличалось от прироста гликемии у крыс группы ЭСД без лечения (+125%).

Через 1 ч после введения глюкозы ее уровень в крови снизился значительно больше всего в группах, получавших ZB-16 в дозе 0,1 мг/кг (до 57,1%) и ситаглиптин (до 53,3%). Через 2 ч уровень глюкозы в крови крыс группы ZB-16 1 мг/кг практически вернулся к исходному, превышая его только на 3,8%, что значимо меньше, чем в группе ЭСД без лечения (+14,6%) и даже в группе ситаглиптина (+5,3%).

Кроме того, в группах крыс, получавших лечение, зарегистрировано уменьшение площади под кривой концентрации «концентрация глюкозы — время» в среднем на 22–24% по сравнению с группой ЭСД без лечения. Гипогликемическое действие ZB-16 в дозе 1 мг/кг было сопоставимым с таковым ситаглиптина.

Влияние ZB-16 на динамику массы тела и потребление пищи и воды животными с ЭСД

У крыс с ЭСД наблюдалось некоторое повышение массы тела у животных контрольной группы (на 7%). У животных, получавших агонист GPR119 в

Рис. 1. Влияние курсового введения агониста GPR119, соединения Zb-16, на уровень глюкозы в крови у животных с ЭСД.

Примечание. Здесь и на последующих рисунках: Интакт — интактная группа; ЭСД — группа животных с ЭСД без лечения; * — $p < 0,05$ при сравнении с группой интактных животных; # — то же при сравнении с группой ЭСД без лечения.

Рис. 2. Площадь под кривой «концентрация глюкоза — время» в ходе ПГТТ у крыс с ЭСД на 14-й (а) и 28-й (б) день после начала лечения.

Таблица 1. Гликемия (ммоль/л) у крыс с ЭСД в ходе ПГТТ, проводимого на 14-е и 28-е сутки после начала лечения

Группа животных (n=10), доза	Исходный уровень	Время после введения глюкозы		
		30 мин	60 мин	120 мин
14-е сутки:				
Интакт	4,2±0,3 (0%)	5,8±0,5 (+38%)	5,8±0,3 (+38%)	4,3±0,3 (+2,3%)
ЭСД	11,7± 0,61* (0%)	25,4±1,18 (+117,1%)*	22,4±0,94 (+91%)*	15,9±0,65 (+35,9%)*
ZB-16 0,1 мг/кг	10,5±0,59 (0%)	21,0±1,12 (+114,3%)	17,0±0,73 (+73,5%) [#]	12,4±0,76 (+26,5%) [#]
ZB-16 1 мг/кг	10,4±0,7 (0%)	20,9±1,43 (+101%)	17,5±0,87 (+68,3%) [#]	10,9±0,67 (+4,8%) [#]
Ситаглиптин 10 мг/кг	9,2±0,53 (0%)	19,6± 0,81 (+113%)	16,6±0,58 (+80,4%) [#]	10±0,6 (+8,7%) [#]
28-е сутки:				
Интакт	3,7±0,2 (0%)	5,0±0,2 (+35,1%)	4,9±0,2 (+32,4%)	3,8±0,1 (+2,7%)
ЭСД	9,6±0,54*	21,6±1,06 (+125%)*	16,5±0,25 (+71,9%)*	11±0,63 (+14,6%)
ZB-16 0,1 мг/кг	8,4±0,46	17,6±0,82 (+109,5%)	13,2±1,13 (+57,1%) [#]	9,4±0,55 (+11,9%) [#]
ZB-16 1 мг/кг	7,9±0,43	15,7±0,88 (+98,7%) [#]	13,1±0,76 (+65,8%) [#]	8,2±0,14 (+3,8%) [#]
Ситаглиптин 10 мг/кг	7,5±0,49	13,8±0,51 (+84%) [#]	11,5±0,39 (+53,3%) [#]	7,9±0,44 (+5,3%) [#]

Примечание. Интакт — интактная группа животных; ЭСД — группа животных с ЭСД без лечения;

* — $p < 0,05$ при сравнении с группой интактных животных на данный момент времени; # — то же при сравнении с группой ЭСД без лечения на данный момент времени.

дозе 0,1 мг/кг и ситаглиптина, этот показатель был несколько ниже. Однако при применении ZB-16 в дозе 1 мг/кг животных снижался значимо в большей степени, чем в группе ситаглиптина (рис. 3, а).

У крыс, получавших ZB-16 в дозе 1 мг/кг или ситаглиптин, наблюдалась более выраженная тенденция к уменьшению потребления пищи и воды (см. рис. 3, б, в), что в совокупности со снижением гликемии натощак и ускорением утилизации глюкозы свидетельствует о более полной компенсации углеводного обмена у животных этих групп.

У животных, получавших лечение, отмечалось лучшее состояние кожно-шерстного покрова, слизистых полости рта, оболочек век и конъюнктив глаз.

Известно, что препараты с инкретиномиметической активностью, помимо стимуляции секреции инсулина, улучшают функциональное состояние β -клеток [11] и оказывают анорексигенное действие [12]. ZB-16 является высокоселективным агонистом рецептора GPR119, который был валидирован в качестве биомиметики для создания противодиабетиче-

Рис. 3. Динамика массы тела (а), потребления воды (б) и пищи (в) животными с ЭСД.

ских средств [4]. Гипогликемическое действие ZB-16, очевидно, связано со способностью этого соединения стимулировать секрецию кишечных гормонов (ГПП-1 и ГИП) и инсулина. Более быстрое восстановление функционального состояния β -клеток может быть следствием цитопротекторного эффекта инкретинов [8]. Отмеченные снижение потребления пищи и уменьшение массы тела экспериментальных животных, получавших ZB-16 и ситаглиптин, могут объясняться анорексигенным действием инкретинов, которое реализуется за счет снижения перистальтики ЖКТ и продления чувства насыщения. В реализации этого эффекта принимает участие и центральный механизм регуляции аппетита,

поскольку рецепторы инкретинов (рецепторы ГПП-1) в большом количестве экспрессируются в зонах ЦНС, отвечающих за пищевое поведение (дугобразное и вентромедиальное ядра гипоталамуса и др.) [12].

Заключение

Агонист рецептора GPR119 — соединение ZB-16 при курсовом введении на фоне ЭСД оказывает выраженное, сопоставимое с ситаглиптином, сахароснижающее действие и ускоряет утилизацию глюкозы тканями. ZB-16 в дозе 0,1 мг/кг и еще в большей степени в дозе 1 мг/кг уменьшает потребление

пищи и воды животными с ЭСД и значимо снижает их массу тела. Все это позволяет считать целесообразным дальнейшее изучение гипогликемического действия соединения ZB-16.

Конфликт интересов отсутствует.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства промышленности и торговли Рос-

сийской Федерации, в рамках реализации государственного контракта «Доклинические исследования лекарственного средства для лечения сахарного диабета 2-го типа на основе агонистов GPR119 рецептора» №13411.1008799.154 от 24.07.13.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дедов И.И., Шестакова М.В., Галстян Г.Р., и др. Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом. Под редакцией И.И. Дедова, М.В. Шестаковой (7-й выпуск). // Сахарный диабет. — 2015. — Т. 18. — №1S — С. 1–112. [Dedov II, Shestakova MV, Galstyan GR, et al. Standards of specialized diabetes care. Edited by Dedov II, Shestakova MV. (7th edition). *Diabetes mellitus*. 2015;18(1S):1–112. (In Russ.)].
doi: 10.14341/dm20151s1-112.
2. Schwartz SS, Kohl BA. Glycemic control and weight reduction without causing hypoglycemia: the case for continued safe aggressive care of patients with type 2 diabetes mellitus and avoidance of therapeutic inertia. *Mayo Clin Proc*. 2010;85(12):S15–S26.
doi: 10.4065/mcp.2010.0468.
3. Дедов И.И. Инновационные технологии в лечении и профилактике сахарного диабета и его осложнений. // Сахарный диабет. — 2013. — Т. 16. — №3 — С. 4–10. [Dedov II. Novel technologies for the treatment and prevention of diabetes mellitus and its complications. *Diabetes Mellitus*. 2013;16(3):4–10. (In Russ.)].
doi: 10.14341/2072-0351-811.
4. Hirasawa A, Hara T, Katsuma S, et al. Free fatty acid receptors and drug discovery. *Biol Pharm Bull*. 2008;31(10):1847–1851.
doi: 10.1248/bpb.31.1847.
5. Тюренков И.Н., Куркин Д.В., Волотова Е.В., и др. Десять новых мишеней для разработки лекарственных средств лечения СД2 и метаболического синдрома. // Сахарный диабет. — 2015. — Т. 18. — №1 — С. 101–109. [Tyurenkov IN, Kurkin DV, Volotova EV, et al. Drug discovery for type 2 diabetes mellitus and metabolic syndrome: ten novel biological targets. *Diabetes mellitus*. 2015;18(1):101–109. (In Russ.)].
doi: 10.14341/dm20151101-109.
6. Fredriksson R, Höglund PJ, Gloriam DEI, et al. Seven evolutionarily conserved human rhodopsin G protein-coupled receptors lacking close relatives. *FEBS Lett*. 2003;554(3):381–388.
doi: 10.1016/S0014-5793(03)01196-7.
7. Тюренков И.Н., Бакулин Д.А., Куркин Д.В., и др. Агонисты gpr119 рецепторов: характеристика, физиологическая роль и перспективы использования в терапии сахарного диабета 2-го типа и метаболического синдрома. Успехи физиологических наук. — 2015. — Т. 46. — №4 — С. 28–37. [Tyurenkov IN, Bakulin DA, Kurkin DV, et al. Agonists gpr119 receptors: characteristics, physiological role and prospects for use in the therapy of type 2 diabetes and metabolic syndrome. *Uspekhi fiziologicheskikh nauk*. 2015;46(4):28–37. (In Russ.)].
8. Галстян Г.Р. Физиологическая роль инкретинов: перспективы лечения больных сахарным диабетом 2-го типа. // Сахарный диабет. — 2006. — Т. 9. — №4 — С. 14–18. [Galstyan GR. Fiziologicheskaya rol' inkretinov: Perspektivy Lecheniya Bol'nykh Sakharным Diabetom 2 Tipa. *Diabetes Mellitus*. 2006;9(4):14–18. (In Russ.)].
doi: 10.14341/2072-0351-6183.
9. Спасов А.А., Воронкова М.П., Снигур Г.Л., и др. Экспериментальная модель сахарного диабета 2-го типа. // Биомедицина. — 2011. — №3 — С. 12–18. [Spasov AA, Voronkova MP, Snigur GL, et al. Eksperimental'naya Model' Sakharного Diabeta Tipa 2. *Biomeditsina*. 2011;(3):12–18. (In Russ.)].
10. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных редств. Часть Первая. / Под редакцией Миронова А.Н. — М.: Гриф И К; 2012. 944 С. [Rukovodstvo Po Provedeniyu Doklinicheskikh Issledovaniy Lekarstvennykh Sredstv. Part 1. Ed By Mironov A.N. Moscow: Grif & K; 2012. 944 P. (In Russ.)].
11. Poucher SM, Cheetham S, Francis J, et al. Effects of saxagliptin and sitagliptin in glycaemic control and pancreatic beta-cell mass in a streptozotocin-induced mouse model of type 2 diabetes. *Diabetes Obes Metab*. 2012;14(10):918–926.
doi: 10.1111/J.1463-1326.2012.01619.X.
12. Richards P, Parker HE, Adriaenssens AE, et al. Identification and characterization of Glp-1 receptor-expressing cells using a new transgenic mouse model. *Diabetes*. 2014;63(4):1224–1233.
doi: 10.2337/D613-1440.