



МИЛАМЕД

Общество с ограниченной ответственностью
«Научно-производственная компания «Миламед»

УТВЕРЖДАЮ

ООО «НПК «Миламед»

Генеральный директор, к.м.н.

Кулаков А.В.

_____ 2014 г.



ОТЧЕТ

О НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЕ НА ТЕМУ:
«ИССЛЕДОВАНИЕ ГИПОГЛИКЕМИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ
БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОЙ ДОБАВКИ «БЕРЕГИНЯ»
НА МОДЕЛИ АЛЛОКСАН-ИНДУЦИРОВАННОГО ДИАБЕТА»

Пермь 2014

ОГЛАВЛЕНИЕ

Реферат	3
Введение	3
ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ	4
МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....	4
РЕЗУЛЬТАТЫ	6
<i>Оценка влияния на уровень гликемии в группе I</i>	6
<i>Оценка влияния на уровень гликемии в группе II</i>	6
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	7
ЛИТЕРАТУРА	8

Отчет: 8 стр., 2 табл., 4 источника литературы

Реферат

Исследование БАД «Берегиня» ООО «Научно-производственная компания «Миламед» (Пермь, РФ) проведено при однократном пероральном введении нелинейным крысам с аллоксан-индуцированным сахарным диабетом, а также интактным животным.

Показано, что Б-0416 проявило гипогликемическую активность различной степени выраженности на животных с аллоксан-индуцированным диабетом, не оказав значимого влияния на уровень глюкозы здоровых животных, что свидетельствует о вероятном отсутствии риска развития гипогликемии как неблагоприятной побочной реакции. При этом в дозе 10 капель / 70 кг Б-0416 вызывал значительное уменьшение уровня глюкозы, проявив эффект на уровне сахароснижающего препарата сравнения – метформина.

Полученные данные позволяют считать Б-0416 перспективным для продолжения изучения в качестве потенциального агента для нормализации уровня гликемии у лиц, страдающих сахарным диабетом. Оптимальной действующей дозой для проявления эффекта необходимо считать 10 капель / 70 кг.

В качестве рекомендации, производителю следует изучить влияние Б-0416 на уровень глюкозы при курсовом применении с последующим уточнением локализации действия данного БАДа.

Ключевые слова: биологически активная добавка, аллоксан-индуцированный диабет, гипогликемическая активность

Введение

Объект исследования – оригинальная биологически активная добавка (БАД) «Берегиня» из листа березы производства ООО «Научно-производственная компания «Миламед» (Пермь, РФ). Возможность проявления биологической активности при диабете определила предмет исследования как поиск гипогликемических свойств.

Соответственно этому сформулированы цель и задачи исследования.

Цель НИР: экспериментальное изучение гипогликемической активности оригинальной отечественной БАД «Берегиня» на животных с аллоксан-индуцированным диабетом, а также на интактных крысах.

Задачи исследования:

- Определение характера действия биологически активной добавки Б-0416 при пероральном однократном введении на уровень гликемии у животных с аллоксан-индуцированным диабетом, а также у крыс без модельного диабета.
- Анализ результатов тестирования агента.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Животные

В опытах использованы нелинейные крысы, которые содержались в типовом виварии с естественным 12-часовым свето-темновым циклом, при температуре воздуха 20-21°C. Их питание осуществлялось в соответствии с нормами кормов для экспериментальных животных. Содержание животных соответствовало правилам лабораторной практики при проведении доклинических исследований в РФ (ГОСТ Р 51000.3-96 Общие требования к испытательным лабораториям) и Приказу МЗ РФ №267 от 19.06.2003г. «Об утверждении правил лабораторной практики» (GLP) с соблюдением Международных рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых при экспериментальных исследованиях. Группы для исследования формировались методом случайной выборки с учетом массы тела в качестве определяющего показателя. В день эксперимента кормление животных проводили после окончания фармакологических испытаний. Исследование биологической активности осуществлялось в соответствии с требованиями Фармакологического комитета, изложенных в «Руководстве по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологически активных веществ».

В эксперименте использовано 42 крысы обоего пола массой тела 220-250 г (24 крысы с аллоксан-индуцированным диабетом – группа с сахарным диабетом (группа I), 18 крыс без модели диабета – интактные группы (группа II)). Перед опытом животных ранжировали по подгруппам, в каждой опытной подгруппе по 6 крыс. Основные группы получали лечение тестируемым агентом. В обеих группах (I, II) оставляли контрольную выборку крыс (n=6) без специфического воздействия и использовали для контроля уровня гликемии. Животных лишали пищи за 16 часов до опыта и на время его проведения.

Модель сахарного диабета

Гипогликемическую активность изучали на модели аллоксанового диабета. Экспериментальную гипергликемию моделировали внутрибрюшинным введением аллоксана тригидрата («Alfa Aesar®») в дозе 170 мг/кг [1]. Эксперименту подвергали животных, у которых развивалась острая гипергликемия через 72 часа после введения диабетогена. Критерием включения животных в эксперимент служил уровень глюкозы в крови в пределах 15-19 ммоль/л. Степень гипогликемической активности соединений сравнивали с активностью субстанции-порошка метформина гидрохлорида (ОАО «Фармакон») в дозе 50 мг/кг [2]. Все исследования выполнены в соответствии с действующими рекомендациями Минздрава России.

Исследуемый агент

Изученная БАД производства ООО «Научно-производственная компания «Миламед» (г.

Пермь, РФ) передана для исследований в достаточном для опыта количестве в оригинальной продажной упаковке и с соответствующими паспортами, содержащими основные хим.-физ. и хим.-фарм. свойства:

1. Берегиня, водный экстракт из листьев березы. Содержание сухого вещества 2%. Рабочий шифр Б-0416.

Условия введения агента животным

Изучаемый агент вводили в дозах 5 капель/ 70 кг, 10 капель/ 70 кг в виде раствора однократно перорально группам I, II с помощью металлического многоразового зонда.

Дозы, определенные соответственно рекомендациям для применения человека в качестве БАД, были рассчитаны индивидуально на массу тела и введены в адекватных объемах для перорального введения лабораторным крысам.

В качестве разбавителя для Б-0416 использована питьевая вода.

Схема лечения: однократно. Для группы I - на 3 сутки после введения дабетогена.

Крысы контрольных групп получали соответствующий разбавитель в адекватной схеме.

Оценка результатов

Концентрацию глюкозы в крови животных определяли глюкозооксидазным методом с использованием набора «Фотоглюкоза» (ООО «Импакт») до введения Б-0416 и метформина, а также через 120 минут после него.

О наличии эффекта судили по % торможения гипергликемии (% ТГ).

Полученные результаты подвергали статистической обработке. Данные всех выборок подвергались оценке на соответствие нормальному распределению при помощи критерия Шапиро—Уилки. Выборочные значения подчинялись нормальному закону распределения. Достоверность различий определяли путем дисперсионного анализа повторных измерений с последующим вычислением t-критерия Стьюдента с поправкой Бонферрони. Результаты представлены в виде $M \pm m$ (M – среднее значение, m – средняя арифметическая ошибка). Различия считали достоверными при уровне $p < 0,05$. Статистическая обработка полученных результатов осуществлялась при помощи программы математической статистики Sigma Stat 3.5 для Windows, а также статистических программ Windows XP (Excel). Сформированная таким образом база данных служила первичным документом эксперимента.

Завершение экспериментов

Завершение экспериментов на крысах выполнено с учетом международных рекомендаций по проведению медико-биологических исследований с использованием животных, изложенных в "Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей", ЕЭС, Страсбург, 1985 г. [3], Хельсинкской декларации и Всемирной медицинской ассоциации (2000) [4].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Контрольные выборки в группах I, II

В контрольной выборке группы I (с СД) в течение 120 минут опыта не наблюдалось достоверно значимого изменения уровня глюкозы: $17,9 \pm 0,5$ ммоль/л и $17,4 \pm 0,8$ ммоль/л, соответственно.

В контрольной выборке группы II (без СД) в течение 120 минут опыта также не наблюдалось достоверно значимого изменения уровня глюкозы: $4,9 \pm 0,3$ ммоль/л и $4,7 \pm 0,4$ ммоль/л, соответственно.

Полученные данные свидетельствуют об отсутствии значимых изменений уровня гликемии без внешних воздействий за время эксперимента.

Б-0416

Оценка влияния на уровень гликемии в группе I

При введении разовой дозы 5 капель / 70кг наблюдалось незначительное уменьшение уровня глюкозы на уровне $13,2 \pm 0,7\%$, хотя результат был достоверным, $p < 0,001$. При разовой дозе 10 капель / 70кг был выявлен значимый гипогликемический эффект, на уровне препарата сравнения – метформина. % торможения гипергликемии составил $49,8 \pm 4,2\%$, результат был достоверным, $p < 0,001$ (табл. 1).

Таблица 1

Гипогликемическая активность Б-0416 в группе I
(крысы с аллоксановым диабетом)

Доза	Уровень глюкозы, ммоль/л		% торможения гипергликемии
	0 мин	120 мин	
5кап/ 70 кг	$25,5 \pm 1,3$	$22,0 \pm 1,2$	$13,2 \pm 0,7^{***1***2}$
10 кап/ 70кг	$19,0 \pm 1,4$	$9,5 \pm 1,1$	$49,8 \pm 4,2^{***1}$
Контроль (алл.диабет)	$17,9 \pm 0,5$	$17,4 \pm 0,8$	$2,8 \pm 0,9$
метформин	$18,4 \pm 0,8$	$9,0 \pm 0,9$	$51,1 \pm 2,1^{***1}$

Примечание: * = $p < 0,05$, ** = $p < 0,01$, *** = $p < 0,001$;

1- по отношению к контролю (алл. диабет); 2- по отношению к метформину.

Оценка влияния на уровень гликемии в группе II

При введении разовых доз 5 капель / 70кг и 10 капель / 70кг не выявлено статистически значимого уменьшения уровня глюкозы - $9,4 \pm 2,4\%$ и $8,5 \pm 2,6\%$ соответственно (табл. 2).

**Гипогликемическая активность Б-0416 в группе II
(интактные крысы)**

Соединение	Уровень глюкозы, ммоль/л		% торможения гипергликемии
	0 мин	120 мин	
5кап/ 70 кг	5,5±0,2	5,0±0,1	9,4±2,4
10 кап/ 70кг	5,1±0,2	4,7±0,2	8,5±2,6
Контроль (интакт)	4,9±0,3	4,7±0,4	4,1±1,4

Примечание: * = $p < 0,05$, ** = $p < 0,01$, *** = $p < 0,001$;

1- по отношению к контролю (интакт);

Оценка влияния на качество жизни

Общее состояние и поведение животных на фоне и после применения агента было удовлетворительным без патологических изменений. Гибели крыс не отмечали.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследование БАД «Берегиня» производства ООО «Научно-производственная компания «Миламед» (Пермь, РФ) проведено при однократном пероральном введении нелинейным крысам с аллоксан-индуцированным сахарным диабетом, а также интактным животным.

Показано, что Б-0416 проявило гипогликемическую активность различной степени выраженности на животных с аллоксан-индуцированным диабетом, не оказав значимого влияния на уровень глюкозы здоровых животных, что свидетельствует о вероятном отсутствии риска развития гипогликемии как неблагоприятной побочной реакции.

При этом в дозе 10 капель / 70 кг Б-0416 вызывал значительное уменьшение уровня глюкозы, проявив эффект на уровне сахароснижающего препарата сравнения – метформина.

Полученные данные позволяют считать Б-0416 перспективным для продолжения изучения в качестве потенциального агента для нормализации уровня гликемии у лиц, страдающих сахарным диабетом. Оптимальной действующей дозой для проявления эффекта необходимо считать 10 капель / 70 кг.

В качестве рекомендации, производителю следует изучить влияние Б-0416 на уровень глюкозы при курсовом применении с последующим уточнением локализации действия данного БАДа.

ЛИТЕРАТУРА

1. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая / Под ред. А.Н. Миронова. - М.: Гриф и К, 2012. - С. 13-24, 685-699.
2. Лекарственные средства. / Под ред. М.Д. Машковского. Изд. 16-е, перераб., испр. и доп. М.: Новая волна. - 2012. - С. 557.
3. Абдрашитова Э.Х., Зайцев Т.И. и др. Стандартизация лабораторных животных по состоянию здоровья // Ланималогия, 1993, №1, с. 7-13.
4. Большаков О.П., Незнанов Н.Г., Бабахаян Р.В. Дидактические и этические аспекты проведения исследований на биомоделях и на лабораторных животных. ВОЗ, 2000. Рекомендации комитетам по этике, проводящим экспертизу биомедицинских исследований // Качественная клиническая практика.- 2002.- №9.- стр.1-15.