

Оригинальное исследование / Research article

Анаболическая активность растительной композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы

Д.А. Халикова, С.В. Аньков, Ю.В. Мешкова, Т.Г. Толстикова

Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН
630090, г. Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 9

Резюме

Исследованы анаболические свойства новой композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы в соотношении 7:50, содержащей экдистен и урсоловую кислоту соответственно, на модели изолированной перегрузки скелетной мышцы голени крыс методом иссечения. **Материал и методы.** Эксперимент проводился на крысах линии сток Wistar обоих полов массой 220–250 г. В начале эксперимента всем животным выполняли операцию тенотомии *musculus gastrocnemius* (*m. gastrocnemius*), после чего внутривентрикулярно в течение 14 дней вводили композицию в разных дозах. По окончании эксперимента крыс декапитировали, забирали кровь для определения биохимических показателей (активность креатинфосфокиназы, содержание глюкозы и лактата) и мышцы из обеих голени для определения разницы между массой *musculus soleus* (*m. soleus*) оперированной и массой *m. soleus* неоперированной лапы. **Результаты и их обсуждение.** Установлен дозозависимый анаболический эффект для композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы. Обнаружено гендерное различие, которое подтверждено полученными значениями активности креатинфосфокиназы, а также соотношением глюкоза/лактат. **Заключение.** Композиция экстрактов левзеи и шрота клюквы на модели изолированной перегрузки скелетной мышцы голени крыс с операцией тенотомии оказывает дозозависимый анаболический эффект у самцов и повышает физическую выносливость у самок крыс.

Ключевые слова: экстракт левзеи, шрот клюквы, композиция, гипертрофия, мышца.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности. Работа выполнена в рамках Государственного задания НИОХ СО РАН №АААА-А21-121011490015-1.

Автор для переписки: Халикова Д.А., e-mail: dasha.halikova@mail.ru

Для цитирования: Халикова Д.А., Аньков С.В., Мешкова Ю.В., Толстикова Т.Г. Анаболическая активность растительной композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2021; 41(6):45–50. doi: 10.18699/SSMJ20210604

Anabolic activity of leuzea and cranberry meal plant extracts composition

D.A. Khalikova, S.V. Ankov, J.V. Meshkova, T.G. Tolstikova

Vorozhtzov Institute of Organic Chemistry of Siberian Branch of the Russian Academy of Science
630090, Novosibirsk, Academician Lavrentiev ave., 9

Abstract

The anabolic properties of a new composition of leuzea and cranberry meal extracts in a ratio of 7:50, containing ecdisten and ursolic acid, respectively, have been investigated on a model of isolated overload of the skeletal muscle of the rats leg by the method of excision. **Material and methods.** The experiment was conducted on Wistar stock rats of both sexes weighing 220–250 g. At the beginning of the experiment, all animals underwent *musculus gastrocnemius* tenotomy (*m. gastrocnemius*), and then the composition has been intragastrically administered for 14 days. At the end of the experiment, the rats were decapitated, blood was taken to determine biochemical parameters (creatine phosphoki-

nase activity, glucose and lactate level) and muscles from both legs were separated to determine the difference between the mass of the musculus soleus (m. soleus) operated on and the mass m. soleus of a non-operated paw. **Results and discussion.** A dose-dependent anabolic effect was established for the composition of leuzea and cranberry meal extracts. A gender difference was found, which was confirmed by the obtained values of creatine phosphokinase activity and glucose/lactate ratio. **Conclusions.** The composition of leuzea and cranberry meal extracts exhibits a dose-dependent anabolic effect in males and increase physical endurance in female rats on the model of isolated overload of the skeletal muscle of the leg of rats with tenotomy operation.

Key words: leuzea extract, cranberry meal, composition, hypertrophy, muscle.

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgments. The work was carried out as part of the implementation of the State task of the VIOC SB RAS № AAAA-A21-121011490015-1.

Correspondence author: Khalikova D.A., e-mail: dasha.halikova@mail.ru

Citation: Khalikova D.A., Ankov S.V., Meshkova J.V., Tolstikova T.G. Anabolic activity of leuzea and cranberry meal plant extracts composition. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2021; 41(6):45–50. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20210604

Введение

В настоящее время для повышения физической работоспособности и восполнения энергетических ресурсов организма применяют комплексный подход с использованием широкого спектра лекарственных средств, таких как витамины, препараты пластического действия, ускоряющие синтез белка и восстанавливающие клеточные структуры (оротат калия, рибоксин, инозин, карнитин), а также препараты энергетического действия, способствующие ускорению восполнения затраченных ресурсов и активации деятельности ферментных систем (аспартат калия, кальция глицерофосфат, кальция глюконат, метионин). В качестве группы адаптогенов, оказывающих общее тонизирующее воздействие на организм и повышающих его устойчивость к широкому спектру неблагоприятных условий, применяют препараты на основе женьшеня, элеутерококка, китайского лимонника, аралии маньчжурской, левзеи сафлоровидной, эхинацеи пурпурной, заманихи высокой и некоторые другие [1, 2].

Однако особое внимание обращается на применение средств с преимущественно анаболическим эффектом, таких как добавки к пище на основе фитостероидов левзеи сафлоровидной, пентациклического тритерпена урсоловой кислоты, флавоноидов и алкалоидов якорца стелющегося, продуктов, содержащих синтетические производные изофлавонов, полифенолов, сапонинов [3]. Важным преимуществом фитостероидов является отсутствие у них специфических гормональных и органотропных эффектов (андрогенный, антигонадотропный, уретротропный, тимолитический), свойственных анаболическим стероидам, что делает данные соединения более привлекательным классом препаратов в перспективе их назначения для детей, женщин и пожи-

лых людей [4]. Кроме того, препараты на основе фитоэкдистероидов в отличие от андрогенных анаболиков, рекомендуемых для улучшения спортивных результатов, отсутствуют в списке допинговых средств [5].

Тритерпеноиды (тритерпены) представляют собой полициклические органические кислоты и спирты, а также продукты их гликозилирования – тритерпеновые сапонины или гликозиды. Тритерпены являются одними из самых распространенных природных источников с примерно 30000 выявленных на сегодняшний день структур [6]. Непосредственно урсоловую кислоту можно встретить в яблоках, облепихе, ирге, гранате, клюкве, бруснике, боярышнике и т.д. [7]. Урсоловая кислота, один из тритерпеноидов, по характеру своего биологического действия близка к гормону надпочечников дезоксикортикостерону. Урсоловая кислота обладает широким спектром фармакологической активности – нейропротекторной, противораковой, противомикробной, гепатопротекторной, противовоспалительной, антиоксидантной и регулирующей уровень глюкозы в крови, что делает данный тритерпеноид потенциальным средством профилактики и терапии различных заболеваний, включая рак, бактериальную инфекцию, сахарный диабет, болезнь Альцгеймера, иммунные расстройства и т.д. [8].

Цель настоящего исследования – изучение анаболической активности новой композиции экстракта левзеи, содержащего экдистен, и экстракта шрота клюквы, содержащего урсоловую кислоту, на модели изолированной перегрузки скелетной мышцы голени крыс.

Материал и методы

Модель изолированной перегрузки скелетной мышцы голени крыс с операцией тенотомии

позволяет судить об анаболической активности биологически активных соединений природного и синтетического происхождения по степени гипертрофии *m. soleus* [9].

Исследования с тенотомией проводили на 48 крысах линии сток Wistar обоих полов (24 самцах и 24 самках) с исходной массой 220–250 г, полученных из вивария ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН. Животных содержали в стандартных условиях со свободным доступом к воде и стандартному гранулированному корму, с влажностью и температурным контролем, с 12-часовым циклом света и темноты. Все манипуляции с животными проводились в строгом соответствии с законодательством РФ, Приказом Минздрава РФ № 199н от 01.04.2015 и положениями Директивы 2010/63/EU Парламента ЕС и Совета Европейского Союза от 22.09.2010 о защите животных, используемых в научных целях.

Исследуемые вещества: экстракт (э-кт) шрота клюквы, содержащий 40 % урсоловой кислоты (Опытное химическое производство Новосибирского института органической химии СО РАН); экстракт левзеи сафлоровидной, содержащий 0,31 % эхдистена («ООО Экстракты Алтай», г. Барнаул), из которых была составлена композиция в разных дозах и изучена ее анаболическая активность.

Под наркозом хлоралгидрата, введенного внутривенно в дозе 350 мг/кг, проводили разрез правой голени крысы длиной 2–3 см с последующим поперечным иссечением *m. gastrocnemius* и *m. soleus*. Далее голень зашивали. Левая голень служила для оценки степени гипертрофии. Поскольку как *m. soleus*, так и удаленные пучки *m. gastrocnemius* прикреплены к ахиллову сухожилию, после операции *m. soleus* принимает на себя основную часть работы по поддержанию веса тела, в связи с чем развивается ее гипертрофия [9]. После операции крыс возвращали в клетки и на следующий день формировали 3 группы по 8 животных обоего пола в каждой:

1 группа – вводили водно-гвиновый раствор;

2 группа – вводили композицию экстрактов левзеи и шрота клюквы в дозе 35 (105 мкг/кг эхдистена) мг/кг + 250 мг/кг (100 мг/кг урсоловой кислоты) соответственно;

3 группа – вводили композицию экстрактов левзеи и шрота клюквы в дозе 70 мг/кг (210 мкг/кг эхдистена) + 500 мг/кг (200 мг/кг урсоловой кислоты) соответственно.

Композицию с эффективным соотношением 7:50 компонентов, подобранным экспериментальным путем, вводили ежедневно однократно внутривенно по 0,5 мл на 100 г массы тела в течение 14 дней. Ежедневно на протяжении всего

эксперимента определяли массу тела у всех животных.

По окончании срока эксперимента крыс декапитировали, из обеих конечностей извлекали *m. soleus* и взвешивали. Определяли разницу между массой *m. soleus* правой и левой лапы, первую принимали за 100 %. Прирост массы *m. soleus* неоперированной (левой) лапы считали выраженностью гипертрофии и проводили сравнения между группами.

Для оценки биохимических показателей у животных забирали кровь, центрифугировали (3000 об./мин, 15 мин), отделяли сыворотку, в которой определяли содержание глюкозы и лактата как маркеров повышения выносливости и активность креатинфосфокиназы (КФК) как маркера повреждения мышечной ткани. Использовали стандартные диагностические наборы («Вектор-Бест», п. Кольцово Новосибирской области) и биохимический анализатор Stat Fax 3300 (Awareness Technology, Inc., США).

Статистическую обработку данных проводили с применением t-критерия для оценки достоверности различий. Данные представлены в формате: среднее значение ± стандартная ошибка среднего (SE). Сравнения между группами проводили при помощи непараметрического U-критерия Манна – Уитни, статистически значимыми считали значения $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

По окончании эксперимента во всех группах наблюдалось увеличение массы тела согласно физиологической норме по сравнению с исходными данными.

Во всех опытных группах у самок развилась гипертрофия левой *m. soleus* (рис. 1, а, б; рис. 2, а). Имеет место дозозависимый анаболический эффект.

У самцов наблюдается более выраженный (рис. 1, в, г; рис. 2, б), чем у самок, дозозависимый анаболический эффект; прирост массы левой *m. soleus* относительно правой на фоне приема композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы в дозе 35:250 мг/кг и в дозе 70:500 мг/кг у самцов составил 84,8 и 111,8 %, у самок – 10,7 и 12,1 % соответственно. Согласно литературным данным, анаболический эффект метандростенолона на аналогичной модели составил 85,6 % прироста массы [9].

В качестве дополнения к анализу анаболического эффекта экстрактов левзеи и шрота клюквы были определены биохимические показатели: уровень глюкозы, лактата и активность КФК. Как видно из таблицы, у самок, получавших экстракт

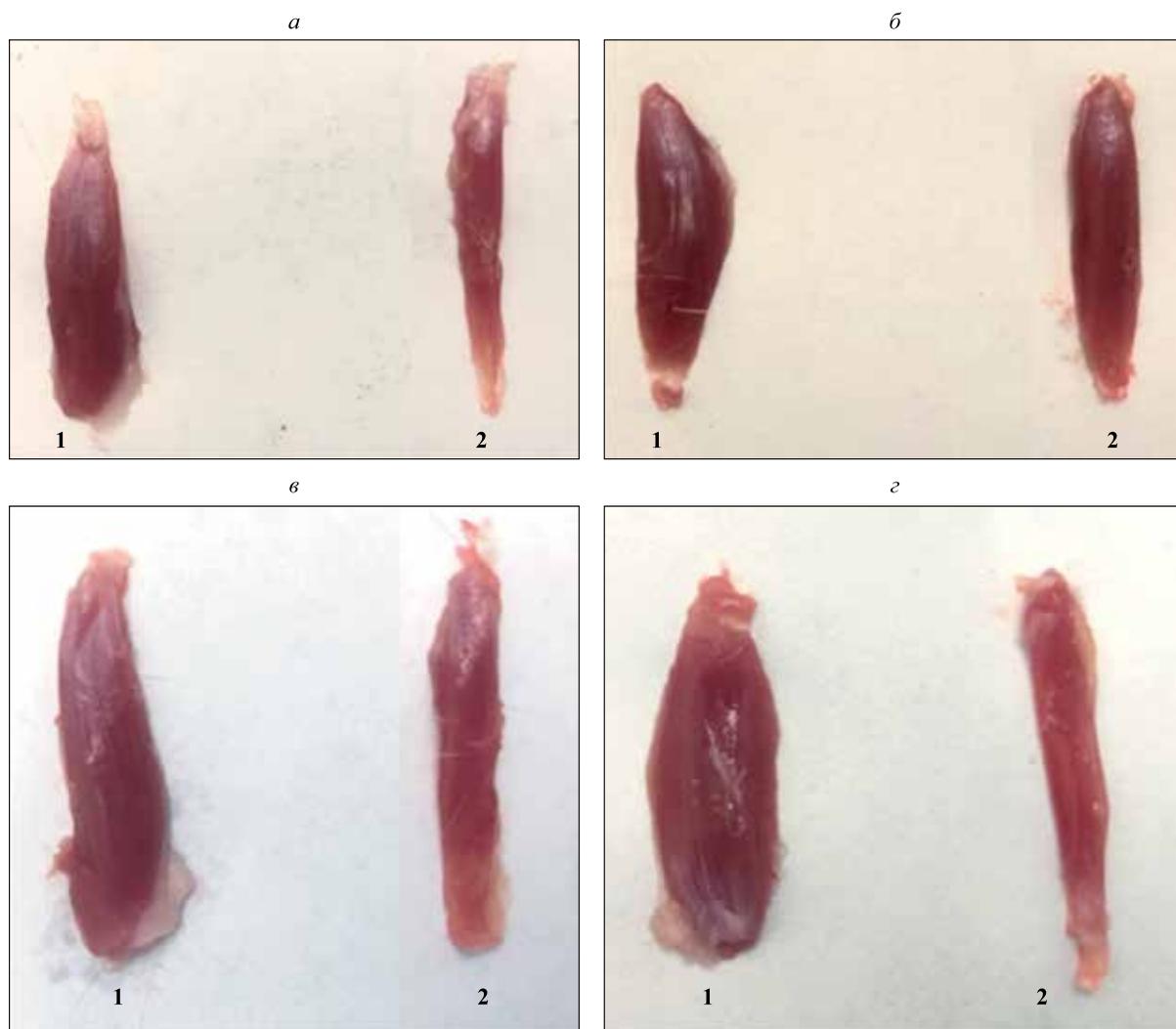


Рис. 1. Гипертрофия мышцы *m. soleus* по окончании эксперимента у самок (а, б) и самцов (в, г). Композиция экстрактов левзеи и шрота клюквы в дозе 35:250 мг/кг (а, в) и 70:500 мг/кг (б, г); 1 – *m. soleus* левой (неоперированной) лапы, 2 – *m. soleus* правой (оперированной) лапы

Fig. 1. Hypertrophy of muscle *m. soleus* at the end of the experiment in females (а, б) and males (в, г). Composition of leuzea and cranberry meal extracts at a dose of 35:250 mg/kg (а, в) and of 70:500 mg/kg (б, г); 1 – *m. soleus* of the left (unoperated) paw, 2 – *m. soleus* of the right (operated) paw

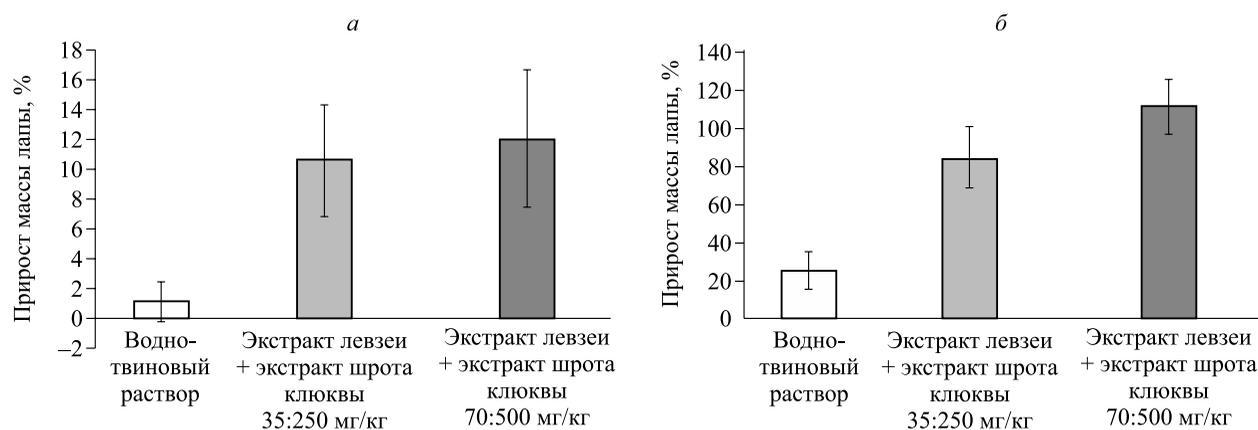


Рис. 2. Прирост массы левой *m. soleus* относительно массы правой *m. soleus* у самок (а) и самцов (б) крыс на фоне приема композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы

Fig. 2. Weight gain of the left *m. soleus* in relation to the right *m. soleus* in female (а) and male rats (б) on the background of taking a composition of leuzea and cranberry meal extracts

Биохимические показатели крови самок и самцов крыс по окончании эксперимента
Biochemical parameters of the blood of female and male rats at the end of the experiment

Вводимый препарат	Содержание глюкозы, ммоль/л	Содержание лактата, ммоль/л	Глюкоза/лактат	Активность КФК, ЕД/л
Самки				
Водно-твиновый раствор	6,70 ± 0,39	6,00 ± 0,29	1,12 ± 0,34	236,9 ± 25,0
Э-кт левзеи + э-кт шрота клюквы 35:250 мг/кг	7,70 ± 0,26*	6,60 ± 0,55	1,17 ± 0,41	268,3 ± 44,4
Э-кт левзеи + э-кт шрота клюквы 70:500 мг/кг	8,60 ± 0,24***	4,30 ± 0,37**	2,00 ± 0,31	219,2 ± 28,8
Самцы				
Водно-твиновый раствор	7,37 ± 0,32	5,8 ± 0,27	1,27 ± 0,30	346,7 ± 148,7
Э-кт левзеи + э-кт шрота клюквы 35:250 мг/кг	7,55 ± 0,46	6,61 ± 0,32	1,14 ± 0,39	527,2 ± 35,8
Э-кт левзеи + э-кт шрота клюквы 70:500 мг/кг	6,12 ± 0,34**	8,09 ± 0,47	0,76 ± 0,41	542,7 ± 67,9

Примечание. Обозначены статистически значимые отличия от соответствующих показателей группы контроля (водно-твиновый раствор): * – при $p < 0,05$, ** – при $p < 0,005$, *** – при $p < 0,0005$.

ты левзеи и шрота клюквы в дозе 70:500 мг/кг, достоверно повышается содержание глюкозы и снижается концентрация лактата в крови, что ведет к возрастанию соотношения глюкоза/лактат, последнее характеризует увеличение физической выносливости [10]. Повышение активности КФК в опытных группах по сравнению с контролем у самок отсутствует, что связано с умеренным анаболическим эффектом. У самцов, которым вводили экстракты левзеи и шрота клюквы в дозах 35:250 и 70:500 мг/кг, наблюдается увеличение активности КФК, что свидетельствует о повреждении мышцы, возможно, связанное с более высоким анаболическим эффектом.

Таким образом, на модели изолированной перегрузки скелетной мышцы голени крыс с операцией тенотомии установлен дозозависимый анаболический эффект для композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы, содержащей экидистен и урсоловую кислоту соответственно. Обнаружено гендерное различие: на самцах показан сопоставимый с эффектом метандростенолона, в то время как для самок – умеренный (на уровне 10 %) анаболический эффект. Данное различие подтверждено определением активности КФК, величина которой у самок не превышала значение контрольной группы, в то время как для самцов наблюдалось повышение показателя в 1,6 раза по сравнению с контролем. Тем не менее у самок отмечалось возрастание выносливости, характеризующееся увеличением значения соотношения глюкоза/лактат в 1,8 раза.

Заключение

Композиция экстрактов левзеи и шрота клюквы в соотношении 7:50, содержащая экидистен и урсоловую кислоту соответственно, на модели изолированной перегрузки скелетной мышцы голени крыс с операцией тенотомии оказывает дозозависимый анаболический эффект у самцов крыс и повышает физическую выносливость у самок крыс.

Список литературы

1. Liao L.Y., He Y.F., Li L., Meng H., Dong Y.M., Yi F., Xiao P.G. A preliminary review of studies on adaptogens: comparison of their bioactivity in TCM with that of ginseng-like herbs used worldwide. *Chin. Med.* 2018;13:57. doi: 10.1186/s13020-018-0214-9
2. Сейфулла Р., Потупчик Т., Полубояринов П., Петрова Е., Поликарпочкин А., Елистратов Д., Струков В. Возможности применения комбинированного адаптогена Леветон П. *Врач.* 2018;29(10):37–43. doi: 10.29296/25877305-2018-10-10
3. Гунина Л. Диетические добавки в системе внутренировочных факторов стимуляции работоспособности спортсменов. *Наука в олимпийском спорте.* 2015;2:27–36.
4. Васильев А.С. Фармакологические эффекты экстрактов экидистероидсодержащих растений в условиях повышенной вязкости крови: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Томск, 2012.
5. Васильев А.С., Абдрашитова (Поломеева) Н.Ю., Удут В.В. Экидистероиды и их

биологическая активность. *Раст. ресурсы*. 2015;51(2):229–259.

6. Furtado N.A.J.C., Pirson L., Edelberg H., Miranda L.M., Loira-Pastoriza C., Preat V., Larondelle Y., André C.M. Pentacyclic triterpene bioavailability: an overview of *in vitro* and *in vivo* studies. *Molecules*. 2017;22(3):400. doi: 10.3390/molecules22030400

7. Woźniak Ł., Skąpska S., Marszałek K. Ursolic acid-A pentacyclic triterpenoid with a wide spectrum of pharmacological activities. *Molecules*. 2015;20(11):20614–20641. doi: 10.3390/molecules201119721

8. Sun Q., He M., Zhang M., Zeng S., Chen L., Zhou L., Xu H. Ursolic acid: A systematic review of its pharmacology, toxicity and rethink on its pharmacokinetics based on PK-PD model. *Fitoterapia*. 2020;147:11. doi: 10.1016/j.fitote.2020.104735

9. Гаджиева Д.М., Панюшкин В.В., Сейфулла Р.Д., Орджоникидзе З.Г. Сравнительное изучение анаболизирующей активности «Апилака» и «Метандростенолона» на модели изолированной перегрузки скелетной мышцы голени крыс. *Эксперим. и клин. фармакол.* 2002;65(1):56–57. doi: 10.30906/0869-2092-2002-65-1-56-57

10. Бобков Ю.Г., Виноградов В.М., Катков В.Ф., Лосев С.С., Смирнов А.В. Фармакологическая коррекция утомления. М.: Медицина, 1984. 208 с.

References

1. Liao L.Y., He Y.F., Li L., Meng H., Dong Y.M., Yi F., Xiao P.G. A preliminary review of studies on adaptogens: comparison of their bioactivity in TCM with that of ginseng-like herbs used worldwide. *Chin Med*. 2018;13:57. doi: 10.1186/s13020-018-0214-9

2. Seifulla R., Potupchik T., Poluboyarinov P., Petrova E., Pollkarpochkin A., Ellstratov D., Strukov V. Possibilities of using the combined adaptogen Leveton P. *Vrach = Doctor*. 2018;29(10):37–43. [In Russian]. doi: 10.29296/25877305-2018-10-10

3. Gunina L. Dietetic supplements in the system of extra-training factors of athlete work capacity stimula-

tion. *Nauka v olimpiyskom sporte = Science in Olympic Sport*. 2015;2:27–36. [In Russian].

4. Vasilev A.S. Pharmacological effects of extracts of ecdysteroid-containing plants in conditions of increased blood viscosity. Abstract of thesis... doct. biol. sci. Tomsk, 2012. [In Russian].

5. Vasiliev A.S., Abdrashitova (Polomeyeva) N.Yu., Udut V.V. Ecdysteroids and their biological activity. *Rastitel'nyye resursy = Plant. Resources*. 2015;51(2):229–259. [In Russian].

6. Furtado N.A.J.C., Pirson L., Edelberg H., Miranda L.M., Loira-Pastoriza C., Preat V., Larondelle Y., André C.M. Pentacyclic triterpene bioavailability: an overview of *in vitro* and *in vivo* studies. *Molecules*. 2017;22(3):400. doi: 10.3390/molecules22030400

7. Woźniak Ł., Skąpska S., Marszałek K. Ursolic acid-A pentacyclic triterpenoid with a wide spectrum of pharmacological activities. *Molecules*. 2015;20(11):20614–20641. doi: 10.3390/molecules201119721

8. Sun Q., He M., Zhang M., Zeng S., Chen L., Zhou L., Xu H. Ursolic acid: A systematic review of its pharmacology, toxicity and rethink on its pharmacokinetics based on PK-PD model. *Fitoterapia*. 2020;147:11. doi: 10.1016/j.fitote.2020.104735

9. Gadzhieva D.M., Panyushkin V.V., Seifulla R.D., Ordzhonikidze Z.G. A comparative study of the anabolic activity of Apilac and Methandrosthenolone on a model of isolated overload of the skeletal muscle in rats. *Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya = Experimental and Clinical Pharmacology*. 2002;65(1):56–57. [In Russian]. doi: 10.30906/0869-2092-2002-65-1-56-57

10. Bobkov Yu.G., Vinogradov V.M., Katkov V.F., Losev S.S., Smirnov A.V. Pharmacological correction of fatigue. Moscow: Meditsina, 1984. 208 p. [In Russian].

Сведения об авторах:

Дарья Александровна Халикова, ORCID: 0000-0002-3932-2491, e-mail: dasha.halikova@mail.ru

Сергей Владимирович Аньков, к.б.н., ORCID: 0000-0001-5588-8420, e-mail: sergey.ankov42@gmail.com

Юлия Владимировна Мешкова, ORCID: 0000-0002-5935-2540, e-mail: meshkova_29@mail.ru

Татьяна Генриховна Толстикова, д.б.н., проф., ORCID: 0000-0002-3750-2958, e-mail: tg_tolstikova@mail.ru

Information about the authors:

Daria A. Khalikova, ORCID: 0000-0002-3932-2491, e-mail: dasha.halikova@mail.ru

Sergey V. Ankov, candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0001-5588-8420, e-mail: sergey.ankov42@gmail.com

Julia V. Meshkova, ORCID: 0000-0002-5935-2540, e-mail: meshkova_29@mail.ru

Tatiana G. Tolstikova, doctor of biological sciences, professor, ORCID: 0000-0002-3750-2958, e-mail: tg_tolstikova@mail.ru

Поступила в редакцию 26.08.2021

После доработки 23.09.2021

Принята к публикации 18.10.2021

Received 26.08.2021

Revision received 23.09.2021

Accepted 18.10.2021