

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение науки
Новосибирский институт органической химии им. Н.Н.Ворожцова
Сибирского отделения Российской академии наук

На правах рукописи

Киселёва Дарья Александровна

ВЛИЯНИЕ КОМПОЗИЦИИ ЭКСТРАКТОВ *RHAPONTICUM*
CARTHAMOIDES И ШРОТА *VACCINIUM OXYCOCCUS* НА УГЛЕВОДНЫЙ
И ЛИПИДНЫЙ ОБМЕН
(экспериментальное исследование)

3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:

доктор биологических наук, профессор
Толстикова Татьяна Генриховна

Новосибирск – 2023

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	14
1.1 Метаболизм (обмен веществ в организме).....	14
1.2 Обмен белков, жиров, углеводов во время отдыха и физических нагрузок. 17	
1.3 Нарушение метаболизма	19
1.4 Растительные источники как подход к коррекции нарушения метаболизма (обмена веществ).....	20
1.5 Растительные средства с широким спектром биологической и фармакологической активности	22
1.5.1 Тритерпены	22
1.5.1.1 Клюква обыкновенная (<i>Vaccinium oxycoccos</i> L.)	24
1.5.1.2 Основные биологически активные соединения <i>Vaccinium oxycoccos</i> L..	25
1.5.1.3 Механизмы гипогликемического, гиполипидемического и анаболического эффектов урсоловой кислоты	27
1.5.2 Экдистероиды	29
1.5.2.1 Левзея сафлоровидная (<i>Rhaponticum carthamoides</i> Willd.).....	32
1.5.2.2 Основные биологически активные соединения <i>Rhaponticum carthamoides</i> Willd.....	33
1.5.2.3 Механизмы гипогликемического, гиполипидемического и анаболического эффектов экдистена	35
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	39
2.1 Экспериментальные животные.....	39
2.2 Объекты исследования	40
2.3 Экспериментальные группы	40
2.4 Экспериментальные модели	45
2.5 Методы исследования.....	51
ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.....	55

3.1 Скрининг гипогликемической активности композиций экстрактов левзеи и шрота клюквы в глюкозотолерантном тесте	55
3.1.1 Исследование влияния композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы в дозе 170:50 мг/кг на показатели глюкозотолерантного теста при длительном введении (4 недели).....	55
3.1.2 Исследование влияния композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы в дозе 35:250 мг/кг на показатели глюкозотолерантного теста при длительном введении (4 недели).....	57
3.1.3 Исследование влияния композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы в дозе 70:500 мг/кг на показатели глюкозотолерантного теста при длительном введении (4 недели).....	60
3.1.4 Исследование влияния композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы в дозе 170:50 мг/кг и 35:250 мг/кг на показатели глюкозотолерантного теста на фоне физической нагрузки «бег на тредмиле»	63
3.1.5 Исследование влияния композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы в дозе 35:250 мг/кг и 70:500 мг/кг на показатели глюкозотолерантного теста на фоне физической нагрузки «вынужденное плавание с грузом»	64
3.2 Исследование адаптогенных свойств композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы на фоне физической нагрузки «принудительное плавание»	66
3.3 Изучение анаболической активности композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы на модели изолированной перегрузки скелетной мышцы голени крыс	73
3.4 Исследование влияния композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы на уровень тестостерона	75
3.5 Исследование токсичности композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы при длительном введении (4 недели)	77
3.6 Исследование влияния композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы на метаболические процессы на фоне диет-индуцированной модели сахарного диабета II типа	86

3.7 Исследование влияния композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы на перераспределение жировой ткани на генетической модели сахарного диабета II типа	93
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	100
ВЫВОДЫ	103
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	104
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	105

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования. Любое заболевание сопровождается нарушением нормального протекания обмена веществ (метаболизма) в соответствующем органе, ткани или во всем организме. В условиях ухудшающейся экологической обстановки отмечается тенденция к расширению спектра патологических состояний. Поиск альтернативных подходов для лечения заболеваний способствовал повышению интереса к лекарственным средствам растительного происхождения. Стоит отметить, что более 80% популяций растений используется в первой линии лечения различных заболеваний, преимущества которых заключаются в низкой токсичности, лучшей переносимости, широком диапазоне доз, комплексном системном воздействии на организм (Abu-Odeh, A.M. et al., 2021; Ghasemi Pirbalouti A. et al., 2012; Rauf A. et al., 2021). В связи с этим, в настоящее время становится крайне важным рациональное и целенаправленное использования сырьевых ресурсов, а также создание новых видов продукции с широким спектром фармакологического действия (Филонов А.В. и др., 2017). Новые данные свидетельствуют о том, что ценность лекарственных растений объясняется наличием в них большого количества вторичных метаболитов: полифенолов, тритерпенов, фитогормонов, гликозидов и т.д. (Bujor O.C. et al., 2019; Chiocchio I. et al., 2021; Majhi S., 2022). Это обуславливает способность растительных лекарственных средств восполнять дефицит эссенциальных микроэлементов в организме человека, обеспечивая нормальное течение метаболических и физиологических процессов (Kornen N.N. et al., 2016). Использование же вторичных продуктов переработки, т.н. возобновляемых природных соединений, обеспечивает возможность получения дополнительной продукции высокой биологической ценности и целенаправленного расходования резервов природных ресурсов (Пашенко Л.П. и др., 2012).

В связи с этим несомненный интерес представляют растительные источники

фитоэкдистероидов, такие как *Serratula coronata* (серпуха венценосная), *Rhaponticum carthamoides* (левзея сафлоровидная), *Cyathula officinalis* (циатула лекарственная), *Menispermum dauricum* (луносемянник даурский), *Spinacia oleracea* (шпинат огородный), *Silene tatarica* (смолевка татарская) (Соловьёва А.Г. и др., 2021). Фитоэкдистероиды известны своей многочисленной и разнообразной биологической активностью, связанной с их анаболическим, адаптогенным, противодиабетическим, гиполипидемическим и гепатопротекторным действием (Васильев А.С. и др., 2015; Das N. et al., 2021). Одним из наиболее распространенных отечественных природных источников фитоэкдистероидов является левзея сафлоровидная (*Rhaponticum carthamoides* (Willd.)) (Ериков В.М., и др., 2008). В настоящее время около 200 химических соединений, принадлежащих к различным химическим группам, были обнаружены в левзее, что объясняет широкий спектр её биологической активности (Das N. et al., 2021; Głazowska J. et al., 2018). Содержание фитоэкдистероидов (в частности, 20-гидроксиэкдизона) варьируется в зависимости от части растения, не превышая 2% сухого вещества по отношению к сухой массе растения (Васильев А.С. и др., 2015; Kokoska L. et al., 2009). В связи с чем включение в состав биологически активных добавок (БАД) левзеи сафлоровидной в виде экстракта позволит увеличить (концентрировать) количественное содержание биологически активных соединений (фитоэкдистероидов).

Другим, не менее значимым источником фармакологически активных веществ является клюква обыкновенная (*Vaccinium oxycoccos* L.) – лекарственное растение, богатое фитохимическими веществами, такими как полифенолы, флавоноиды и антоцианы, которые придают ему антиоксидантные и противовоспалительные свойства (Cesoniene L. et al., 2009; Narwojsz A. et al., 2019). В то же время, экстракт клюквы является источником с высоким содержанием пентациклических тритерпенов, в частности урсоловой кислоты (Neto C.C., 2007). Согласно имеющимся литературным данным, урсоловая кислота обладает антиоксидантным, противовирусным, противогрибковым, гепатопротекторным, гиполипидемическим, гипогликемическим, противовоспалительным действием

(Cargnin S.T. et al., 2017; Shai L.J. et al., 2008; Wan S.Z. et al., 2019). В настоящее время растительное сырье клюквы (плоды) используется в фармацевтической (производство пищевых добавок и БАД) и пищевой промышленности (производство функциональных продуктов питания) (Gardana C. et al., 2020; Viskelis P. et al., 2009). Однако, использование шрота клюквы, то есть жмыха, получаемого в процессе экстракции жира из измельченных семян различных масличных культур, в качестве сырья для производства экстрактов, позволит наиболее полно истощить сырье, утилизировать отходы пищевой промышленности и снизить затраты на получение натуральных консервантов (Stobnicka A. et al., 2018; Viskelis P. et al., 2009).

Наряду с целенаправленным расходом природных ресурсов, которое обеспечивает возобновляемость сырья, и таким образом фармакоэкономичность, большим потенциалом обладает применение комплексных растительных экстрактов. Особый интерес в этом направлении представляют малоизученные аспекты сочетанности действия фармакологических эффектов фитоэкдистероидов и пентациклических тритерпеноидов. В связи с этим, на базе лаборатории фармакологических исследований Института органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН была разработана растительная композиция, состоящая из экстракта левзеи сафлоровидной и экстракта шрота клюквы обыкновенной.

Степень разработанности проблемы. Разработка эффективных и безопасных комплексных лекарственных средств растительного происхождения, способствующих восстановлению и поддержанию метаболических процессов организма после нагрузок и снижающих негативные последствия последних, представляет огромный интерес.

Экстракты, отвары, настои и другие лекарственные формы из корней левзеи сафлоровидной (*Rh.carthamoides (Willd.)*) используются в различных БАД благодаря наличию адаптогенных и тонизирующих свойств, антиоксидантной, противодиабетической, гипохолестеринемической и анаболической активности (Biskup E. et al., 2013; Biskup E., et al., 2010; Kokoska L. et al., 2009; Todorova V. et al., 2021).

Клюква обыкновенная (*V.oxycoccus* L.), как функциональный продукт питания, вызывает растущий общественный интерес из-за потенциальной пользы для здоровья, связанной с фитохимическими веществами, содержащимися в плодах (Szakiel A. et al., 2007). Однако, существующие на данный момент БАД на основе клюквы предназначены исключительно для терапии и профилактики заболеваний мочевыводящих путей (Fu Z. et al., 2017; Williams G. et al., 2023; Xia J.Y. et al., 2021).

В регистре лекарственных средств России существуют отдельные БАД на основе левзеи сафлоровидной, клюквы, но композиции из двух растительных компонентов (в том числе в виде экстрактов левзеи и шрота клюквы) в настоящее время на фармацевтическом рынке отсутствуют.

Цель исследования: Изучение влияния новой композиции на основе экстрактов левзеи сафлоровидной и шрота клюквы обыкновенной, содержащих экдистен и урсоловую кислоту соответственно, на углеводный и липидный обмен.

Задачи исследования:

1. Скрининг гипогликемической активности композиций экстрактов левзеи и шрота клюквы в глюкозотолерантном тесте на фоне и без физической нагрузки.
2. Изучение наличие адаптогенных свойств у выбранной композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы на фоне физической нагрузки.
3. Исследование анаболической активности выбранной композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы на модели изолированной перегрузки скелетных мышц методом иссечения.
4. Изучение влияния выбранной композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы на уровень тестостерона.
5. Изучение токсического влияния выбранной композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы на организм животных при длительном введении.
6. Исследование влияния выбранной композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы на метаболические процессы на фоне патологических изменений.

Научная новизна. Впервые проведены исследования влияния растительной композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы в разных соотношениях на показатели углеводного обмена у экспериментальных животных (мышей, крыс) на

фоне и без физической нагрузки.

На основании проведенного скрининга подобрано эффективное соотношение компонентов растительной композиции 70:500 мг/кг.

Выявлено, что композиция экстрактов левзеи и шрота клюквы в дозе 70:500 мг/кг обладает адаптогенными свойствами на фоне физической нагрузки, что обусловлено снижением концентрации лактата и глюкозы как в крови, так и мышцах.

Установлено, что разработанная композиция в дозе 70:500 мг/кг обладает выраженной анаболической активностью, сопоставимой с активностью смеси действующих веществ – экдистена и урсоловой кислоты.

Впервые установлено, что однократное введение композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы в дозе 70:500 мг/кг способствует повышению уровня эндогенного тестостерона.

Впервые продемонстрировано, что длительное введение (4 недели) разработанной композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы в дозе 70:500 мг/кг не оказывает кардиотоксического эффекта, негативного влияния на поведение, физиологическое состояние, биохимические показатели крови экспериментальных животных.

Впервые обнаружено, что при применении композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы в дозе 70:500 мг/кг на фоне патологических изменений (генетической модели сахарного диабета II типа) наблюдается уменьшение размеров адипоцитов белой и бурой жировой ткани. Показано, что композиция на фоне диет-индуцированной модели сахарного диабета II типа положительно влияет на показатели липидного обмена и не усугубляет течение патологических процессов в печени и поджелудочной железе.

Теоретическая и практическая значимость работы. Проведенные экспериментальные исследования показали перспективность композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы для разработки биологически активных добавок, способствующих восстановлению или поддержанию уровня метаболических процессов (углеводного, белкового, липидного обмена).

Материалы диссертации могут быть использованы при подготовке лекционного материала по фармакогнозии, фитохимии, экспериментальной фармакологии.

Методология и методы исследования. В соответствии с поставленными задачами были использованы современные высокоинформативные методологические подходы, включающие теоретический (изучение литературы по предмету исследования), экспериментальный (фармакологический), гистологический, биохимический, математический (статистический анализ результатов) методы исследования. Объектами исследования были выбраны мыши линии C57BL/6 обоих полов, аутбредные CD-1 обоих полов, самцы линии C57BL/6^{Ay} (Agouti yellow), белые крысы сток Вистар обоих полов. Все исследования проведены на базе Лаборатории фармакологических исследований ФГБУН Новосибирского института органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. На фоне оценки изменения показателей глюкозотолерантного теста (на фоне и без физической нагрузки) наиболее эффективной дозой компонентов в композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы является 70:500 мг/кг.
2. Применение композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы в дозе 70:500мг/кг на фоне физической нагрузки (тест «принудительное плавание») способствует снижению концентрации глюкозы и лактата как в крови, так и в мышцах.
3. Композиция экстрактов левзеи и шрота клюквы в дозе 70:500 мг/кг обладает анаболической активностью, способствуя развитию гипертрофии мышцы *m.soleus* на модели изолированной перегрузки скелетных мышц методом иссечения.
4. На фоне однократного введения композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы в дозе 70:500 мг/кг происходит увеличение уровня тестостерона, что обусловлено наличием в составе композиции экстракта шрота клюквы.
5. Длительное введение (4 недели) композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы в дозе 70:500 мг/кг не оказывает токсического влияния на организм

животных.

6. На фоне диет-индуцированной модели сахарного диабета II типа, генетической модели сахарного диабета II типа композиция экстрактов левзеи и шрота клюквы в дозе 70:500 мг/кг не усугубляет течение патологических процессов в органах-мишенях, оказывает положительное влияние на показатели липидного обмена и перераспределение жировой ткани.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность полученных в ходе исследования результатов подтверждается достаточным объемом экспериментального материала, использованием современного оборудования и применением актуальных методов исследования, которые соответствуют поставленным задачам проведенной работы. Выводы, сформулированные в диссертации, основаны на полученных в ходе исследований лабораторных данных, подтверждены анализом литературы, точностью статистической обработки полученных результатов.

Основные результаты диссертационного исследования были доложены на международной Всеукраинской научно-практической конференции молодых ученых и студентов «Современные аспекты медицины и фармации - 2021» (Запорожье, 2021); XXIX-ой международной конференции и дискуссионном научном клубе «Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии» (Гурзуф, 2021); Первой всероссийской школы для молодых ученых по медицинской химии MEDCHEMSCHOOL2021 (Новосибирск, 2021); 5-ой Российской конференции по медицинской химии с международным участием «МедХим – Россия 2021» (Волгоград, 2021); XXX-ой международной конференции и дискуссионном научном клубе «Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии» (Гурзуф, 2022); Международной научно-практической конференции «The 8th International Electronic Conference on Medicinal Chemistry» (Базель, Швейцария, 2022); XII-ой Всероссийской научной конференции с международным участием «Химия и технология растительных веществ» (Киров, 2022); VIII-ой Междисциплинарной конференции «Молекулярные и Биологические аспекты Химии, Фармацевтики и

Фармакологии» (Санкт-Петербург, 2023); Всероссийской научной конференции с международным участием «Современные проблемы органической химии» (Новосибирск, 2023).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 13 работ, в том числе 4 статьи опубликованы в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации для опубликования основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук, из которых 3 – в журналах, входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования (Web of Science, Scopus); 9 тезисов в материалах научных конференций и съездов Всероссийского и международного уровней.

Связь работы с научными программами, планами, темами. Работа была поддержана договором НИР № 1-14/51-22 ООО БЭГРИФ в рамках гранта Миннауки г. Новосибирска «Исследование фармакологической активности и безопасности продуктов на основе тритерпеноида и стероидных соединений ландшафтных растений Сибири и Алтая для коррекции метаболических процессов и повышения работоспособности».

Работа выполнена в рамках государственного задания ФНИ НИОХ СО РАН «Современные подходы к изучению токсико-фармакологических свойств биологически активных веществ, лекарственных форм и материалов для медицины» (рук. проф. Т.Г. Толстикова), (приоритетное направление 1.4.5.4 Химико-биологический скрининг новых лекарственных средств).

Личный вклад автора. Автором самостоятельно изучена и проанализирована литература по теме диссертации. Автор непосредственно принимал участие в экспериментальных работах *in vivo*, сборе первичных данных, статистической обработке, интерпретации полученных результатов, подготовке научных публикаций по теме диссертационного исследования.

Объём и структура работы. Диссертация изложена на 133 страницах машинописного текста и включает введение, обзор литературы, материалы и

методы, результаты и обсуждение, заключение, выводы. Иллюстрирована 13 таблицами и 35 рисунками. Список использованной литературы включает 236 работ, в том числе 212 работ – иностранных авторов.

Автор выражает личную признательность и благодарность своему научному руководителю д.б.н., проф. Т.Г. Толстиковой за неоценимую помощь в интерпретации полученных результатов и написании диссертационной работы. Автор искренне признателен с.н.с., к.б.н. С.В. Анькову за ценные указания и помощь при выполнении экспериментальной части работы. Автор благодарит в.н.с., д.м.н. Н.А. Жукову за помощь в интерпретации результатов гистологического исследования. Автор благодарен всем сотрудникам лаборатории фармакологических исследований НИОХ СО РАН за содействие в выполнении работы.

ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Метаболизм (обмен веществ в организме)

Биохимические механизмы, с помощью которых химическая энергия, содержащаяся в продуктах питания, становится доступной для организма, в совокупности называются метаболизмом. Благодаря данным преобразованиям обеспечивается нормальная жизнедеятельность клеток, тканей, органов и всего организма в целом (Maughan R., 2009). Классически эти биохимические процессы подразделяются на метаболизм трех основных пищевых макронутриентов – белков, жиров и углеводов (Рисунок 1) (Elia M. et al., 2007).

Углеводы являются наиболее распространенным макронутриентом в рационе человека, обеспечивая 45-70% ежедневной энергии (Ludwig D.S. et al., 2018a). Они также доступны организму из эндогенных запасов в виде мышечного и печеночного гликогена. Около 80-100 г хранится в печени, однако самый большой запас углеводов находится в скелетных мышцах. В дополнение к общему потреблению углеводов, данные свидетельствуют о том, что “тип” потребляемых углеводов также является важным фактором, определяющим значения метаболических показателей (Choo V.L. et al., 2018; Ludwig D.S. et al., 2018b; Reynolds A. et al., 2019). Углеводы можно разделить на два основных типа: простые и сложные. К простым углеводам относятся моносахариды (глюкоза, фруктоза и галактоза), дисахариды (мальтоза, сахароза и лактоза), к сложным полисахариды (крахмал, гликоген и клетчатка) (Ludwig D.S. et al., 2018a).

Глюкоза является основным источником энергии для мозга, красных кровяных телец и используется в качестве энергетического субстрата мышечной, жировой тканью, печенью, сердцем, почками и кишечником (Mulukutla B.C. et al., 2016). Кроме того, глюкоза необходима для окисления жирных кислот, синтеза глюкогоновых аминокислот. Таким образом, изменение её количества имеет важные последствия для питания и здоровья.

Липидный обмен включает биосинтез и деградацию липидов, таких как жирные кислоты, триглицериды и холестерин (Schoeler M. et al., 2019). Жирные кислоты выполняют важные функции в структуре и функционировании клеточных мембран, передаче сигналов клеткам, выработке стероидных гормонов, а также обмену веществ и производстве энергии (Wali J.A. et al., 2021). Триглицериды представляют собой основной источник накопления энергии, а фосфолипиды и холестерин являются наиболее важными компонентами липидной мембраны. Жиры условно разделяют на “полезные” и “вредные” из-за их воздействия на организм человека. Трансгенные и насыщенные жирные кислоты могут увеличивать риск развития метаболических и сердечно-сосудистых заболеваний, в то время как моно- и полиненасыщенные жиры являются важным компонентом клеточных мембран внутренних органов человека (Wu J.H.Y. et al., 2019). Таким образом, из рекомендуемых 20-35% калорий, поступающих из жиров, преобладающая форма должна быть из фракции “полезных” (Raubenheimer D. et al., 2015).

Очевидно, что белки играют чрезвычайно важную роль в метаболическом здоровье человека, обеспечивая около 20-25% энергии суточного рациона. Количество и смесь аминокислот в белках сами по себе являются мощными модуляторами метаболизма (Cummings N.E. et al., 2018; Solon-Biet S.M. et al., 2019; Yip Y.W. et al., 2020). Из 21 протеиногенной аминокислоты девять являются “незаменимыми” и должны поступать с пищей; шесть “условно незаменимыми”; и еще шесть “заменимыми” (Wu G. et al., 2014). Белки входят в структуру плазмы крови, гемоглобина, гормонов, цитоплазмы, иммунных клеток, а также отвечают за водно-солевой баланс и процессы ферментации. Аминокислоты выполняют роль нейромедиаторов (нейротрансмиттеров), участвуют в биосинтезе глюкозы, а также являются важным источником метаболической энергии в форме АТФ (аденозинтрифосфат) (Simonson M. et al., 2020). Таким образом, изменение содержания белка в организме будет приводить к нарушению гомеостаза и специфической реактивности организма.

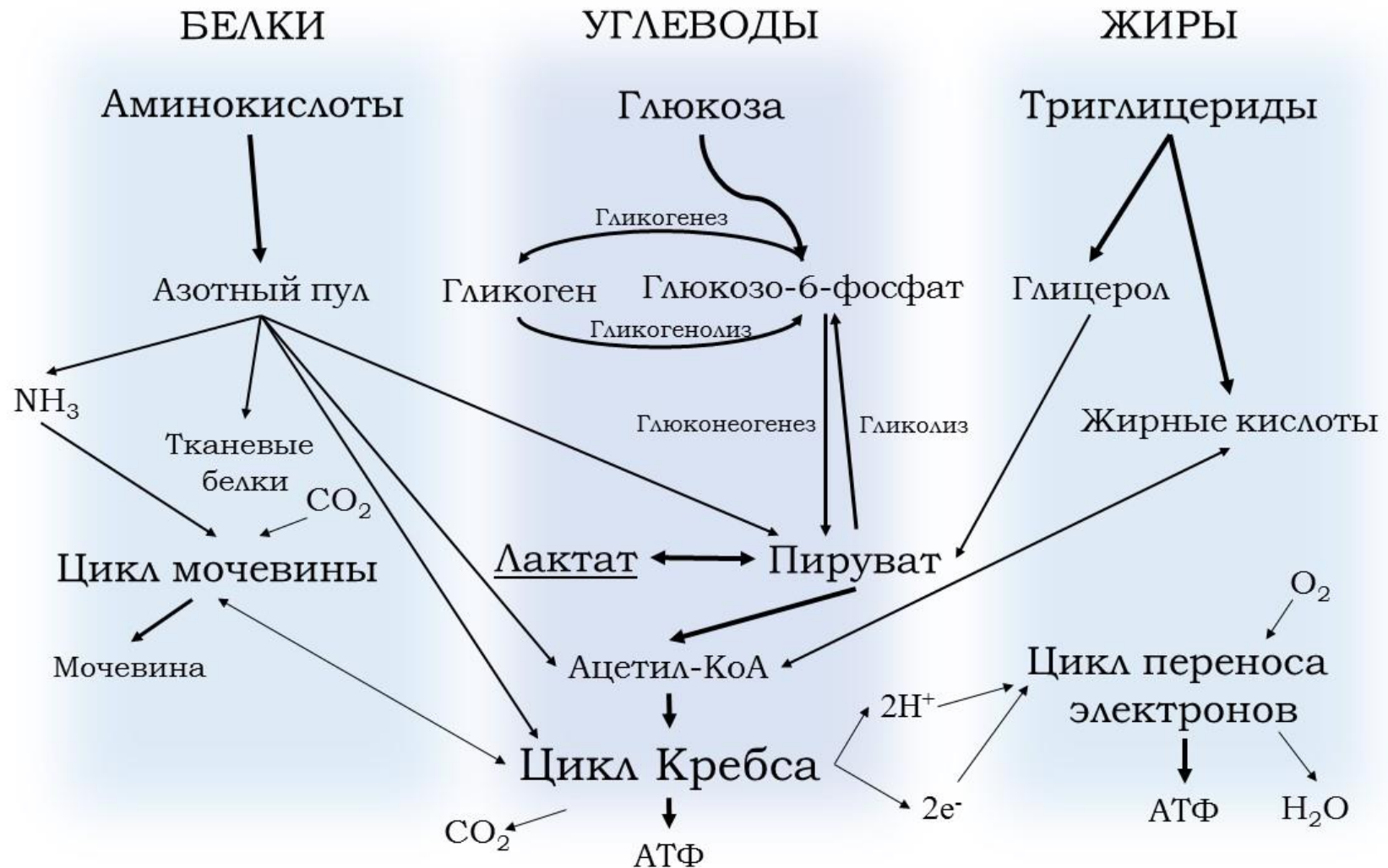


Рисунок 1 – Взаимосвязь обмена белков, жиров, углеводов (адаптировано) (Martini F. et al., 2001)

1.2 Обмен белков, жиров, углеводов во время отдыха и физических нагрузок

В состоянии покоя организм человека обеспечивается энергией в основном за счет окисления углеводов и жиров (Mul J.D. et al., 2015). Глюкоза крови, свободные от плазмы жирные кислоты, мышечный гликоген и внутримышечные триглицериды являются основными источниками для производства энергии в скелетных мышцах (Sidossis L.S. et al., 1996; Wolfe R.R., 1998).

Сокращение скелетных мышц во время физических упражнений приводит к увеличению потребности мышц в энергии, которая обеспечивается усиленной выработкой АТФ (Zurlo F. et al., 1990). Интенсивность, продолжительность и тип упражнений определяют механизмы, с помощью которых будет вырабатываться дополнительная энергия (Codella R. et al., 2017). Фермент АТФаза способствует расщеплению АТФ до АДФ (аденозиндифосфат) и неорганического фосфата (Pi), при этом высвобождается энергия; однако в мышечных клетках присутствует лишь небольшое количество АТФ (Keyser R.E., 2010). Дополнительным, но меньшим источником энергии является креатинфосфат, который может быть ресинтезирован в АТФ ферментом креатинкиназой для восполнения истощенных уровней АТФ.

Источниками углеводов для мышц являются глюкоза крови, мышечный гликоген и гликоген печени. Глюкоза и гликоген преобразуются в глюкозо-6-фосфат, после чего могут быть использованы для выработки энергии. Глюкозо-6-фосфат проходит в основном через гликолитический путь вплоть до образования пировиноградной кислоты (пирувата). Затем пируват либо попадает в цикл трикарбоновых кислот после превращения в ацетил-КоА в реакции, катализируемой пируватдегидрогеназой (аэробный гликолиз), либо превращается в лактат в реакции, катализируемой лактатдегидрогеназой (анаэробный гликолиз) (Рисунок 1). Когда гликолитическая активность увеличивается, выработка пирувата превышает скорость его поступления в митохондрии и увеличивается выработка лактата. При высокой интенсивности физических нагрузок лактат используется в качестве субстрата сердцем, скелетными мышцами или для глюконеогенеза главным образом в печени и, в меньшей степени, в почках. При

этом, в результате анаэробного гликолиза происходит образование трех молекул АТФ на молекулу гликогена или двух молекул АТФ на молекулу глюкозы. Этого количества недостаточно для поддержания постоянной мышечной активности в течение длительного времени. При субмаксимальных физических нагрузках потребление кислорода увеличивается, и в течение нескольких минут достигается устойчивое состояние. Это устойчивое состояние указывает на то, что аэробные процессы обеспечивают большую часть энергии, необходимой сокращающимся мышцам.

Таким образом, истощение запасов гликогена, увеличение концентрации лактата в крови, мышцах и снижение активности креатинкиназы в мышцах считаются важными факторами, ограничивающими работоспособность (Noakes T.D., 2000). Стоит отметить, что концентрация лактата в крови отражает баланс между транспортировкой лактата из мышц в кровь и его элиминацией, а не только его выработкой в мышцах (Beneke R. et al., 2005).

В состоянии голодания и во время упражнений низкой интенсивности основная часть энергии, необходимая мышцам, обеспечивается окислением свободных жирных кислот, которые преимущественно выводятся из плазмы (Baak M.A.Van, 1999). Когда физические нагрузки увеличиваются до умеренного уровня интенсивности, источником жирных кислот для окисления также являются внутримышечные триглицериды. Хотя оба источника жирных кислот способствуют удовлетворению энергетических потребностей мышц, даже в сочетании их недостаточно для восполнения энергозатрат организма. Таким образом, во время упражнений средней интенсивности около половины общей энергии обеспечивается за счет окисления углеводов, поступающих как из мышечного гликогена, так и из глюкозы крови (Romijn J.A. et al., 1993). Во время высокоинтенсивных упражнений вклад окисления жирных кислот плазмы становится еще меньше, а окисление углеводов обеспечивает примерно две трети общей потребности в энергии. Углеводный обмен является предпочтительным источником топлива в этих условиях, поскольку скорость производства АТФ в два раза выше, чем жирных кислот (Mata F. et al., 2019). Несмотря на то, что жиры и

углеводы являются основными видами топлива, способствующими окислительному метаболизму во время физических нагрузок, в экстремальных условиях белки могут подвергаться катаболизму, в результате которого образовавшиеся аминокислоты также могут использоваться в качестве субстрата для получения энергии (Mortimore G.E. et al., 2003).

1.3 Нарушение метаболизма

Избыток или дефицит макронутриентов (белков, жиров и углеводов) может привести к различным проблемам со здоровьем, влекущим за собой метаболические и психические нарушения, особенно в контексте малоподвижного образа жизни (Fekete M. et al., 2022; Wali J.A. et al., 2021). Помимо несбалансированного питания, стресс, гормональный дисбаланс, интоксикация организма, диеты, недостаточность сна и наследственность также способствуют нарушению обмена веществ, приводя к различным осложнениям работы систем органов и всего организма (Курбатова Т.В., 2019).

Первыми клиническими симптомами нарушения обмена веществ могут быть: появление отеков и гиперемии кожи; сухость, ломкость, выпадение волос; хрупкость ногтевой пластины; резкое изменение веса тела; суставные и мышечные боли; нездоровый цвет кожных покровов; бессонница; расстройство терморегуляции (Lasselin J. et al., 2014).

К серьёзным негативным последствиям относится резистентность к инсулину, которая связана с ожирением и является провоцирующим фактором развития сердечно-сосудистых заболеваний, сахарного диабета II типа, метаболического синдрома (Mul J.D. et al., 2015). Ожирение является результатом активации двух процессов: увеличения объема жировых клеток вследствие накопления в них липидов без возрастания количества адипоцитов; усиленного образования жировых клеток из их предшественников – преадипоцитов (Guilherme A. et al., 2008). Как инсулинорезистентность, так и висцеральное ожирение, являются одними из элементов “метаболического синдрома”, также включающего

гипергликемию, дислипидемию, гипертонию (Andersen C.J. et al., 2016).

Тактика лечения нарушений обменных процессов зависит от сложности и причин патологии. Лечение тяжелых нарушений метаболизма включает комплекс мер, направленных на восстановление (медикаментозную коррекцию обменных процессов) обмена веществ, лекарственную терапию сопутствующих состояний.

Несмотря на то, что синтетические препараты одобрены во многих странах и являются жизненно необходимым средством для лечения множества заболеваний, в последнее время был проявлен большой интерес к использованию продуктов растительного происхождения как новому защитному и даже терапевтическому подходу для лечения и восстановления организма после перенесенных заболеваний (Nabavi S.F. et al., 2015; Negi P.S., 2012).

1.4 Растительные источники как подход к коррекции нарушения метаболизма (обмена веществ)

За последние несколько лет в разных странах был проведен ряд исследований, доказывающих эффективность продуктов растительного происхождения, из которых были выделены тысячи соединений, обладающих разнообразными фармакологическими свойствами (Nemzer B.V. et al., 2022; Slimestad R. et al., 2022; Veenstra J.P. et al., 2021).

Растения используются для лечения широкого спектра метаболических дисфункций, благодаря наличию большого количества вторичных метаболитов, что делает их ценными источниками новых биологически активных молекул (Mir S.A. et al., 2019). Вторичные метаболиты вырабатываются растениями во время их роста и развития, а также в качестве защитного механизма против стрессовых условий, будь то атака микроорганизмов, насекомых или неблагоприятные условия окружающей среды. Эти соединения классифицируются по различным группам, таким как: флавоноиды, фенольные соединения, каротиноиды, фитостеролы, терпеноиды, алкалоиды, сапонины, ароматические кислоты, дубильные вещества, гликозиды, каротиноиды, эфирные масла и другие (Muñoz-Shugulí C. et al., 2021).

Из-за наличия широкого спектра биологически активных веществ лекарственные растения могут обладать антиоксидантными, антибиотическими, противовирусными, противоопухолевыми, противопаразитарными, противогрибковыми, гипогликемическими, гипотензивными и инсектицидными свойствами (Armendáriz-Barragán V. et al., 2016). Это отражает большой терапевтический потенциал растительных источников, и отличает их от синтетических препаратов терапевтическим действием (возможными синергетическими эффектами), а также низким уровнем токсических и системных побочных эффектов (Buchholz T. et al., 2016). Благодаря таким свойствам, растения широко используются в традиционной медицине, входят в состав функциональных продуктах питания, используются в производстве биологически активных добавок.

Другим важным преимуществом (ключевым свойством) растительного сырья является его возобновляемость, благодаря которому получение новых материалов может быть осуществлено без привлечения внешних ресурсов (Дюкарев В.А. и др., 2012).

Кроме того, в настоящее время для концентрированного извлечения биологически активных веществ из лекарственного растительного сырья применяют экстрагирование. Данная технология более экономична, чем создание лекарственных препаратов на основе синтетических и полусинтетических субстанции и, вследствие этого, имеет большие перспективы для разработки растительных экстрактов как дополнительных средств в комплексной терапии ряда заболеваний.

Стоит отметить, что наряду с целенаправленным выделением (экстрагированием) отдельных биологически активных веществ большим потенциалом обладает применение комбинаций/комплексных растительных экстрактов, что может обеспечить наличие возможных синергических эффектов и более широкий диапазон терапевтического действия.

1.5 Растительные средства с широким спектром биологической и фармакологической активности

1.5.1 Тритерпены

Хорошо известно, что лекарственные растения являются неисчерпаемым источником химических соединений с потенциальным терапевтическим эффектом. В этом контексте одной из растительных групп, выделяемых благодаря их разнообразной биологической активности, являются тритерпены, которые проявляют противовоспалительные, обезболивающие, противовирусные, противогрибковые, гепатопротекторные, иммуномодулирующие, гемолитические, цитостатические и противоопухолевые свойства (Chudzik M. et al., 2015).

Тритерпены принадлежат к самой большой группе биологически активных веществ, известных как терпены, которые обнаруживаются на поверхности растений, таких как кора, стебли, листья и в восковом слое кожуры фруктов (Christianson D.W., 2017; Oldfield E. et al., 2012). На их концентрацию в растениях влияют различные факторы, в том числе географическое положение, сезонность (погодные условия), время сбора урожая (Parmar S.K. et al., 2013).

Тритерпены образуются по изопреноидному пути посредством циклизации сквалена (простейшей формы тритерпена) из двух молекул фарнезилпирофосфата, соединенных хвост к хвосту (Muffler K. et al., 2011). Химически тритерпены содержат шесть единиц изопрена ((C_nH_n)₆: C₃₀) и могут существовать в виде ациклических, моно-, би-, три-, тетра- и пентациклических производных, а также нортритерпенов и тритерпеноидных сапонинов (Cox-Georgian D. et al., 2019; Lin M. et al., 2021). На сегодняшний день идентифицировано около 30 000 структур тритерпеновых соединений, которые могут встречаться в свободной форме, в виде гликозидов (сапонинов), сложных эфиров (Lin M. et al., 2021; Oboh M. et al., 2021) (Рисунок 2).

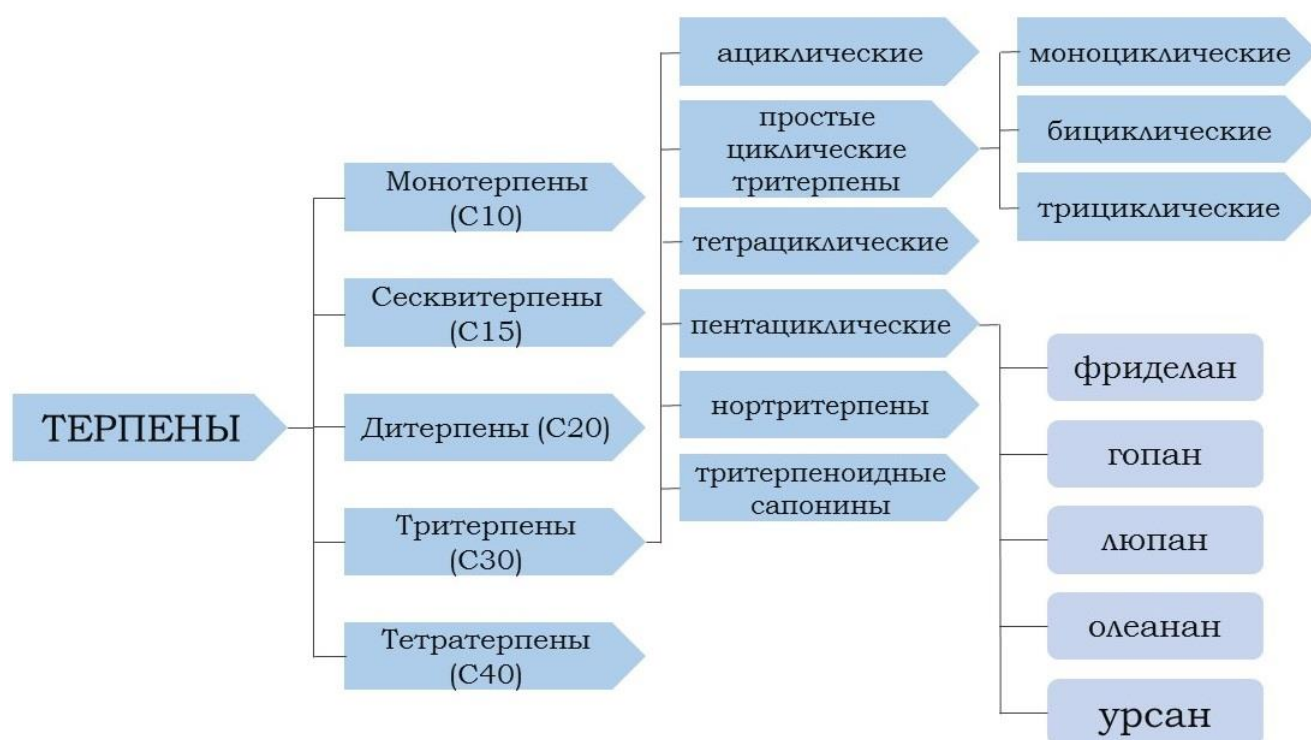


Рисунок 2 – Классификация тритерпенов (адаптировано) (Cox-Georgian D. et al., 2019; Lin M. et al., 2021)

Наиболее изученными являются пентациклические тритерпены - вторичные метаболиты растений и широко распространенные в природе фитохимические вещества (Muffler K. et al., 2011). Наличие широкого спектра биологической активности у данного класса тритерпенов привлекает внимание ученых из-за их потенциального использования в качестве ценного источника для разработки новых терапевтических средств (Khwaza V. et al., 2021).

В растительном мире существуют сотни природных пентациклических тритерпенов, которые подразделяются на четыре основные категории в зависимости от их структурного каркаса: урсан (пять шестичленных колец с одним метилом в положении 19 и 20), олеанан (пять шестичленных колец с двумя метильными группами в положении 20), фриделан (пять шестичленных колец с метильными группами в C4, 5, 10, 8, 13), гопан (пять шестичленных колец с шестью метильными группами) и люпан (четыре шестичленных кольца и одно пятичленное кольцо (Nguyen H.N. et al., 2021).

Одним из наиболее изученных терпеноидов являются урсоловая кислота (3 β -гидроксиурс-12-ен-28-оловая кислота, молекулярная формула $C_{30}H_{48}O_3$, молекулярная масса 456,68), содержащаяся в листьях, цветах и плодах многих лекарственных трав, таких как *Rosmarinus officinalis* (розмарин лекарственный), *Ocimum basilicum* (базилик душистый), а также во фруктах, включая *Pyrus malus* (кожура яблока), *Vaccinium oxycoccus* (плоды клюквы) (Jinhua W., 2019; Wang L. et al., 2021).

Далее остановимся на характеристике свойств клюквы обыкновенной (*Vaccinium oxycoccus*), широко распространенной на территории Сибири и доступной в качестве растительного сырья.

1.5.1.1 Клюква обыкновенная (*Vaccinium oxycoccus* L.)

Vaccinium oxycoccus (Клюква обыкновенная, малая клюква, северная, дикорастущая или болотная клюква) вызывает растущий общественный интерес как функциональный продукт питания из-за потенциальной пользы для здоровья, связанной с фитохимическими веществами, содержащимися в плодах. Представляет собой вечнозелёный стелющийся полукустарник из семейства Вересковые (*Ericaceae*), произрастающий на тундровых, торфяных или сфагновых болотах, в местах с низким дренированием и высоким уровнем грунтовых вод (Jurikova T. et al., 2019). Географическое распространение клюквы включает северную половину европейской части России, Северную Америку, Сибирь и Дальний Восток (Ефремов А.П., 2021).

Потребление клюквы исторически связано с лечением заболеваний почек и инфекций мочевыводящих путей (Fu Z. et al., 2017). Согласно имеющимся литературным данным, клюква обладает: антимикробной и противовирусной активностью (Sedbare R. et al., 2022), антиоксидантным (Narwojsz A. et al., 2019), противовоспалительным (Mlcek J. et al., 2016), противораковым (Masoudi M. et al., 2017), кардиопротективным эффектом (Kivimäki A.S. et al., 2011).

Дикорастущие ягоды рода *Vaccinium* становятся все более популярными для

укрепления здоровья человека благодаря наличию широкого спектра фармакологических свойств. Растительное сырье клюквы (порошки и экстракты) используется в производстве клюквенного сока, кондитерских изделий, пищевых добавок и лекарственных средств (Gardana C. et al., 2020). Поскольку интерес к употреблению клюквы для профилактики заболеваний растет, важно полностью изучить другие потенциальные преимущества данного лекарственного растения для здоровья.

1.5.1.2 Основные биологически активные соединения *Vaccinium oxycoccos* L.

В различных видах рода *Vaccinium* (*V. macrocarpon*, *V. vitis-idaea* и *V. oxycoccos*) обнаружено около 10000 фитохимических веществ (Brown P.N. et al., 2012). Химический состав плодов клюквы, произрастающей в естественных условиях, варьируется в зависимости от сочетания природных и климатических факторов (тепло и свет, гидротермический режим, атмосферное давление и т.д.), присущих каждому региону (Lyutikova M.N. et al., 2011).

Плоды *V. oxycoccos* представляют собой исключительный источник биологически активных соединений, основными из которых являются: 3 класса флавоноидов (флаван-3-олы, антоцианы и проантоцианидины), гидроксикоричные и другие фенольные кислоты, тритерпеноиды, органические кислоты, витамины С, Е (Klavins L. et al., 2016; Tikuma B. et al., 2014). Кроме того, клюква содержит различные сахара, такие как сахароза, глюкоза, фруктоза и сорбит (Raghavan S. et al., 2006; Vasileiou I. et al., 2013).

Полифенольные соединения важны для нормального роста растений и защиты от неблагоприятных факторов внешней среды (инфекции, повреждения) (Kulbat K., 2016).

Флаван-3-олы клюквы присутствуют в виде мономеров, олигомеров и полимеров и составляют около 85% от общего количества флаван-3-олов в пересчете на массу (Blumberg J.B. et al., 2013). Около 75% флаван-3-олов составляют кверцетиновые гликозиды, однако также присутствуют гликозиды

мирицетина и, в меньшей степени, кемпферола. Кверцетин является одним из наиболее широко изученных в отношении противоопухолевой активности из-за его распространенности среди фруктов и овощей (Lee L.T. et al., 2002).

Проантоцианидины относятся к классу полифенолов с повторяющимися мономерными звеньями катехина и эпикатехина и являются ведущими соединениями фенольных соединений клюквы обыкновенной (*V.oxycoccos*). Они отвечают за органолептические, противовоспалительные, антибактериальные и противовирусные свойства плодов клюквы (Cesoniene L. et al., 2015). Эпикатехин является преобладающим составным элементом проантоцианидинов клюквы, тогда как катехин и галлокатехины присутствуют в следовых количествах (Neto C.C., 2007).

Красный цвет, а также наличие антиоксидантных и противовоспалительных свойств клюквы обусловлен наличием антоцианов. Их содержание в клюкве увеличивается с созреванием, а также зависит от сорта и размера плода (Cesoniene et al., 2015). Основные антоцианы клюквы: галактозиды и арабинозиды цианидина и пеонидина (Blumberg J.B. et al., 2013).

Основными представителями фенольных кислот в клюкве являются производные коричной и бензойной кислот (Jurikova T. et al., 2019). Однако, согласно литературным данным, шрот клюквы *V.oxycoccos* содержит только две фенольные кислоты, а именно 3-О-кофеилхиновую кислоту и кофеинную кислоту (Tian Y. et al., 2017). В качестве основных органических кислот в плодах *V.oxycoccos* содержатся лимонная кислота, яблочная и хинная кислоты (Jurikova T. et al., 2019).

Как правило, наиболее важными группами биоактивных соединений в плодах *V.oxycoccos* являются, кроме полифенольных, тритерпеновые соединения (Jurikova T. et al., 2019). Пентациклический тритерпеноид урсоловая кислота впервые была обнаружена в плодах клюквы в 1934 году, а позже в шроте клюквы, который был удален как часть отходов, оставшихся при производстве клюквенного сока (Kondo M. et al., 2011). Методом жидкостной хроматографии с tandemной масс-спектрометрией было показано, что количественное содержание урсоловой

кислоты составляет 60-110 мг/100 г в цельных плодах клюквы разных сортов (Neto С.С., 2007). Позже было доказано, что тритерпеновые соединения сохраняются в пищевых продуктах и пищевых добавках, изготовленных из плодов клюквы (Blumberg J.B. et al., 2013).

Урсоловая кислота представляет собой природный агликон пентациклических тритерпеноидов урсанового типа, впервые обнаружена в 1920-х годах из воска эпидермиса яблоки (Wang L. et al., 2021). Исследование острой токсичности выявило, что у мышей и крыс LD₅₀ при пероральном введении составляет > 2 г/кг (Mishra V. et al., 2021). Урсоловая кислота является неотъемлемой частью рациона человека и одним из наиболее важных и широко встречающихся в лекарственных травах представителей тритерпенов (Son J. et al., 2020). Содержится данный тритерпеноид главным образом в восковом слое кожуры плодов, поэтому концентрация урсоловой кислоты в обработанных фруктах будет в значительной степени зависеть от методов обработки и количества оставшейся кожуры плодов (Sun Q. et al., 2020). Новые исследования показывают, что это соединение заслуживает дальнейшего рассмотрения из-за наличия у него разнообразных биологически активных свойств.

1.5.1.3 Механизмы гипогликемического, гиполипидемического и анаболического эффектов урсоловой кислоты

Урсоловая кислота обладает широким спектром фармакологических свойств (присущим пентациклическим тритерпенам), многие из которых были подтверждены исследованиями *in vitro*, *in vivo*. Согласно имеющимся литературным данным, урсоловая кислота способствует снижению уровня глюкозы, однако механизм гипогликемического эффекта до конца не изучен (He Y. et al., 2014). Описанные на сегодняшний день механизмы гипогликемического эффекта включают:

1. Прямое ингибирование протеинтирозинфосфатазы-1В, которая усиливает фосфорилирование рецептора инсулина и стимулирует поглощение глюкозы

(Zhang W. et al., 2006).

2. Увеличение синтеза гликогена в печени, за счёт ингибирования гликогенфосфорилазы, которая уменьшает гликогенолиз, а также стимулирует синтез гликогена (Azevedo M.F. et al., 2010).

3. Сохранение целостности β -клеток и архитектуры островков поджелудочной железы, также способствует предотвращению метаболической дисфункции β -клеток (Jang S.M. et al., 2009; Jayaprakasam B. et al., 2006).

4. Стимулирование поглощения глюкозы в адипоцитах путем активации внутриклеточного сигнального пути фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K) (He Y. et al., 2014).

5. Активацию протеинкиназы B(Akt) скелетных мышц, что приводит к поглощению глюкозы жировой тканью, сердечной и скелетными мышцами, снижению ожирения, улучшению толерантности к глюкозе (Kunkel S.D. et al., 2012)

6. Увеличение чувствительности тканей к инсулину за счёт транслокации (усиления регуляции) инсулинзависимого белка-переносчика глюкозы 4 типа (GLUT-4) в адипоцитах (Mancha-Ramirez A.M. et al., 2016).

Урсоловая кислота также проявляет гипополипидемические эффекты через несколько целевых путей:

1. Увеличивает активность 5'АМФ-активируемой протеинкиназы в клетках скелетных мышц, которая способствует подавлению адипогенеза и снижению воспаления (Sharma H. et al., 2018).

2. Снижает концентрацию клеточных триглицеридов и холестерина в гепатоцитах за счет увеличения поглощения и окисления свободных жирных кислот, ингибирования их синтеза (Chu X. et al., 2015; Jia Y. et al., 2011).

Влияние урсоловой кислоты на мышцы:

1. Способствует развитию гипертрофии мышц (Bang H.S. et al., 2014; Ebert S.M. et al., 2015; Jeong J.W. et al., 2015):

- Повышает активность инсулиноподобного фактора роста-I (IGF-I), его концентрацию в крови (Kang Y.S. et al., 2019);
- Усиливает фосфорилирование Akt в мышцах *in vivo* и *in vitro*,

опосредованное IGF-I и инсулином (Kunkel S.D. et al., 2011).

2. Уменьшает мышечную атрофию, вызванную голоданием и денервацией, путем ингибирования экспрессии мРНК специфических мышечных белков атрогина-1 и MuRF1 (Wang Y. et al., 2021).

3. Стимулирует дифференцировку и минерализацию остеобластов, способствуя активации митоген-активируемых протеинкиназ и факторов транскрипции NF- κ B и AP-1 (Lee S.U. et al., 2008).

4. Стимулирует липолиз в адипоцитах посредством активации пути цАМФ-зависимой протеинкиназы A и усиления регуляции адипоцитарной триглицеридной липазы (Li Y. et al., 2010).

За счёт увеличения массы скелетных мышц, силы захвата, урсоловая кислота способствует увеличению выносливости, т.е. переносимости физических нагрузок, чем увеличивает их продолжительность (Jeong J.W. et al., 2015; Kunkel S.D. et al., 2012).

Из-за наличия многочисленных преимуществ для здоровья, урсоловая кислота получила распространение, в том числе в спортивном сообществе, как потенциальное фитохимическое вещество функционального питания.

1.5.2 Экдистероиды

Экдистероиды представляют собой полярные стероидные гормоны линьки насекомых, которые контролируют клеточную пролиферацию, рост и развитие клеток (Das N. et al., 2021). Структура экдистероидов состоит из 27-30 атомов углерода с четырехкольцевым стероидным скелетом — циклопентанопергидрофенантеном и содержит полигидроксильные группы (4-7 гидроксильных групп) (Das N. et al., 2021; Głazowska, J. et al., 2018; Tarkowska D. et al., 2016). Экдистероиды находятся в свободном состоянии или в конъюгированной форме с сахарами (например, глюкозой и галактозой) в виде гликозидов или с органическими кислотами в виде сложных эфиров (таких как ацетат, бензоат), сульфатами или изопропилиденом (Arif Y. et al., 2022).

В зависимости от природного источника экидистероиды подразделяются на три группы: фитоэкидистероиды, зооэкидистероиды и микоэкидистероиды. Эти вещества были также обнаружены во всех классах членистоногих, водорослях, грибах, одноклеточных простейших, папоротниках, голосеменных и покрытосеменных растениях (Васильев А.С. и др., 2015). Однако, данную классификацию не следует рассматривать как «строго разграничивающую», поскольку некоторые экидистероиды (например, экизон, 20-гидроксиэкидистерон, макистерон А) присутствуют как у животных, так и в растениях (Tarkowská D. et al., 2016).

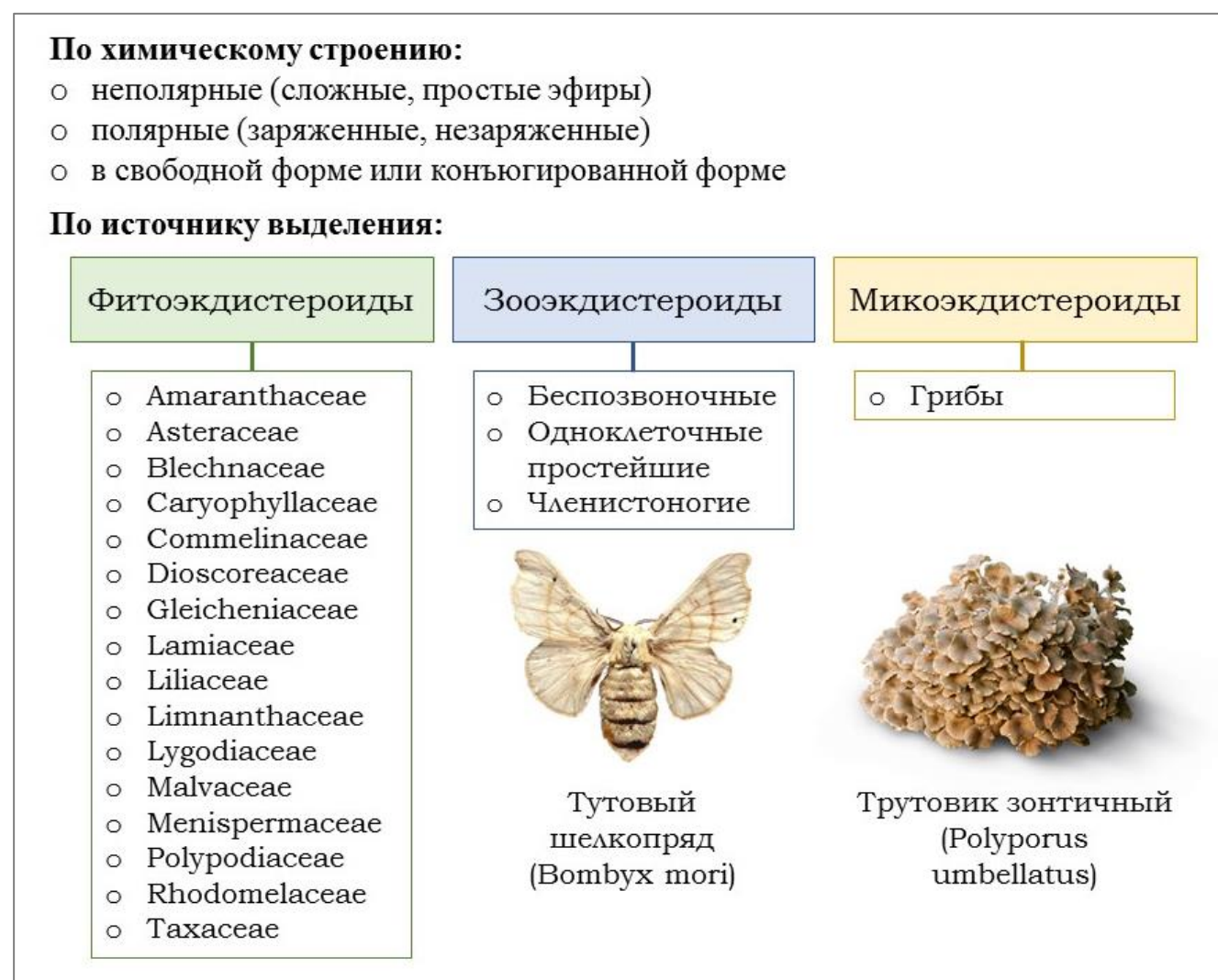


Рисунок 3 – Классификация экидистероидов (адаптировано) (Arif Y. et al., 2022; Васильев А.С. и др., 2015)

В отличие от хорошо известной гормональной активности экидистероидов у животных, существуют многочисленные данные, доказывающие отсутствие специфических гормональных и органотропных эффектов у растительных экидистероидов (Васильев А.С. и др., 2015; Lafont R. et al., 2003; Tarkowská D. et al., 2016). По этой причине фитоэкидистероиды обычно рассматриваются как вторичные метаболиты растений. Содержание фитоэкидистероидов в растениях варьируются от едва определяемых до высоких, в зависимости от вида, части растения, составляя 0,00001-2 % в расчете на сухую биомассу (Соловьёва А.Г. и др., 2021). Обладают очень низкой токсичностью для млекопитающих: у мыши LD₅₀ составляет 6,4 г/кг (для внутрибрюшинной инъекции) и > 9 г/кг при пероральном введении (Marks E.P., 1970; Ogawa S. et al., 1974). Их основной функцией в растениях является обеспечение химической защиты от определенных травоядных насекомых, путем модуляции вкусовых рецепторов насекомых (Dinan L. et al., 2021).

К настоящему времени обнаружено более 200 видов фитоэкидистероидов, однако наиболее распространенным и зачастую основным фитоэкидистероидом, присутствующим в растении, является 20-гидроксиэкидистерон (молекулярная формула C₂₇H₄₄O₇, молекулярная масса 480,62), также известный как экидистен, β-экидизон, экидистерон (Buděšínský M. et al., 2008; Chen Q. et al., 2006). Согласно имеющимся литературным данным, экидистен обладает анаболическими, противовоспалительными, гипохолестеринемическими, гипогликемическими, адаптогенными свойствами (Buniam J. et al., 2020; Cahlíková L. et al., 2011; Dinan L. et al., 2021; Lafont R. et al., 2003; Syrov V.N., 2000; Tóth N. et al., 2008).

Экидистен содержится в серпухе венценосной (*Serratula coronata*), левзее сафлоровидной (*Rhaponticum carthamoides*), живучке туркестанской (*Ajuga turcestanica*), шпинате огородном (*Spinacia oleracea*), смолевке татарской (*Silene tatarica*) и многих других растениях (Соловьёва А.Г. и др., 2021). Однако, в составе большинства данных экидистероид содержащих растений присутствует большое количество слабоактивных или неактивных фитоэкидистероидов. Например, в *Rh.carthamoides* идентифицировано около 65 высокоактивных соединений (таких

как рапистерон D, понастерон A, полиподин B, дакрихайнанстерон, интегристерон, каладастерон 5-деокси-20,22-ацетонид, макистерон A и его производные и т.д.), тогда как в растениях рода *Silene* достаточно много неактивных фитоэкдистероидов (постстерон, силеностерон, силенозид A, B, D, E, F, G, H). Несмотря на то, что в *Serratula coronata* было обнаружено около 20 высокоактивных соединений, результаты исследований биологической активности показали отсутствие у данного растительного источника адаптогенного и анаболического эффектов в сопоставимых дозах с экдистероидной фракцией *Rh.carthamoides* (Тимофеев Н.П., 2005).

В связи с этим, в настоящее время *Rh.carthamoides* является одним из наиболее распространенных представителей адаптогенов.

1.5.2.1 Левзея сафлоровидная (*Rhaponticum carthamoides* Willd.)

Rh.carthamoides Willd. (Левзея сафлоровидная) – многолетнее травянистое растение семейства сложноцветные (*Asteraceae*), эндемичное на Алтае и Саянских горах Южной Сибири, которое веками использовалось в России, Китае и Монголии (Kokoska L. et al., 2009; Skała E. et al., 2019; Timofeev N.P., 2006). Растение также известно как маралий корень, большеголовник, рапонтникум, стемаканта.

Люди знали об этом растении с древних времен, и различные области его применения были описаны в восточной народной медицине (Kokoska L. et al., 2009). Левзею использовали для лечения слабости, перенапряжения, заболеваний легких, почек, лихорадки, стенокардии, заболеваний репродуктивной и сексуальной дисфункции, ангины (Buděšínský M. et al., 2008; Kokoska L. et al., 2009; Łotocka B. et al., 2004; Skała E. et al., 2019; Timofeev N.P., 2006).

В настоящее время экстракт левзеи входит в состав многочисленных биологически активных добавок. Основными частями, используемыми для производства экстрактов, являются корневище с корнями (Kokoska L. et al., 2009). *Rhaponticum carthamoides rhizomata cum radicibus* включены в Российскую фармакопею (Государственная фармакопея Российской Федерации XIV издание,

2018).

В течение последних десятилетий прошлого столетия растение было завезено в различные регионы Центральной и Восточной Европы, где в настоящее время его широко культивируют из-за наличия выраженных лекарственных свойств.

Экстракты, отвары, настои и другие лекарственные формы из корней и корневищ используются в биологически активных добавках благодаря наличию: адаптогенных и тонизирующих свойств, противомикробной, антиоксидантной, противодиабетической, гипохолестеринемической, нейропротекторной и анаболической активности (Biskup E. et al., 2013; Biskup E. et al., 2010; Todorova V. et al., 2021). Экстракт левзеи сафлоровидной повышает адаптацию организма к неблагоприятным факторам внешней среды, стимулирует рост мышц, увеличивает физическую выносливость и работоспособность, используется для устранения физической слабости и перенапряжения, а также для восстановления после операции, инфекционного заболевания или химической интоксикации (Красуцкий А.Г. и др., 2018). Согласно имеющимся литературным данным, применение экстракта левзеи сафлоровидной не вызывает серьезные побочные эффекты (Roumanille R. et al., 2020; Ryan E.D. et al., 2021).

1.5.2.2 Основные биологически активные соединения *Rhaponticum carthamoides* Willd.

В настоящее время около 200 химических соединений, принадлежащих к различным химическим группам, были обнаружены в *Rhaponticum carthamoides*: фитоэкдистероиды, флавоноиды, фенольные кислоты, эфирные масла (монотерпены и сесквитерпены), лигнаны, антоцианы, дубильные вещества (Buděšínský M. et al., 2008; Das N. et al., 2021; Głazowska, J. et al., 2018; Koleckar V. et al., 2010; Zhang X.P. et al., 2010).

Флавоноиды представляют собой полифенольные соединения, в *Rh.carthamoides* содержатся в корнях и листьях (Koleckar V. et al., 2010). Наличие флавоноидов (кверцетин 5-О-галактозид и изорафнетин 5-О-рамноза в корнях,

патулетин 3'-β-ксилофуранозид и 6-гидроксикаемпферол-7-O-(6"-O-ацетил-β-D-глюкопиранозид) в листьях) определяет антиоксидантное действие экстракта, что связано с наличием в их структуре большого количества гидроксильных групп (Dias M.C. et al., 2021; Glevitzky I. et al., 2019). Основными фенольными кислотами, содержащимися в корнях *Rh.carthamoides*, являются: бензойная, салициловая, хлорогеновая, кофейная (гидроксикоричная) и галловая кислота (Skiba A. et al., 2004). Монотерпены (в том числе, α-пинен, β-пинен, гераниол) и сесквитерпены являются основными фитохимическими элементами эфирного масла, получаемого из левзеи, благодаря которому растение проявляет противомикробную, антиоксидантную и противовоспалительную активность (Havlik J. et al., 2009; Skala E. et al., 2016).

Фитоэкдистероиды являются основными биологически активными соединениями, выделенными из корней, листьев и семян *Rh.carthamoides*. В настоящее время описано более 200 экдистероидных соединений, 65 из которых выделены из семейства сложноцветные (*Asteraceae*) (Bathori M. et al., 2005; Buděšínský M. et al., 2008; Dinan L., 2001). Фитоэкдистероиды содержатся в подземных (корневища и корни), а также надземных частях растений (вегетативные – листья, стебли и генеративные – цветы и семена) (Kokoska L. et al., 2009). Их концентрация варьируется в зависимости от части растения, вегетационного периода, географического района и составляет 0,04–0,81%, 0,03–1,22% и 0,27–1,51% сухого вещества для корней, листьев и семян соответственно (по отношению к сухой массе растения) (Varga E. et al., 1986). Адаптогенные свойства экстракта левзеи связаны главным образом с присутствием экдистена (Kokoska L. et al., 2009). Другими эффектами, связанными с наличием в составе *Rh.carthamoides* экдистена, являются анаболический, гипохолестеринемический, гипогликемический и регулирующий метаболизм (участвует в регуляции процессов минерального, углеводного, липидного и белкового обмена) (Todorova V. et al., 2022).

1.5.2.3 Механизмы гипогликемического, гиполипидемического и анаболического эффектов экдистена

Анаболический эффект обусловлен способностью экдистена:

1. Повышать функциональную активность полирибосомального аппарата клетки, в результате которого возрастает абсолютная скорость синтеза белка, причем выраженное усиление белково-синтетических процессов не сопровождается андрогенной активностью (Васильев А.С. и др., 2015).

2. Вызывать дозозависимое увеличение синтеза белка в мышечных клетках через Akt путём:

- активации пути PI3K, который играет ключевую роль в выживании и росте клеток в различных тканях, включая скелетные мышцы (Gorelick-Feldman J. et al., 2008; Guttridge D.S., 2004).

- повышения внутриклеточного кальция, за которым следует устойчивая активация Akt (Gorelick-Feldman J. et al., 2010). Akt представляет собой серин/треонин-специфическую протеинкиназу, играет несколько ключевых ролей в клеточных сигнальных и метаболических процессах, таких как метаболизм глюкозы, апоптоз, пролиферация клеток, транскрипция и миграция клеток (Hellyer N.J. et al., 2006).

3. Активировать рецептор Mas1 скелетных мышц (протоонкоген, относится к классу сопряженных с G-белком рецепторов), что приводит к ингибированию экспрессии гена миостатина, в результате чего происходит гипертрофия клеток скелетных мышц млекопитающих (Lafont R. et al., 2020; Parr M.K. et al., 2014).

Механизмы гипогликемического эффекта включают способность экдистена:

1. Снижать экспрессию фосфоенолпируваткарбоксилазы (ПЕРСК) и глюкозо-6-фосфатазы дозозависимым образом (Kizelsztejn P. et al., 2009). ПЕРСК является ключевым ферментом, модулирующим глюконеогенез в печени, его активность тесно связана с выработкой глюкозы в печени; глюкозо-6-фосфатаза катализирует последнюю стадию выработки глюкозы в печени путем гидролиза глюкозо-6-фосфата до глюкозы (Wu C. et al., 2005).

2. Увеличивать уровни циркулирующего адипонектина висцеральной жировой ткани (Kizelsztejn P. et al., 2009). Адипонектин — специфичный для жировой ткани секреторный белок, который увеличивает расход энергии, окисление жирных кислот в печени и скелетных мышцах, тем самым регулируя резистентность к инсулину, энергетический гомеостаз и ожирение (Yamauchi T. et al., 2002).

3. Повышать фосфорилирование Akt и IRS-1, а также уровни экспрессии GLUT4 в скелетных мышцах, что улучшает толерантность к глюкозе (Chen L. et al., 2017). Для понимания молекулярного механизма, лежащего в основе резистентности к инсулину, необходимо учитывать путь субстрата 1 рецептора инсулина/фосфатидилинозитол-3-киназы/протеинкиназы B, которые играют ключевую роль в передаче сигнала через рецептор инсулина. После связывания с рецептором инсулин облегчает поглощение глюкозы посредством отдельного сигнального каскада, включающего множество ферментов, в том числе PI3K и Akt (Kizelsztejn P. et al., 2009). Активация PI3K и Akt усиливает поглощение глюкозы, стимулируя транслокацию GLUT4 в плазматическую мембрану. Фосфорилирование Akt стимулирует перемещение переносчика глюкозы GLUT4 из его внутриклеточного местоположения на поверхность клетки, тем самым усиливая поглощение глюкозы (Bryant N.J. et al., 2002).

Антидиабетический потенциал. Стойкая гипергликемия увеличивает образование свободных радикалов и истощает антиоксидантную защиту, что приводит к нарушению клеточных функций, окислительному повреждению мембран и повышенной восприимчивости к перекисному окислению липидов (Giugliano D. et al., 1996). Перекисное окисление липидов считается признаком окислительного стресса, при котором активные формы кислорода (АФК) взаимодействуют с полиненасыщенными жирными кислотами и приводят к образованию липидных продуктов, вызывающих повреждение структурной и функциональной целостности тканей печени и почек, мембранных компонентов клетки, некроз клеток и воспаление (Stark G., 2005).

1. Экдистен снижает уровень антиоксидантных ферментов

супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидазы и глутатион-S-трансферазы, повышает уровень маркеров перекисного окисления липидов в тканях печени и почек (Bouyahya A. et al., 2020; Sundaram R. et al., 2012; Wang J.J. et al., 2017). Супероксиддисмутаза и каталаза являются двумя основными ферментами, которые удаляют АФК *in vivo*, таким образом происходит снижение выработки АФК и, следовательно, окислительный стресс и окисление глюкозы (Wang J.J. et al., 2017).

2. Экдистен значительно снижает активность ферментов АСТ и АЛТ (Sundaram R. et al., 2012). Повреждение гепатоцитов изменяет их транспортную функцию и проницаемость мембран, что приводит к выходу ферментов из цитозоля печени в кровоток и увеличению концентрации АСТ и АЛТ в плазме (Harris E.H., 2005). Таким образом, повышенная активность АСТ и АЛТ может быть интерпретирована как результат разрушения клеток печени или изменения проницаемости мембраны.

3. Фитоэкдистероиды снижают уровень глюкозы в крови за счет прямой стимуляции β -клеток поджелудочной железы (Das N. et al., 2021).

4. Экдистен противодействует увеличению массы жировой ткани, способствует сохранению среднего диаметра адипоцитов (Dinan L. et al., 2021).

Ввиду столь разнообразных эффектов следует ожидать, что экдистен может иметь различные способы действия на клеточном уровне. Также представляется возможным, что экдистен действует через несколько сигнальных путей, которые могут быть более или менее тканеспецифичными.

Увеличение силы, выносливости и мышечной массы у млекопитающих являются одними из основных предполагаемых биоактивных свойств для коммерческого использования экстрактов, содержащих фитоэкдистероиды (Slám K. et al., 1996). Однако, гипогликемические, антиоксидантные и противовоспалительные свойства фитоэкдистероидов представляют значительную выгоду от их использования в терапии и профилактике заболеваний человека, т.е. в реабилитационной медицине.

Многообещающие биологические и фармакологические свойства

растительных экстрактов, богатых пентанциклическими тритерпеноидами и фитоэкдистероидами, предполагают их дальнейшее использование при разработке нутрицевтических и фармацевтических продуктов для коррекции метаболических изменений, что обусловило выбор экстрактов левзеи и шрота клюквы в качестве объектов исследований.

Кроме того, выбор некоторых исследуемых компонентов (экстракта шрота клюквы и урсоловой кислоты) предопределило производство данных соединений в Инжиниринговом центре на базе НИОХ СО РАН, а также возможность контроля качества растительного сырья, поступающего на исследование, в аккредитованном Испытательном аналитическом центре НИОХ СО РАН.

ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Экспериментальные животные

Эксперименты проведены на 100 мышах линии C57BL/6J обоего пола (70 самцов и 30 самок) массой 20-25 г, 424 аутбредных мышах CD-1 обоего пола (272 самца и 152 самки) массой 25-30 г, 14 самцах мышей линии C57BL/6^{Ay} весом 40-45 г, 80 крысах сток Вистар (24 самца и 56 самки) массой 250-400 г, полученных из вивария ФИЦ Института цитологии и генетики СО РАН. Животных содержали в стандартных условиях со свободным доступом к воде и стандартному гранулированному корму, при постоянной комнатной температуре ($21^{\circ}\text{C} \pm 1,5$) и световом режиме - 12 часов свет/12 часов темнота, в отдельных в пластиковых клетках с решетчатыми крышками из нержавеющей стали, с подстилкой обеспыленной из деревянной стружки. Перед началом экспериментов животные проходили карантин в виварии в течение 7 дней. После карантина животных разделяли на группы по 6-13 особей на клетку для мышей и по 3-4 особей на клетку для крыс. Дизайн экспериментального исследования был одобрен биоэтической комиссией НИОХ СО РАН (протокол от 28.08.2021; №38 от 15.12.2021; №150 от 13.05.2022; №431 от 18.05.2023). Все манипуляции с животными проводились в строгом соответствии с законодательством РФ, ГОСТ 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики», ГОСТ 33647-2015 «Принципы надлежащей лабораторной практики (GLP). Термины и определения», Решением «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики Евразийского экономического союза в сфере обращения лекарственных средств» от 03.11.2016 г. № 81 и положениями Директивы 2010/63/EU Парламента ЕС и Совета Европейского Союза от 22.09.2010 г. о защите животных, используемых в научных целях.

2.2 Объекты исследования

1. Метилтретбутилового эфира экстракт шрота клюквы, содержащий 40% урсоловой кислоты, стандартизированный по урсоловой кислоте, полученный в Инжиниринговом центре НИОХ СО РАН, г.Новосибирск.

2. Водно-спиртовой экстракт корней левзеи сафлоровидной, содержащий 0.31% экидистена, стандартизированный по экидистену (20-гидроксиэкидизону), производство «ООО Экстракты Алтай», г. Барнаул.

3. Композиция экстрактов левзеи (0.31% экидистена) и шрота клюквы (40% урсоловой кислоты).

4. Экидистен, 98% чистоты, Tokyo Chemical Industry Co., LTD, Japan.

5. Урсоловая кислота, 92% чистоты, Инжиниринговый центр НИОХ СО РАН, г.Новосибирск.

6. Смесь индивидуальных действующих веществ композиции: экидистена и урсоловой кислоты, взятых в эквивалентных композиции дозах.

Исследуемые вещества растворяли в воде с двумя каплями Твина-80 и вводили внутривентриально с помощью зонда в дозах, указанных для каждой модели далее (по 0,2 мл на 10 г массы тела мыши и по 0,5 мл на 100 г массы тела крысы). Контрольной группе животных вводили водно-твиновый раствор в тех же объемах внутривентриально.

2.3 Экспериментальные группы

Интактный контроль: вводили растворитель (водно-твиновый раствор).

Контроль: вводили растворитель (водно-твиновый раствор) и подвергали физической нагрузке (мыши); вводили растворитель (водно-твиновый раствор) и проводили операцию тенотомии (крысы).

Отрицательный контроль: вводили растворитель (водно-твиновый раствор), содержали на высококалорийной диете.

Таблица 1 – Экспериментальные группы

Группа	Доза	Доза действующих веществ	Линия, количество и пол животных	Длительность введения
Исследование влияния композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы на показатели углеводного обмена (уровень глюкозы крови, оральный глюкозотолерантный тест) при длительном введении (4 недели)				
1. Интактный контроль 2. Композиция экстрактов левзеи и шрота клюквы 3. Экстракт левзеи	- 170:50 мг/кг 170 мг/кг	- 525 мкг/кг эхдистена: 20 мг/кг урсоловой кислоты 525 мкг/кг эхдистена	C57BL/6J, n=10, ♂♀	4 недели (28 дней)
1. Интактный контроль 2. Экстракт левзеи 3. Экстракт шрота клюквы 4. Композиция экстрактов левзеи и шрота клюквы	- 35 мг/кг 250 мг/кг 35:250 мг/кг	- 105 мкг/кг эхдистена 100 мг/кг урсоловой кислоты 105 мкг/кг эхдистена: 100 мг/кг урсоловой кислоты	аутбредные CD-1, n = 10, ♂♀	
1. Интактный контроль 2. Экстракт левзеи 3. Экстракт шрота клюквы 4. Композиция экстрактов левзеи и шрота клюквы	- 70 мг/кг 500 мг/кг 70:500 мг/кг	- 210 мкг/кг эхдистена 200 мг/кг урсоловой кислоты 210 мкг/кг эхдистена: 200 мг/кг урсоловой кислоты	аутбредные CD-1, n = 10, ♂♀	

Продолжение Таблицы 1

Группа	Доза	Доза действующих веществ	Линия, количество, пол	Длительность введения
Оценка показателей углеводного обмена (ОГТТ) на фоне физической нагрузки «бег на тредмиле»				
1. Интактный контроль	-	-	аутбредные CD-1, n = 10, ♂	2 недели (14 дней)
2. Контроль	-	-		
3. Композиция экстрактов левзеи и шрота клюквы	170:50 мг/кг	525 мкг/кг экдистена: 20 мг/кг урсоловой кислоты		
4. Композиция экстрактов левзеи и шрота клюквы	35:250 мг/кг	105 мкг/кг экдистена: 100 мг/кг урсоловой кислоты		
Оценка показателей углеводного обмена (ОГТТ) на фоне физической нагрузки «вынужденное плавание с грузом»				
1. Интактный контроль	-	-	аутбредные CD-1, n = 10, ♂	1 неделя (7 дней)
2. Контроль	-	-		
3. Композиция экстрактов левзеи и шрота клюквы	35:250 мг/кг	105 мкг/кг экдистена: 100 мг/кг урсоловой кислоты		
4. Композиция экстрактов левзеи и шрота клюквы	70:500 мг/кг	210 мкг/кг экдистена: 200 мг/кг урсоловой кислоты		
Исследование адаптогенных свойств на фоне физической нагрузки «принудительное плавание»				
1. Интактный контроль	-	-	аутбредные CD-1, n = 10, ♂	2 недели (14 дней)
2. Контроль	-	-		
3. Экдистен и урсоловая кислота	210 мкг/кг:200 мг/кг	-		
4. Композиция экстрактов левзеи и шрота клюквы	70:500 мг/кг	210 мкг/кг экдистена: 200 мг/кг урсоловой кислоты		

Продолжение Таблицы 1

Группа	Доза	Доза действующих веществ	Линия, количество, пол	Длительность введения
Исследование анаболической активности композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы на модели изолированной перегрузки скелетной мышцы голени крыс				
1. Контроль	-	-	сток Вистар, n = 8, ♂♀	2 недели (14 дней)
2. Экдистен и урсоловая кислота	210 мкг/кг:200 мг/кг	-		
3. Композиция экстрактов левзеи и шрота клюквы	70:500 мг/кг	210 мкг/кг экдистена: 200 мг/кг урсоловой кислоты		
Исследование влияния композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы на уровень тестостерона				
1. Интактный контроль	-	-	аутбредные CD-1, n = 8, ♂♀	Однократно
2. Экстракт левзеи	70 мг/кг	210 мкг/кг экдистена		
3. Экстракт шрота клюквы	500 мг/кг	200 мг/кг урсоловой кислоты		
4. Композиция экстрактов левзеи и шрота клюквы	70:500 мг/кг	210 мкг/кг экдистена: 200 мг/кг урсоловой кислоты		
Изучение токсического влияния композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы на организм животных при длительном введении (4 недели)				
1. Интактный контроль	-	-	сток Вистар, n = 8, ♀ аутбредные CD-1, n = 10, ♂♀	4 недели (28 дней)
2. Экстракт левзеи	70 мг/кг	210 мкг/кг экдистена		
3. Экстракт шрота клюквы	500 мг/кг	200 мг/кг урсоловой кислоты		
4. Композиция экстрактов левзеи и шрота клюквы	70:500 мг/кг	210 мкг/кг экдистена: 200 мг/кг урсоловой кислоты		

Продолжение Таблицы 1

Группа	Доза	Доза действующих веществ	Линия, количество, пол	Длительность введения
Исследование влияния композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы на перераспределение жировой ткани на генетической модели сахарного диабета II типа				
1. Интактный контроль 2. Композиция экстрактов левзеи и шрота клюквы	- 70:500 мг/кг	- 210 мкг/кг экдистена: 200 мг/кг урсоловой кислоты	C57BL/6 ^{Ay} (AY), n = 7, ♂	4 недели (28 дней)
Изучение влияния композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы на метаболические процессы на диет-индуцированной модели сахарного диабета II типа				
1. Интактный контроль 2. Отрицательный контроль 3. Метформин 4. Композиция экстрактов левзеи и шрота клюквы	- - 250 мг/кг 70:500 мг/кг	- - - 210 мкг/кг экдистена: 200 мг/кг урсоловой кислоты	C57BL/6J, n = 10, ♂	4 недели (28 дней)

2.4 Экспериментальные модели

Исследование изменений показателей углеводного обмена (уровень глюкозы крови, оральный глюкозотолерантный тест) при длительном введении (4 недели)

Оценку изменений показателей углеводного обмена при длительном введении проводили на 60 мышах линии C57BL/6J обоего пола (30 самцах и 30 самках), 160 аутбредных мышах CD-1 обоего пола (80 самцах и 80 самках). Животных не подвергали физической нагрузке. Ежедневно проводили измерение массы тела мышей на весах ViBRA CJ-620ER (Shinko Denshi Co., Ltd, Япония). В начале эксперимента и в конце каждой недели проводили измерение концентрации глюкозы крови после 12-и часовой депривации корма. Через 4 недели по окончании эксперимента оценивали уровень глюкозы на фоне глюкозной нагрузки с помощью орального глюкозотолерантного теста (ОГТТ).

Исследование изменений показателей углеводного обмена (оральный глюкозотолерантный тест) на фоне физической нагрузки

Оценку изменений показателей углеводного обмена на фоне однократной физической нагрузки «бег на тредмиле» проводили на 40 аутбредных мышах самцах CD-1. Ежедневно проводили измерение массы тела мышей на весах ViBRA CJ-620ER (Shinko Denshi Co., Ltd, Япония). Функциональное тестирование «бег на тредмиле» проводилось через 4 недели (28 дней) ежедневного введения исследуемых композиций экстрактов левзеи и шрота клюквы на электрической беговой дорожке с разделителями полос движения, обеспечивающими индивидуальную работу мышей (FT-200, ChengduTechnologyandMarketCo., Ltd, Китай) (Odriozola C.P. et al., 2019). Предварительно животных не подвергали тренировкам. Всем группам после 12-и часовой депривации проводили пероральную нагрузку глюкозой (2,5 мг/кг в/ж), после чего мышей помещали на ленту тредмила. Время бега составило 10 минут со скоростью движения ленты 10

м/мин и углом наклона 10°. Концентрацию глюкозы крови определяли в динамике с помощью ОГТТ.

Оценку изменений показателей углеводного обмена на фоне однократной физической нагрузки «вынужденное плавание с грузом» проводили на 40 аутбредных мышах самцах CD-1. Ежедневно проводили измерение массы тела мышей на весах ViBRA CJ-620ER (Shinko Denshi Co., Ltd, Япония). Предварительно животных не подвергали тренировочным заплывам. Через 4 недели (28 дней) ежедневного введения исследуемых композиций экстрактов левзеи и шрота клюквы проводили тестирование следующим образом: всем группам после 12-и часовой депривации корма проводили пероральную нагрузку глюкозой (2,5 мг/кг в/ж), после чего животных с дополнительным грузом, составляющим 5% от массы тела животного, помещали в индивидуальные стеклянные цилиндры (высота 30 см, диаметр 8 см), наполненные водой (температура 24-26°C). Поскольку целью данного теста была оценка изменения концентрации глюкозы после физической нагрузки, моментом окончания эксперимента считали истечение установленного временного промежутка (а не полное погружение животного под «водное зеркало» на 5 секунд), после чего животных сразу извлекали из воды и обсушивали (Ковалева М.А. и др., 2015). Концентрацию глюкозы крови определяли в динамике с помощью ОГТТ. Процент выполняемой нагрузки во время тренировки выбран в соответствии с литературными данными (Гаврев А.И. и др., 2010; Каркищенко В.Н. и др., 2012; Каркищенко Н.Н., 2010).

Изучение наличия адаптогенных свойств на фоне физической нагрузки

Изучение наличия адаптогенных свойств на фоне физической нагрузки «принудительное плавание» проводили на 40 аутбредных мышах самцах CD-1. Предварительно животных не подвергали тренировочным заплывам. Через 2 недели (14 дней) ежедневного введения композиции в дозе 70:500 мг/кг, смеси экидистена и урсоловой кислоты в дозе 210 мкг/кг:200 мг/кг проводили тестирование. Однако, использование груза в предыдущем эксперименте

приводило к быстрому утомлению животных, поэтому для стандартизации времени плавания тестирование проводили без дополнительного груза с установленным 10 минутным временным промежутком. Животных аналогично предыдущему эксперименту помещали в индивидуальные стеклянные цилиндры (высота 30 см, диаметр 8 см), наполненные водой (температура 24-26°C). Моментом окончания эксперимента считали истечение установленного временного промежутка (10 минут), после чего животных извлекали из воды и обсушивали (Ковалева М.А. и др., 2015). Далее у животных забирали кровь для биохимического анализа и часть мышечной ткани, в которых определяли концентрацию лактата и глюкозы.

Изучение анаболической активности

Исследование наличия анаболической активности проводили на 48 крысах сток Вистар обоих полов (24 самцах и 24 самках). В работе использовали описанную модель изолированной перегрузки скелетной мышцы голени крыс с операцией тенотомии (Гаджиева Д.М. и др., 2002). 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*. Далее голень зашивали. Левая голень служила для оценки степени гипертрофии. Поскольку как *m.soleus*, так и удалённые 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 гипертрофия данной мышцы. После операции крыс возвращали в клетки, на следующий день формировали группы животных и вводили соответствующие группе соединения в течение 14 дней. Ежедневно на протяжении всего эксперимента определяли массу тела животных на весах SW-I-2 («CAS», Корея). По окончании срока эксперимента у крыс из обеих конечностей извлекали *m.soleus* и взвешивали. Определяли разницу между массой *m.soleus* оперированной и массой *m.soleus* не оперированной лапы, где массу *m.soleus* не оперированной лапы принимали за

100%. Процент увеличения массы *m.soleus* оперированной лапы считали процентом гипертрофии и проводили сравнения между группами.

Исследование уровня тестостерона

Эксперимент проводили на 64 аутбредных мышах CD-1, обоих полов (32 самцах и 32 самках). Оценка концентрации тестостерона в сыворотке крови мышей проводилась в динамике после однократного введения композиции в дозе 70:500 мг/кг, экстракта левзеи 70 мг/кг, экстракта шрота клюквы 500 мг/кг. У каждого животного отбирали кровь методом декапитации в соответствующей временной точке: 0 точка (до введения анализируемых соединений), через 30, 60, 120, 180 минут после введения.

Исследование токсического влияния на организм

Оценку физиологического состояния, динамики массы тела и макроскопическое исследование внутренних органов проводили на 140 аутбредных мышах CD-1 обоих полов (70 самцах и 70 самках), 32 крысах сток Вистар, самках (Миронов А.Н. и др., 2012). Наблюдение за животными, находящимися в эксперименте, проводилось ежедневно. Животных не подвергали физической нагрузке. В ходе визуального осмотра обращали внимание на следующие показатели: внешние покровы (чистота, выпадение шерсти, ссадины, раны, нагноения, наросты), морда (повреждения усов, воспаление глаз), хвост (чистота покрова хвоста, повреждения, деформации), поведение (подвижность, агрессивность), фекальные массы (диарея, отсутствие фекалий), мочевые метки (цвет), корм и вода (признаки убывания). Оценка физиологического состояния животных/смертности проводилась ежедневно в течение всего времени наблюдения. Ежедневно на протяжении всего эксперимента вводили исследуемую композицию в дозе 70:500 мг/кг, экстракт левзеи 70 мг/кг, экстракт шрота клюквы 500 мг/кг, а также измеряли массу тела мышей и крыс на лабораторных весах ViBRA CJ-620ER (Shinko Denshi Co., Ltd, Япония) и SW-I-2 («CAS», Корея) соответственно. Макроскопическое исследование внутренних органов и анализ

коэффициентов их масс у животных проводилось по окончании эксперимента, после эвтаназии животных. Измерение массы внутренних органов мышей и крыс проводили на аналитических весах CP 224S («Sartorius», Германия). Образцы крови отбирали для биохимического анализа.

Исследование кардиотоксичности проводили на 32 крысах сток Вистар, самках. Животных не подвергали физической нагрузке. До начала введения композиции в дозе 70:500 мг/кг, экстракта левзеи 70 мг/кг, экстракта шрота клюквы 500 мг/кг, а затем каждые две недели проводили запись электрокардиограммы (ЭКГ). После первой записи ЭКГ животных разделяли на группы по значениям частоты сердечных сокращений (ЧСС). ЭКГ у бодрствующих крыс регистрировали неинвазивно с использованием прибора ECGenie Clinic (Mouse specifics, Inc., США) в течение 5 ± 3 минут. Это устройство представляет собой систему на основе PowerLab, которая получает сигнал через одноразовые электроды footpad (6,5 см × 7 см), расположенные на платформе записи (Mabe A.M. et al., 2009). Необработанные сигналы ЭКГ анализировали с использованием программного обеспечения eMOUSE. Для каждого животного рассчитывали среднюю частоту сердечных сокращений. Животных выводили из опыта путем декапитации, извлекали печень и сердце для гистологического исследования. Образцы крови отбирали для биохимического анализа. Образцы тканей подвергали стандартной гистологической обработке. Препараты окрашивали гематоксилином и эозином, а также по методу ШИК (Шифф-йодная кислота) с докраской гематоксилином и оранжевым G. Степень поражения печени оценивали по следующим критериям: наличие дистрофий, некрозов, их локализация, степень полнокровия, наличие воспалительно-клеточной инфильтрации. В сердце оценивали состояние коронарных сосудов, наличие очаговых поражений миокарда.

Диет-индуцированная модель сахарного диабета II типа

Исследование проводили на 40 самцах мышей линии C57BL/6J (Surwit R.S. et al., 1988). В течение 6 месяцев животных содержали на диете с высоким содержанием жиров (35,8%) и углеводов (36,8%), состоящей из стандартного

гранулированного корма, который смешивали со сливочным маслом и сахаром. В дополнение к корму давали свиное сало (в качестве основного источника жира, который содержит высокие уровни вредных длинноцепочечных жирных кислот пальмитиновой и стеариновой кислот) для ускорения развития ожирения и нарушения толерантности к глюкозе (Fiamoncini J. et al., 2013). Мыши группы интактного контроля получали только стандартный гранулированный корм. В качестве положительного контроля использовали метформин в дозе 250 мг/кг (Miranda C.S. et al., 2020). После развития нарушенной толерантности к глюкозе и инсулину (по истечении 6 месяцев), мышей разделяли на группы и вводили соответствующие группам соединения в течение 4 недель (28 дней). Через 4 недели оценивали уровень степень утилизации глюкозы тканями с помощью ОГТТ (Горячева М.А. и др., 2016). По окончании срока эксперимента мышей декапитировали, печень и поджелудочную железу фиксировали в 10% формалине для дальнейшего гистологического исследования. Гистологические срезы окрашивали гематоксилином и эозином, а также по методу Маллори. Образцы крови отбирали для биохимического анализа.

Генетическая модель сахарного диабета II типа

Исследование проводили на 14 самцах мышей линии C57BL/6^{Ay} (Derkach K.V. et al., 2017). Данные мыши имеют несколько аутосомных спонтанных мутаций yellow в локусе agouti (это вызывает неконтролируемую и повсеместную экспрессию белка Агути) в связи с чем они показывают разную окраску шерсти (желтую пигментацию), возрастное ожирение и инсулинорезистентность за счет гиперфагии и снижения двигательной активности (Tschöp M. et al., 2001; Клёсов Р.А. и др., 2018). Всем животным ежедневно вводили композиции в дозе 70:500 мг/кг в течение 4 недель (28 дней). По окончании срока эксперимента мышей декапитировали, извлекали печень, бурый и белый жир для гистологического исследования, взвешивали. Образцы тканей подвергали стандартной гистологической обработке, окрашивали гематоксилином и эозином.

2.5 Методы исследования

Определение содержания глюкозы крови в периферической крови

В начале эксперимента и в конце каждой недели проводили измерение концентрации глюкозы крови после 12-и часовой депривации корма с помощью тест-полосок и соответствующего им глюкометра OneTouch Select Plus Flex (LIFESCAN Inc., США) согласно инструкции по эксплуатации прибора.

Оральный глюкозотолерантный тест

В работе использовали описанную методику ОГТТ - лабораторного метода оценки метаболизма глюкозы в организме, в ходе которого уровень глюкозы измеряется после 12-и часовой депривации корма (0 точка), а затем через каждые 30 минут в течение 2 часов после углеводной нагрузки (введения 2,5 г/кг в/ж глюкозы). Таким образом, концентрация глюкозы измеряется в 5 точках: до углеводной нагрузки (после 12-и часовой депривации корма – фон), затем через 30, 60, 90 и 120 минут после (Горячева М.А. и др., 2016). На основании полученных данных строили график гликемической кривой. Площадь под гликемической кривой (англ., area under the curve, AUC) рассчитывали с использованием математической модели Tai (Tai M.M., 1994).

Получение сыворотки крови

Кровь забирали в пробирки, выдерживали при комнатной температуре 15-20 минут, центрифугировали при 3000 об./мин в течение 15 мин с помощью SIGMA 6K-15 (Sigma Laborzentrifugen, Германия), отделяли сыворотку и хранили её до использования в морозильной камере.

Определение концентрации лактата и глюкозы в мышечной ткани

Участок мышцы бедра животного (точная навеска) помещали в 500 мкл физиологического раствора. Мышцу гомогенизировали до однородности и отсутствия видимых включений мышечной ткани. Полученный гомогенат

центрифугировали с помощью SIGMA 6K-15 (Sigma Laborzentrifugen, Германия) в течение 3 минут при 14800 об./мин, отделяли 6 мкл надосадочной жидкости, в которой определяли концентрацию глюкозы и лактата (с учётом точной навески) с использованием стандартных диагностических наборов «Вектор-Бест» (п. Кольцово Новосибирской области) на спектрофотометре StatFax 3300 (Awareness Technology, Inc., США). Полученные значения корректировали согласно данным точной навески, в которой участок образца мышцы с наибольшей или наименьшей массой принимали за 100%, а значение остальных корректировали согласно пропорции.

Анализ концентрации тестостерона

Анализ выполняли с использованием коммерческого набора для определения концентрации тестостерона «Тестостерон-ИФА-Бест» (Вектор-Бест, п. Кольцово Новосибирской области, №Х-3972) в соответствии с методикой, описанной в инструкции к набору. Метод определения основан на твердофазном конкурентном иммуноферментном анализе с применением моноклональных антител. Оптическую плотность измеряли при помощи ИФА-анализатора Multiskan Ascent («Thermo Labsystems», США). После измерения оптической плотности раствора в лунках, концентрация тестостерона рассчитывалась на основании калибровочного графика в анализируемых образцах. Построение калибровочной кривой осуществлялось в программе Microsoft Excel 2010. Концентрации калибровочного образца соответствовало значение оптической плотности, взятое как среднее значение между дублями каждого контрольного образца. Калибровочная кривая строилась для каждого промежутка концентрации отдельно. По полученным коэффициентам определяли концентрацию тестостерона в контрольном и анализируемых образцах. По результатам кинетических исследований тестостерона получили гистограмму, где величина столбца соответствует площади под кривой. Площадь под кривой рассчитывали с использованием математической модели Tai (Tai М.М., 1994).

Биохимический метод оценки показателей углеводного, липидного, белкового обмена в сыворотке крови

Биохимические показатели сыворотки крови: липидного обмена – общий холестерин (ОХ), триглицериды (ТГ), липопротеины низкой плотности (ЛПНП), липопротеины высокой плотности (ЛПВП), углеводного обмена – общий белок (ОБ), глюкоза (ГЛЮ), лактат, а также активность аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ), щелочной фосфатазы (ЩФ) и креатинкиназы (КК) определяли с использованием стандартных диагностических наборов «Analyticon Biotechnologies AG» (Германия), «Вектор-Бест» (п. Кольцово Новосибирской области) на спектрофотометре StatFax 3300 (Awareness Technology, Inc., США), ИФА-анализаторе Multiskan Ascent («Thermo Labsystems», США) в соответствии с методикой, описанной в инструкции к набору.

Гистологическое исследование внутренних органов

Полученный для гистологического исследования материал (печень, сердце, почки, селезенка, поджелудочная железа, белый и бурый жир) фиксировали в 10% нейтральном забуференном формалине в течение 4 суток; затем из органов вырезали образцы толщиной 5-7 мм, которые подвергали стандартной обработке на аппарате НМР 110 гистологического комплекса MICROM («Carl Zeiss», Германия) по схеме (Лилли Р.Д., 1969): этанол 60° – 30 мин, этанол 70° – 1 час, этанол 80° – 1 час, этанол 96° – 1 час 10 мин, бутанол – 1 час, этанол – ксилол – 30 мин, ксилол I – 40 мин, ксилол II – 40 мин, гистопласт I – 3 часа при t° – 60°C (температура плавления гистопласта – 58°C), гистопласт II – 5 часов при t° – 60°C. Образцы тканей погружали в парафиновые блоки на рабочей станции AP 280 с использованием Histoplast (Thermo Fisher Scientific, Уолтем, Массачусетс, США), температура плавления 58°C. Срезы толщиной 4 мкм получали на ротационном микротоме NM 335E с одноразовыми сменными лезвиями. Использовали окрашивание гематоксилином и эозином, по методу Маллори, ШИК-реакцию с докраской гематоксилином и оранжевым G. Исследование образцов проводили методом световой микроскопии в проходящем свете при увеличении ×100-400.

Статистическая обработка результатов

Статистическую обработку данных проводили с помощью программного обеспечения Statistica 8.0 (StatSoft, США). Данные представлены в формате: медиана (Me) [нижний квартиль; верхний квартиль] [Q1;Q3]; среднее значение (M) $\pm$ стандартное отклонение (SD). Нормальность распределений проверялась с помощью критерия Шапиро-Уилка. Сравнения между группами проводили при помощи непараметрического критерия Крускала-Уоллиса с последующим U-критерием Манна-Уитни для сравнения независимых групп в рамках эксперимента, статистически значимыми считали значения $p < 0,05$.

ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Скрининг гипогликемической активности композиций экстрактов левзеи и шрота клюквы в глюкозотолерантном тесте

Для выявления эффективного соотношения компонентов композиции на первом этапе исследования необходимо было, используя экспериментальные модели и тесты, провести оценку влияния композиции на углеводный обмен, а именно динамику массы тела, показатель глюкозы крови, степень утилизации глюкозы тканями как без, так и на фоне физической нагрузки.

Выбор дозы компонентов композиции осуществлялся на основании имеющихся литературных данных, согласно которым эффективная доза урсоловой кислоты для животных от 2 – 250 мг/кг в сутки (Nguyen H.N. et al., 2021), в то время как эффекты экидистероидов проявляются в концентрациях от 50 мкг/кг до 20 мг/кг в сутки (Bathori M. et al., 2008; Соловьёва А.Г. и др., 2021).

3.1.1 Исследование влияния композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы в дозе 170:50 мг/кг на показатели глюкозотолерантного теста при длительном введении (4 недели)

Первоначально выбранное соотношение компонентов: композиция экстрактов левзеи и шрота клюквы (далее композиция) в дозе 170:50 мг/кг, содержащая 525 мкг/кг экидистена и 20 мг/кг урсоловой кислоты соответственно.

На фоне 4-недельного введения композиции ни в одной группе увеличения массы тела по сравнению с исходными данными не было выявлено (Рисунок 4,5). Различия по гендерному признаку отсутствовало.

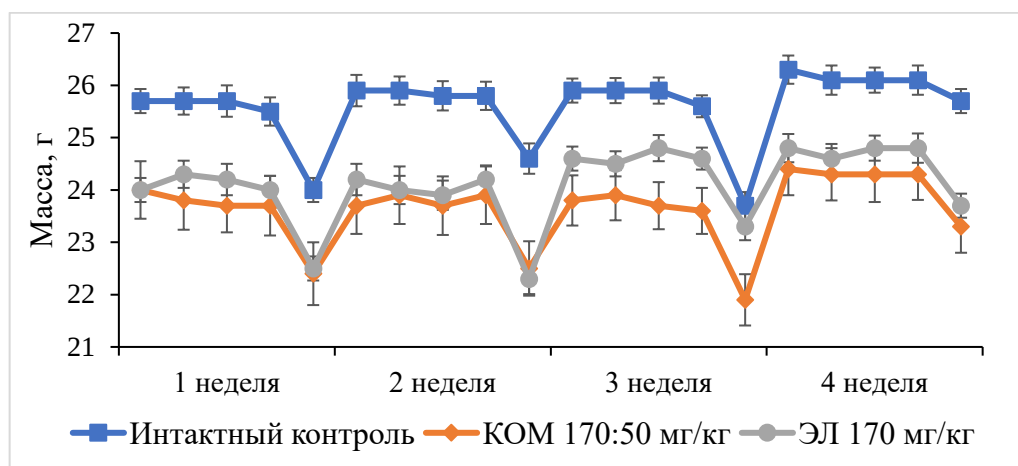


Рисунок 4 – Динамика изменения массы тела (г) в течение 4 недель эксперимента, мыши самцы линии C57BL/6J (n=10)

Примечание: КОМ – композиция экстрактов левзеи и шрота клюквы, ЭЛ – экстракт левзеи. Данные представлены в формате: $M \pm SD$.

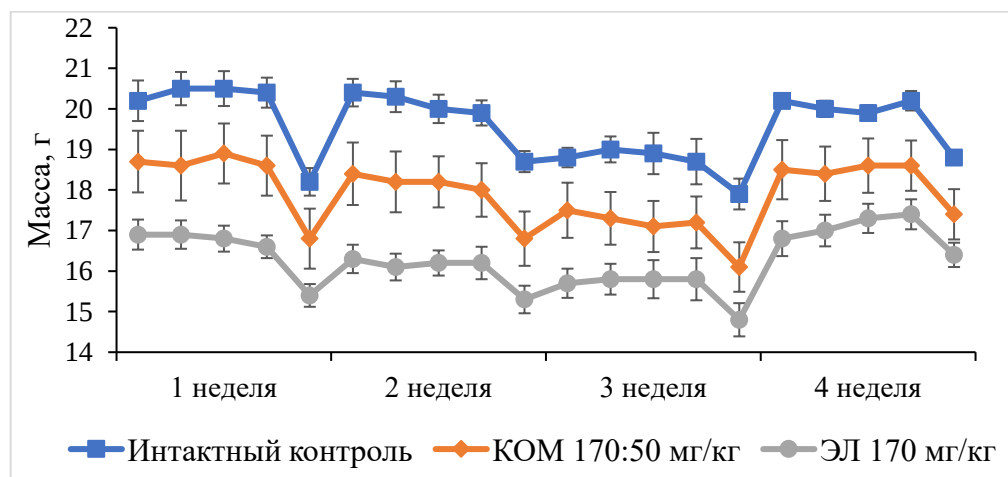


Рисунок 5 – Динамика изменения массы тела (г) в течение 4 недель эксперимента, мыши самки линии C57BL/6J (n=10)

Примечание: КОМ – композиция экстрактов левзеи и шрота клюквы, ЭЛ – экстракт левзеи. Данные представлены в формате: $M \pm SD$.

Ни в одной из исследуемых групп не происходило статистически значимого изменения уровня глюкозы крови по сравнению с исходными данными (Таблица 2).

Таблица 2 – Концентрация глюкозы крови (ммоль/л) у мышей линии C57BL/6J обоего пола (n=10) в конце каждой недели эксперимента

Исследуемые вещества	конец 1 недели		конец 2 недели		конец 3 недели	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀
Интактный контроль	6,25 [5,3;6,7]	4,75 [4,6;5,1]	6,2 [5,45;6,85]	4,8 [4,65;4,95]	6,4 [6,15;7,05]	4,85 [4,55;5,45]
КОМ 170:50 мг/кг	6,15 [5,4;6,4]	4,15 [3,95;4,95]	6 [5,4;6,15]	4,4 [3,95;4,65]	6,25 [5,55;6,6]	4,2 [3,6;4,6]
ЭЛ 170 мг/кг	5,4 [4,95;6,0]	5,3 [4,8;5,4]	5,7 [5,4;6,2]	5 [4,6;5,6]	5,4 [5,0;5,65]	5,3 [5,0;5,9]

Примечание: КОМ – композиция экстрактов левзеи и шрота клюквы; ЭЛ – экстракт левзеи. Данные представлены в формате: Me[Q1;Q3].

По результатам ОГТТ на фоне физической нагрузки получили гистограмму, где величина столбца соответствует площади под кривой. Данная площадь показывает время нахождения вещества в крови (чем ниже столбец, тем выше сопротивляемость и тем лучше толерантность к глюкозе).

У самцов экстракт левзеи в дозе 170 мг/кг способствовал утилизации глюкозы, достоверно снижая её уровень на 14% по отношению к группе интактного контроля. На фоне введения композиции в дозе 170:50 мг/кг у самцов и самок не установлено статистически значимого изменения уровня глюкозы (Рисунок 6).

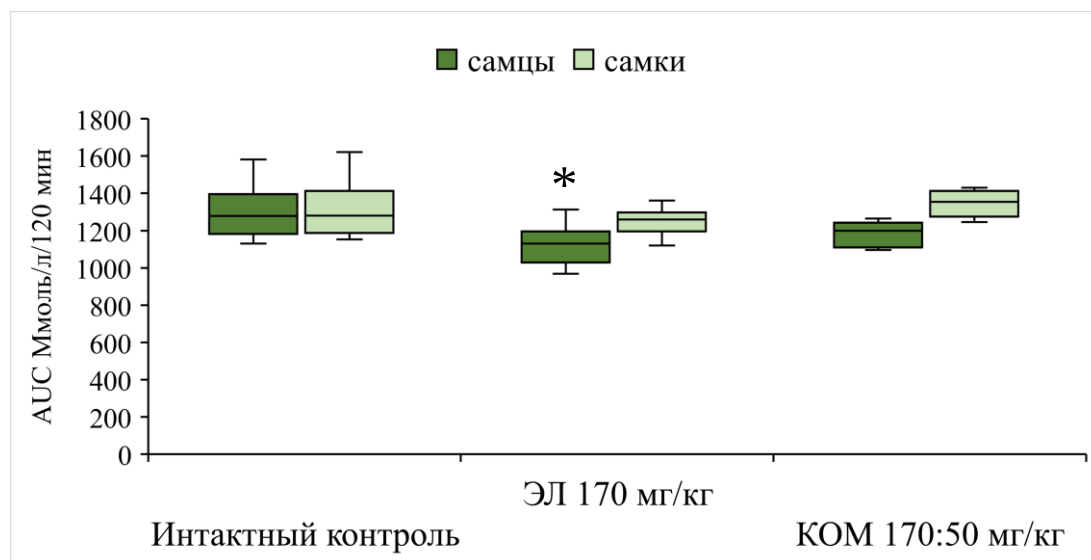


Рисунок 6 – Результаты ОГТТ, представленные в виде площади под гликемической кривой (AUC) через 4 недели эксперимента, мыши линии C57BL/6J обоего пола (n=10)

Примечание: ЭЛ – экстракт левзеи, КОМ – композиция экстрактов левзеи и шрота клюквы. Данные представлены в формате: Me[Q1;Q3]. * – различия статистически значимы по сравнению с интактным контролем (самцы) при $p < 0,05$.

3.1.2 Исследование влияния композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы в дозе 35:250 мг/кг на показатели глюкозотолерантного теста при длительном введении (4 недели)

Поскольку композиция в дозе 170:50 мг/кг не оказывала достоверного влияния на утилизацию глюкозы тканями, доза композиции была изменена на 35:250 мг/кг (содержала 105 мкг/кг экдистена и 100 мг/кг урсоловой кислоты соответственно).

По окончании эксперимента во всех группах наблюдалась аналогичная динамика увеличения массы тела (Рисунок 7,8). Статистически значимых различий между опытными группами и контролем не было установлено. Различие по гендерному признаку отсутствовало. Следует отметить, что представленные диаграммы изменения массы тела были характерны для всех серий экспериментов на мышах CD-1.

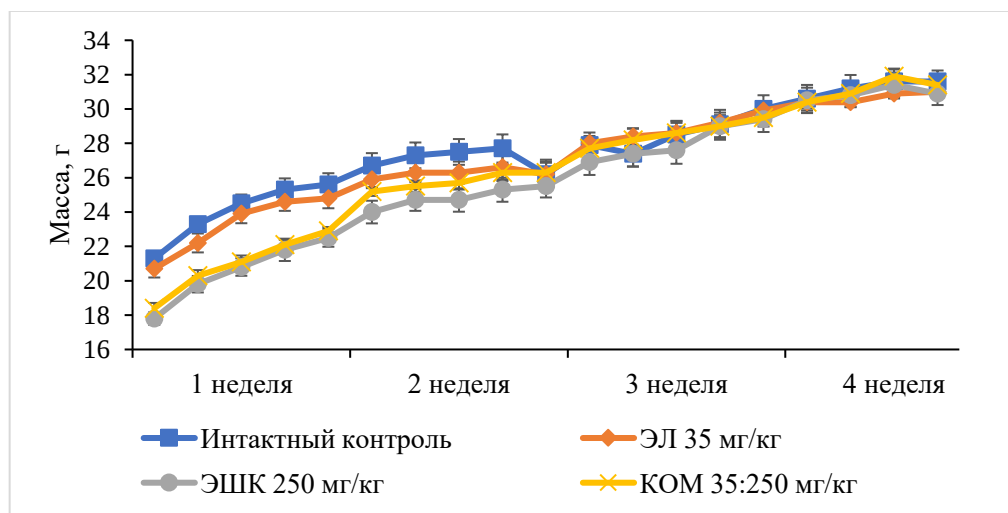


Рисунок 7 – Динамика изменения массы тела (г) в течение 4 недель эксперимента, аутбредные мыши самцы CD-1(n=10)

Примечание: ЭЛ – экстракт левзеи, ЭШК – экстракт шрота клюквы, КОМ – композиция экстрактов левзеи и шрота клюквы. Данные представлены в формате: $M \pm SD$.

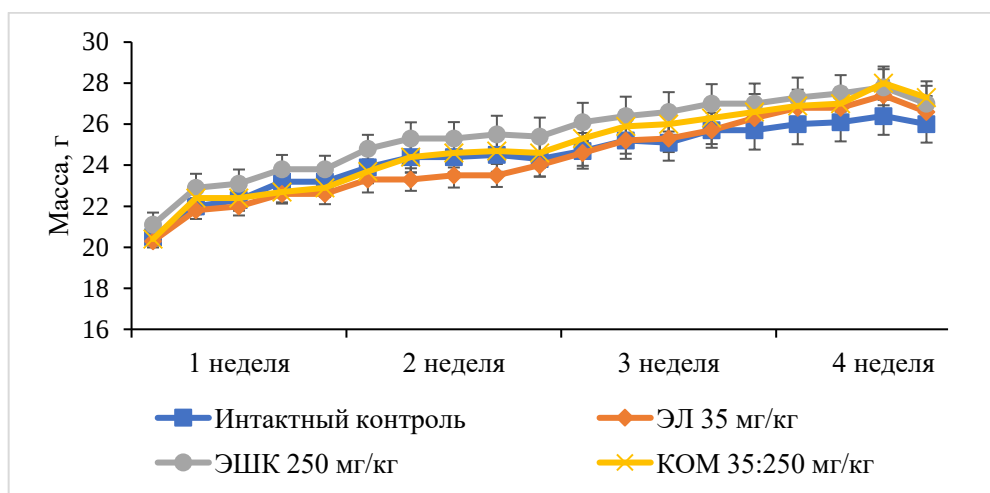


Рисунок 8 – Динамика изменения массы тела (г) в течение 4 недель эксперимента, аутбредные мыши самки CD-1 (n=10)

Примечание: ЭЛ – экстракт левзеи, ЭШК – экстракт шрота клюквы, КОМ – композиция экстрактов левзеи и шрота клюквы. Данные представлены в формате: $M \pm SD$.

Также, ни в одной группе изменения уровня глюкозы крови по сравнению с исходными данными не было выявлено (Таблица 3).

Таблица 3 – Концентрация глюкозы крови (ммоль/л) у аутбредных мышей CD-1 обоего пола (n=10) в конце каждой недели эксперимента

Исследуемые вещества	конец 1 недели		конец 2 недели		конец 3 недели	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀
Интakтный контроль	6,35 [5,9;6,8]	5,25 [4,65;5,85]	6,2 [5,8;6,85]	5,2 [4,8;5,75]	6,2 [5,95;6,35]	5,05 [4,9;5,2]
КОМ 35:250 мг/кг	6,15 [5,85;6,3]	5,6 [5,15;5,8]	6,15 [5,85;6,2]	5,4 [5,25;5,4]	6,05 [5,85;6,15]	5,3 [4,6;5,8]
ЭЛ 35 мг/кг	6,2 [5,9;6,2]	5,85 [5,15;6,45]	6,25 [6,2;6,35]	6,05 [5,4;6,5]	6,15 [5,95;6,25]	5,85 [5,7;6,75]
ЭШК 250 мг/кг	6,35 [6,15;7,1]	6,15 [5,65;6,45]	6,2 [6,15;6,60]	6,15 [5,6;6,65]	6,3 [5,75;6,65]	6,15 [5,9;6,2]

Примечание: КОМ – композиция экстрактов левзеи и шрота клюквы, ЭЛ – экстракт левзеи, ЭШК – экстракт шрота клюквы. Данные представлены в формате: Me[Q1;Q3].

Композиция в дозе 35:250 мг/кг способствовала утилизации глюкозы у мышей CD-1 обоих полов (Рисунок 9), достоверно снижая её уровень на 18% и 9% относительно интактного контроля у самцов и самок соответственно.

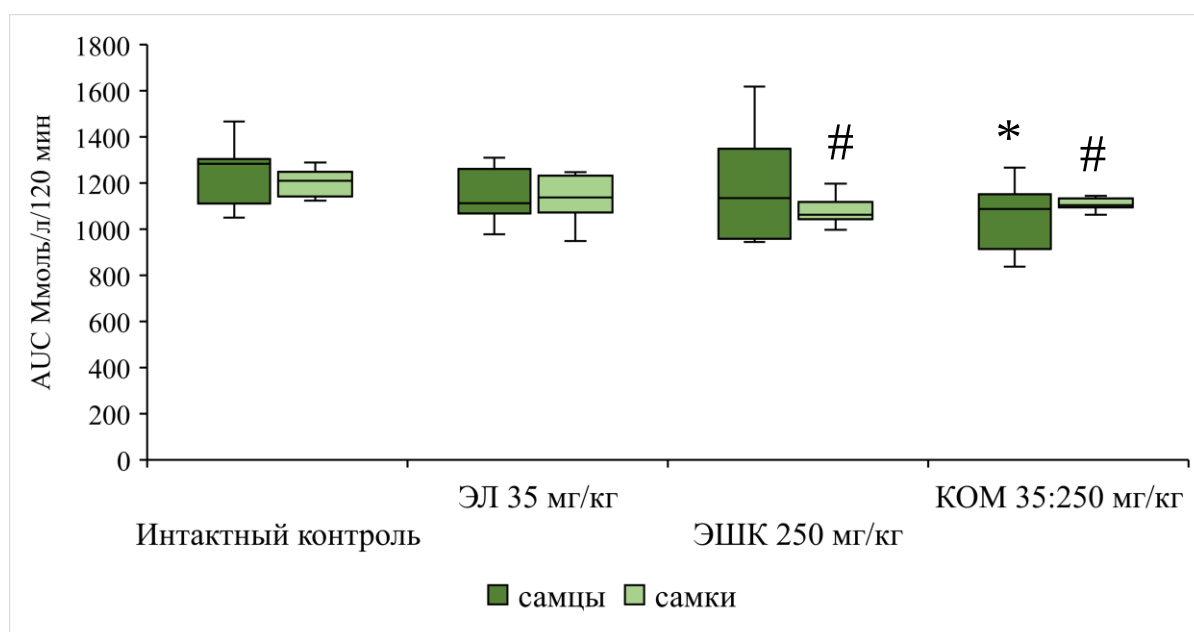


Рисунок 9 – Результаты ОГТТ, представленные в виде площади под гликемической кривой (AUC) через 4 недели эксперимента, аутбредные мыши CD-1 обоего пола (n=10)

Примечание: ЭЛ – экстракт левзеи, ЭШК – экстракт шрота клюквы, КОМ – композиция экстрактов левзеи и шрота клюквы. Данные представлены в формате: Me[Q1;Q3]. * – различия статистически значимы по сравнению с интактным контролем (самцы) при $p < 0,05$; # – статистически значимы по сравнению с интактным контролем (самки) при $p < 0,05$.

Таким образом установлено, что при длительном (4 недели) пероральном введении композиции в дозе 35:250 мг/кг наблюдался выраженный гипогликемический эффект, характеризующийся увеличенной утилизацией глюкозы тканями на фоне глюкозной нагрузки.

3.1.3 Исследование влияния композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы в дозе 70:500 мг/кг на показатели глюкозотолерантного теста при длительном введении (4 недели)

В следующей серии экспериментов рассматривалась максимально эффективная доза композиции в отношении урсоловой кислоты, которая составила 70:500 мг/кг (содержала 210 мкг/кг эхдистена и 200 мг/кг урсоловой кислоты соответственно).

На основании полученных результатов, во всех группах наблюдалась аналогичная динамика увеличения массы тела (Рисунок 10,11). Статистически значимых различий между опытными группами и контролем не было установлено. Различие по гендерному признаку отсутствовало.

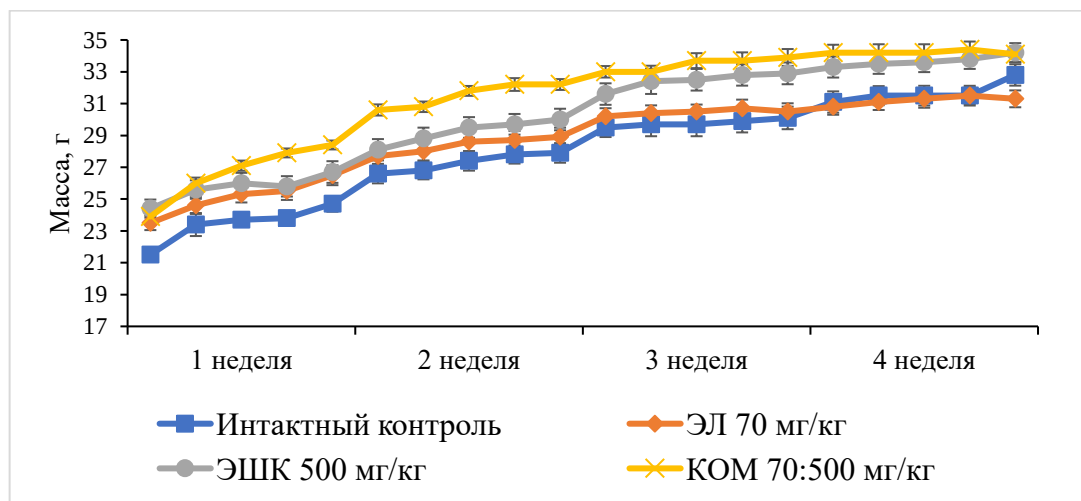


Рисунок 10 – Динамика изменения массы тела (г) в течение 4 недель эксперимента, аутбредные мыши самцы CD-1 (n=10)

Примечание: ЭЛ – экстракт левзеи, ЭШК – экстракт шрота клюквы, КОМ – композиция экстрактов левзеи и шрота клюквы. Данные представлены в формате: $M \pm SD$.

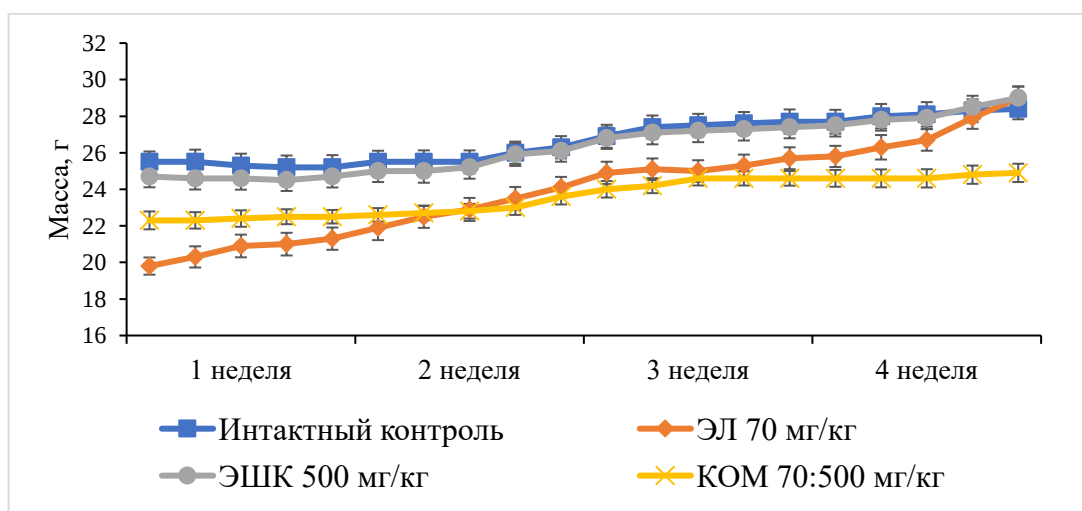


Рисунок 11 – Динамика изменения массы тела (г) в течение 4 недель эксперимента, аутбредные мыши самки CD-1 (n=10)

Примечание: ЭЛ – экстракт левзеи, ЭШК – экстракт шрота клюквы, КОМ – композиция экстрактов левзеи и шрота клюквы. Данные представлены в формате: $M \pm SD$.

По результатам перорального теста толерантности к глюкозе, композиция в дозе 70:500 мг/кг достоверно способствовала утилизации глюкозы крови на 21 и 12% у самцов и самок мышей CD-1 соответственно относительно интактного контроля (Рисунок 12).

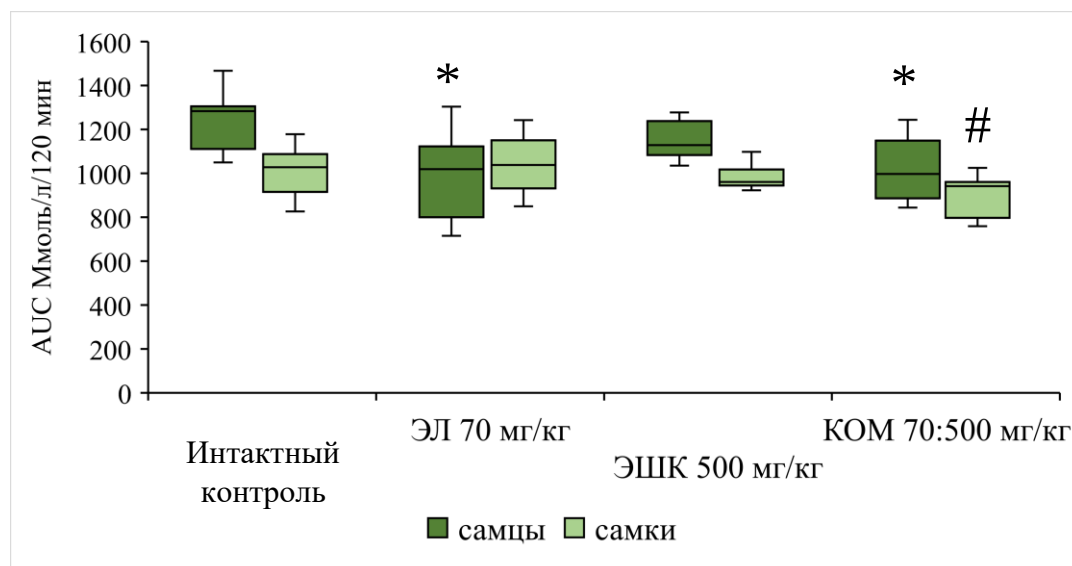


Рисунок 12 – Результаты ОГТТ, представленные в виде площади под гликемической кривой (AUC) через 4 недели эксперимента, аутбредные мыши CD-1 обоего пола (n=10)

Примечание: ЭЛ – экстракт левзеи, ЭШК – экстракт шрота клюквы, КОМ – композиция экстрактов левзеи и шрота клюквы. Данные представлены в формате: Me[Q1;Q3]. * – различия статистически значимы по сравнению с интактным контролем (самцы) при $p < 0,05$; # – статистически значимы по сравнению с интактным контролем (самки) при $p < 0,05$.

Согласно полученным данным, при длительном (4 недели) пероральном введении композиции в дозе 70:500 мг/кг наблюдался выраженный гипогликемический эффект, характеризующийся увеличенной утилизацией глюкозы тканями на фоне глюкозной нагрузки.

Таким образом, по результатам скрининга гипогликемической активности композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы в ОГТТ установлено, что композиция в дозах 170:35 мг/кг, 35:250 мг/кг, 70:500 мг/кг не влияет на динамику изменения массы тела, уровень глюкозы крови. Однако, композиция в дозе 35:250 мг/кг и 70:500 мг/кг способствует утилизации глюкозы тканями на фоне глюкозной нагрузки.

3.1.4 Исследование влияния композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы в дозе 170:50 мг/кг и 35:250 мг/кг на показатели глюкозотолерантного теста на фоне физической нагрузки «бег на тредмиле»

Последующие скрининговые исследования были направлены на изучение влияния выбранных доз композиции на утилизацию глюкозы на фоне физической нагрузки. В данном эксперименте проводили сравнения двух доз композиции 170:50 мг/кг и 35:250 мг/кг.

По окончании эксперимента во всех группах наблюдалась аналогичная динамика увеличения массы тела (Рисунок 13). Статистически значимых различий между опытными группами и контролем не было установлено.

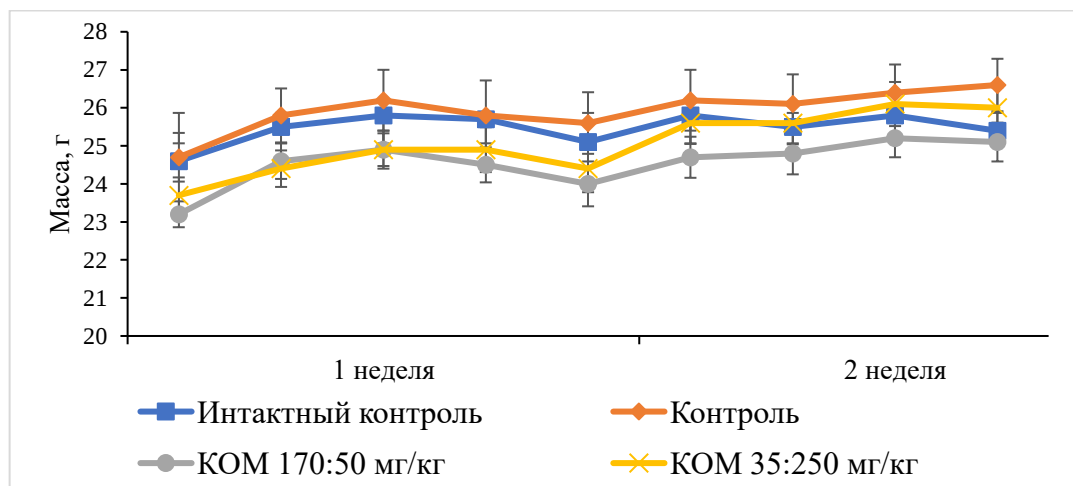


Рисунок 13 – Динамика изменения массы тела (г) в течение 2 недель эксперимента, аутбредные мыши самцы CD-1 (n=10)

Примечание: КОМ – композиция экстрактов левзеи и шрота клюквы. Данные представлены в формате: $M \pm SD$.

В тесте «бег на тредмиле» композиция в дозе 35:250 мг/кг способствовала утилизации глюкозы, достоверно снижая её уровень на 42% (относительно интактного контроля) и 26% (относительно контроля). Композиция в дозе 170:50 мг/кг достоверно способствовала утилизации глюкозы на 11% относительно интактного контроля (Рисунок 14). Статистически значимой разницы между группами композиция в дозе 170:50 мг/кг и контролем не было установлено.

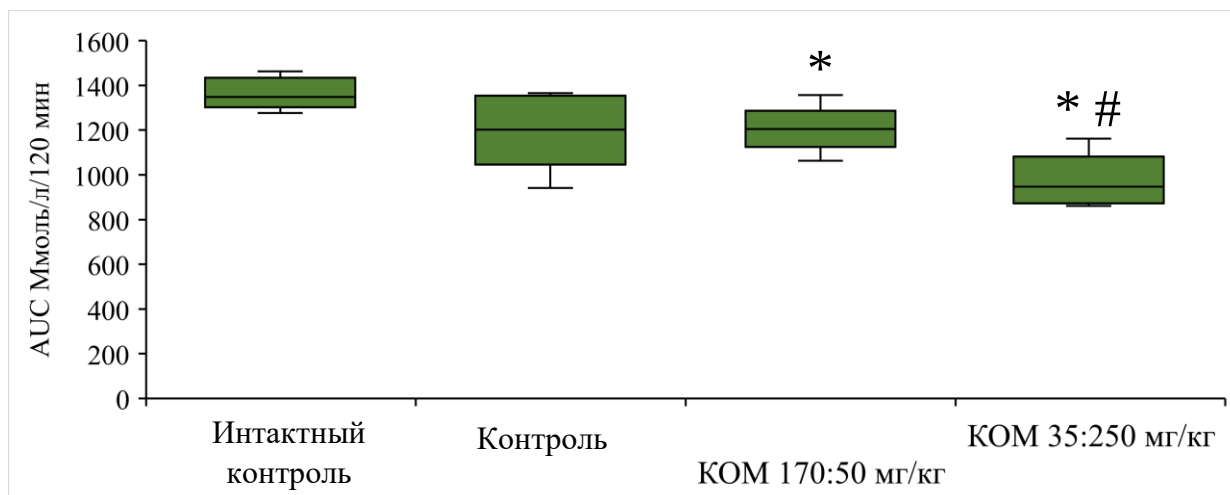


Рисунок 14 – Результаты ОГТТ теста «бег на тредмиле», представленные в виде площади под гликемической кривой (AUC), аутбредные мыши самцы CD-1 (n=10)
 Примечание: КОМ – композиция экстрактов левзеи и шрота клюквы. Данные представлены в формате: Me[Q1;Q3]. * – различия статистически значимы по сравнению с интактным контролем при $p < 0,05$; # – статистически значимы по сравнению с контролем при $p < 0,05$.

Таким образом, согласно результатам исследований, именно в дозе 35:250мг/кг композиция экстрактов левзеи и шрота клюквы проявляла гипогликемический эффект как без, так и на фоне физической и глюкозной нагрузки.

3.1.5 Исследование влияния композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы в дозе 35:250 мг/кг и 70:500 мг/кг на показатели глюкозотолерантного теста на фоне физической нагрузки «вынужденное плавание с грузом»

В данном эксперименте с физической нагрузкой в виде теста «вынужденное плавание с грузом», проводили сравнения двух доз композиции 35:250 мг/кг и 70:500 мг/кг, которые проявили гипогликемический эффект на фоне глюкозной нагрузки без физической нагрузки.

По окончании эксперимента во всех группах наблюдалась аналогичная динамика увеличения массы тела относительно исходных данных (Рисунок 15). Статистически значимых различий между опытными группами и интактным контролем не было установлено.

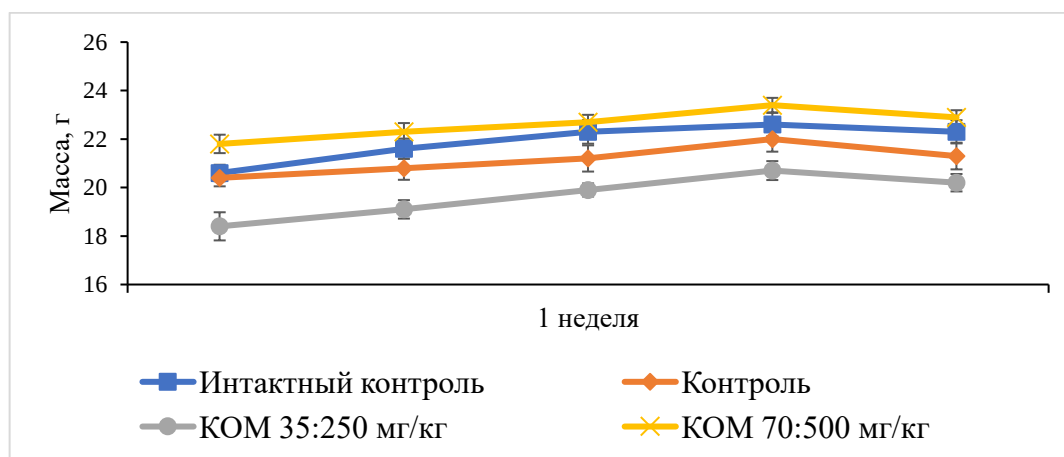


Рисунок 15 – Динамика изменения массы тела (г) в течение недели эксперимента, аутбредные мыши самцы CD-1 (n=10)

Примечание: КОМ – композиция экстрактов левзеи и шрота клюквы. Данные представлены в формате: $M \pm SD$.

В тесте «вынужденное плавание с грузом» композиция в дозе 70:500 мг/кг способствовала утилизации глюкозы, достоверно снижая её уровень на 36% относительно интактного контроля, на 30% относительно контроля. Между контрольными группами и композицией в дозе 35:250 мг/кг статистически значимой разницы не было установлено (Рисунок 16).

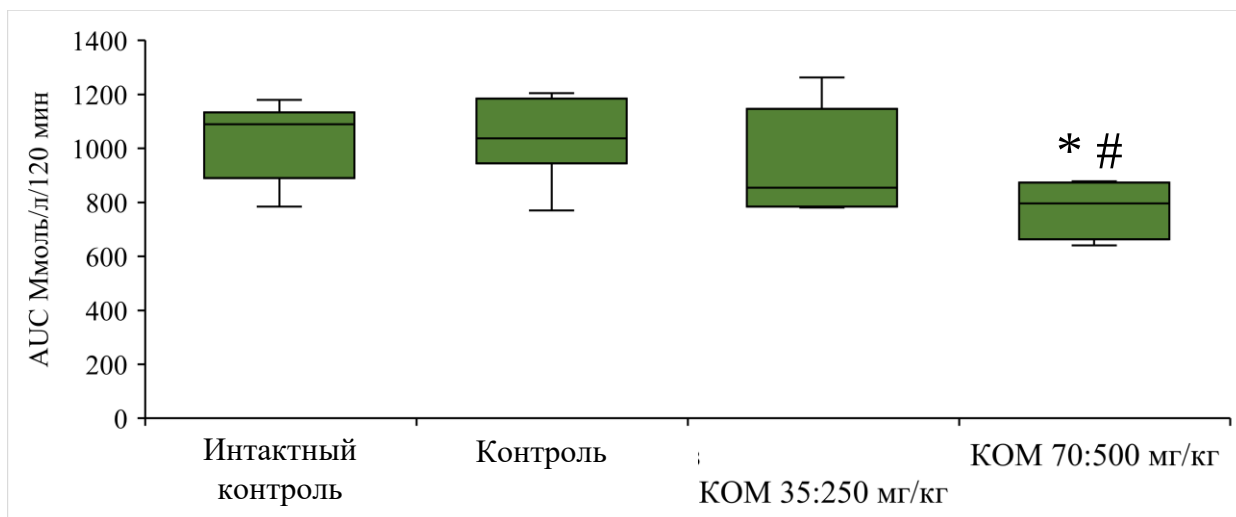


Рисунок 16 – Результаты ОГТТ теста «вынужденное плавание с грузом», представленные в виде площади под гликемической кривой (AUC), аутбредные мыши самцы CD-1 (n=10)

Примечание: КОМ – композиция экстрактов левзеи и шрота клюквы. Данные представлены в формате: $Me[Q1;Q3]$. * – различия статистически значимы по сравнению с интактным контролем при $p < 0,05$; # – статистически значимы по сравнению с контролем при $p < 0,05$.

Таким образом, по результатам исследований, композиция в дозе 70:500мг/кг проявляла гипогликемический эффект на фоне глюкозной нагрузки как без, так и на фоне физической нагрузки. На основании вышеизложенных соображений, для дальнейших исследований была выбрана композиция в дозе 70:500 мг/кг (содержащая 210 мкг/кг экдистена и 200 мг/кг урсоловой кислоты соответственно) в качестве наиболее перспективной и эффективной композиции.

3.2 Исследование адаптогенных свойств композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы на фоне физической нагрузки «принудительное плавание»

Растительные экстракты, кроме действующих веществ, содержат и другие, разнообразные по химическому составу, биологически активные компоненты, которые могут оказывать влияние на свойства и активность композиции в целом. Для исключения влияния сопутствующих компонентов в экстрактах на основные фармакологические эффекты, последующие исследования были проведены в сравнении с смесью индивидуальных действующих веществ, взятых в эквивалентных дозах (экдистен и урсоловая кислота в дозе 210 мкг/кг:200 мг/кг).

Анаэробный гликолиз является основным метаболическим путем, используемым в условиях ограниченного поступления кислорода во время интенсивных физических нагрузках. С энергетической точки зрения этот путь неэффективен, однако это быстрый процесс, результатом которого является превращение пирувата в лактат (Bangsbo J. et al., 2019). Истощение энергетических субстратов и накопление побочных продуктов метаболизма глюкозы способствуют утомляемости скелетной мускулатуры при длительной физической нагрузке (Fiorenza M. et al., 2019). Следовательно, динамика уровня лактата в крови будет указывать на уровень тренированности организма, интенсивность физической нагрузки и степень восстановления после нее (Анаев Э.Х., 2014).

Согласно полученным результатам, на фоне физической нагрузки наблюдалось достоверное снижение концентрации лактата в крови в группах: композиция в дозе 70:500 мг/кг на 9 и 41%, экдистен и урсоловая кислота в дозе

210 мкг/кг:200 мг/кг на 24 и 60% относительно интактного контроля и контроля соответственно (Рисунок 17).

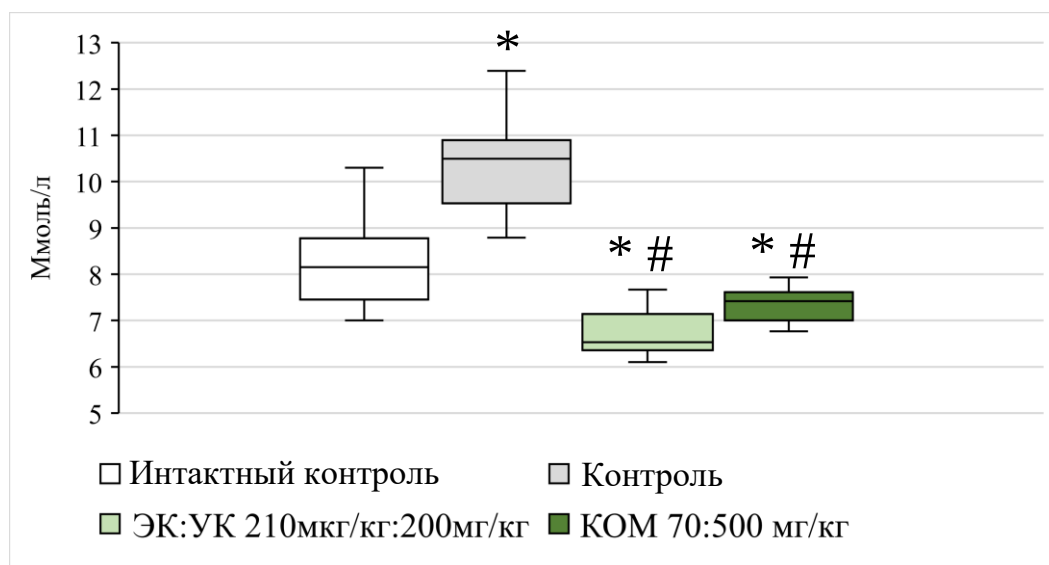


Рисунок 17 – Концентрация лактата (ммоль/л) в крови аутбредных мышей самцов CD-1 (n=10) после выполнения теста «принудительное плавание»

Примечание: ЭК:УК – смесь экдистена и урсоловой кислоты, КОМ – композиция экстрактов левзеи и шрота клюквы. Данные представлены в формате: Me[Q1;Q3].

* – различия статистически значимы по сравнению с интактным контролем при $p < 0,05$; # – статистически значимы по сравнению с контролем при $p < 0,05$.

Достоверное снижение концентрации лактата в мышцах в группах: композиция в дозе 70:500 мг/кг на 51%, экдистен и урсоловая кислота в дозе 210мкг/кг:200 мг/кг на 85% относительно контроля (Рисунок 18).

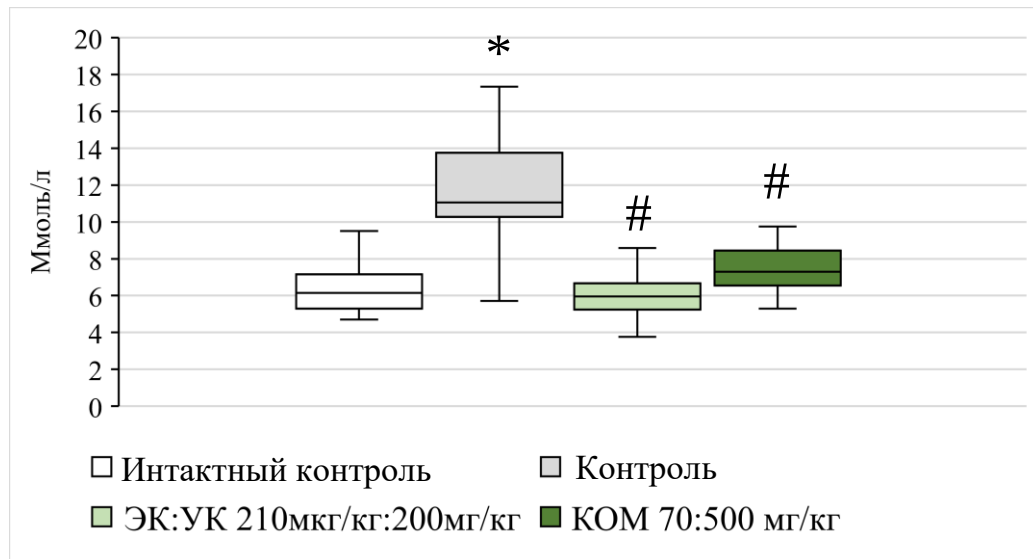


Рисунок 18 – Концентрация лактата (ммоль/л) в мышцах аутбредных мышей самцов CD-1 (n=10) после выполнения теста «принудительное плавание»
 Примечание: ЭК:УК – смесь экдистена и урсоловой кислоты, КОМ – композиция экстрактов левзеи и шрота клюквы. Данные представлены в формате: Me[Q1;Q3].
 * – различия статистически значимы по сравнению с интактным контролем при $p < 0,05$; # – статистически значимы по сравнению с контролем при $p < 0,05$.

Полученные результаты показывают, что у мышей контрольной группы на фоне физической нагрузки (без предварительной тренировки животных) под действием большого физического напряжения происходит накопление лактата (в крови и мышцах) в организме как продукта анаэробного гликолиза (Pucino V. et al., 2017). У мышей, получавших композицию в дозе 70:500 мг/кг, смесь экдистена и урсоловой кислоты в дозе 210 мкг/кг:200 мг/кг (то есть индивидуальных действующих веществ), после выполнения физической нагрузки концентрация лактата в мышцах и крови была в обоих случаях ниже значений контрольной группы. Это может быть показателем ускоренного восстановления организма на фоне применения композиции и повышения физической выносливости (Mul J.D. et al., 2015).

Во время физической активности потребление кислорода всем телом увеличивается, благодаря чему кровоток в интенсивно работающих скелетных мышцах может возрасть в 15–20 раз (Rose A.J. et al., 2005). Необходимую в этих обстоятельствах энергию скелетная мышца расходует со значительно большей

скоростью, чем в состоянии покоя, что приводит к увеличению поглощения глюкозы мышцами (Loon L.J.C. et al., 2001; Белая Ж.Е. и др., 2005).

По результатам теста «принудительное плавание», наблюдалось достоверное увеличение концентрации глюкозы крови в группах с физической нагрузкой. Однако, полученные значения были ниже для композиции в дозе 70:500 мг/кг на 7% и для смеси экдистена и урсоловой кислоты в дозе 210 мкг/кг:200 мг/кг на 15% относительно контрольной группы (Рисунок 19). Достоверное снижение концентрации глюкозы в мышцах наблюдалось в группах: композиция в дозе 70:500 мг/кг на 74%, экдистен и урсоловая кислота в дозе 210 мкг/кг:200 мг/кг на 69% относительно интактного контроля (Рисунок 20).

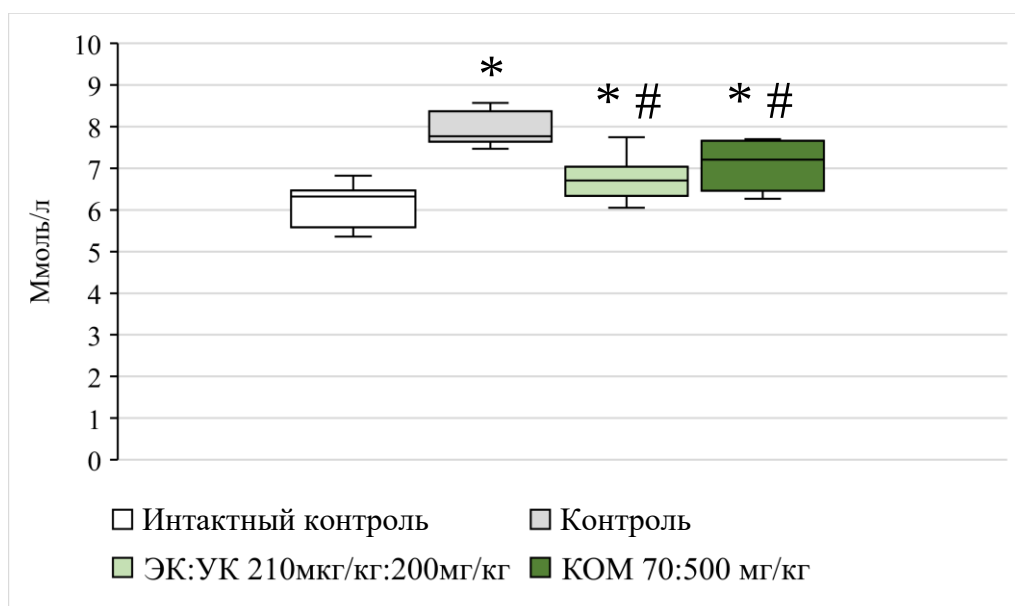


Рисунок 19 – Концентрация глюкозы в крови (ммоль/л) аутбредных мышей самцов CD-1 (n=10) после выполнения теста «принудительное плавание»
 Примечание: ЭК:УК – смесь экдистена и урсоловой кислоты, КОМ – композиция экстрактов левзеи и шрота клюквы. Данные представлены в формате: Me[Q1;Q3].
 * – различия статистически значимы по сравнению с интактным контролем при $p < 0,05$; # – статистически значимы по сравнению с контролем при $p < 0,05$.

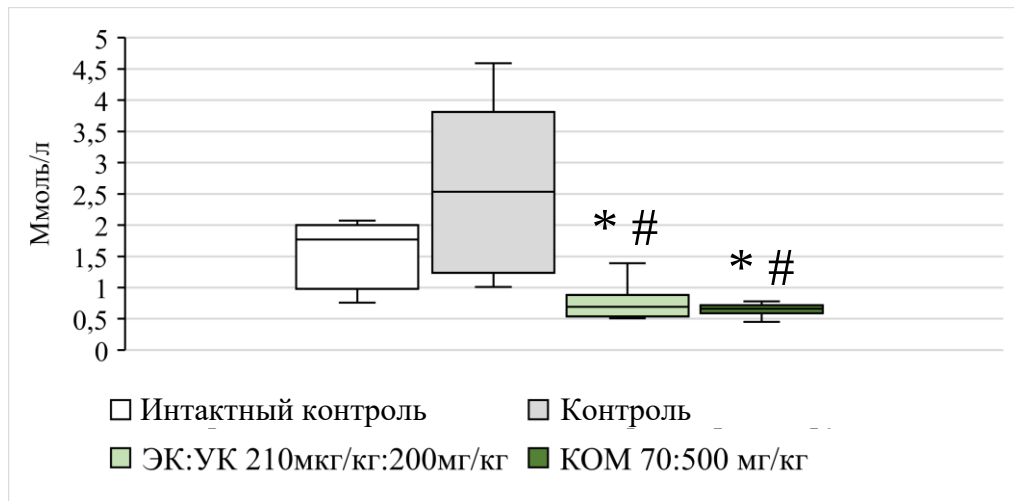


Рисунок 20 – Концентрация глюкозы в мышцах (ммоль/л) аутбредных мышей самцов CD-1 (n=10) после выполнения теста «принудительное плавание»

Примечание: ЭК:УК – смесь экдистена и урсоловой кислоты, КОМ – композиция экстрактов левзеи и шрота клюквы. Данные представлены в формате: Me[Q1;Q3].

* – различия статистически значимы по сравнению с интактным контролем при $p < 0,05$; # – статистически значимы по сравнению с контролем при $p < 0,05$.

На фоне физической нагрузки во всех исследуемых группах происходило увеличение концентрации глюкозы крови, однако полученные показатели для групп композиция в дозе 70:500 мг/кг и смесь экдистена и урсоловой кислоты в дозе 210 мкг/кг:200 мг/кг были достоверно ниже значений контрольной группы. Таким образом, композиция и смесь индивидуальных веществ способствовали поддержанию концентрации глюкозы крови в пределах физиологической нормы.

Концентрация глюкозы в мышцах для исследуемых групп (композиции и смеси индивидуальных веществ) была в обоих случаях ниже контрольных групп, что обосновывает снижение концентрации лактата, поскольку организм затрачивает меньше энергии на выполнение физической нагрузки, в связи с чем расходуется меньше глюкозы.

Для более полной оценки влияния композиции и смеси индивидуальных веществ на организм на фоне глюкозной и физической нагрузки, был проведён биохимический анализ сыворотки крови по показателям, отражающим состояние белкового, углеводного и липидного обмена.

По результатам биохимического исследования композиция в дозе 70:500мг/кг способствовала достоверному снижению концентрации общего

холестерина, АСТ, ЛПВП относительно контрольной группы (Таблица 4). Полученные значения липопротеинов высокой и низкой плотности обусловлены имеющейся разницей в метаболизме липидов мышечной и человеческой. У мышечной отсутствует белок переноса эфиров холестерина (ЭХ), который переносит ЭХ из ЛПВП в липопротеины, содержащие аполипопротеин В у людей (то есть ЛПНП и липопротеины очень низкой плотности). Таким образом, большая часть ЭХ плазмы мышечной переносится в ЛПВП, в то время как у людей в ЛПНП, из-за чего корреляция содержания липопротеинов мышечной обратна таковой у людей (Gordon S.M. et al., 2015). В отношении триглицеридов, липопротеидов низкой плотности, АЛТ, щелочной фосфатазы не было установлено статистически значимых различий для исследуемых групп.

Повышенный окислительный стресс во время физических нагрузок приводит к образованию свободных радикалов или АФК и азота, которые могут подавлять сократительную функцию мышц, что приводит к их повреждению, нарушению проницаемости клеточных мембран и снижению работоспособности (Higgins E.H. et al., 2020; Simioni C. et al., 2018). Вследствие этого повышается уровень тканевых ферментов в крови. Так, согласно полученным результатам, концентрация КК в контрольной группе была достоверно увеличена относительно интактного контроля. На фоне введения композиции в дозе 70:500 мг/кг, смеси экдистена и урсоловой кислоты в дозе 210 мкг/кг:200 мг/кг наблюдалась уменьшение концентрации КК по сравнению с показателями контрольной группы (Таблица 4), что может быть объяснено наличием антиоксидантной и антирадикальной активности урсоловой кислоты, входящей в состав шрота клюквы (Checker R. et al., 2012; Samsonowicz M. et al., 2021).

Кроме того, в исследуемых группах наблюдалось достоверное увеличение концентрации общего белка крови. Это может быть связано с наличием анаболических свойств у фитоэкдистероидов, механизм которых связан с повышением функциональной активности полирибосомального аппарата клетки, в результате которого возрастает абсолютная скорость синтеза белка (Васильев А.С. и др., 2015).

Таблица 4 – Биохимическое исследование сыворотки крови аутбредных мышей самцов CD-1 (n=10) после выполнения теста «принудительное плавание»

Показатель	Группа животных			
	Интактный контроль	Контроль	ЭК:УК 210 мкг/кг:200 мг/кг	КОМ 70:500мг/кг
ОХ, ммоль/л	3,56 [3,36; 3,68]	3,64 [3,53; 3,68]	3,55 [3,49; 3,56] #	3,54 [3,47; 3,61] #
ТГ, ммоль/л	1,55 [1,47; 1,82]	1,55 [1,46; 1,68]	1,58 [1,51; 1,68]	1,56 [1,51; 1,60]
ОБ, г/дл	7,41 [6,72; 7,62]	6,81 [6,60; 7,13]	8,03 [7,98; 8,07]*#	8,10 [7,80; 8,22]*#
ЛПВП, ммоль/л	1,05 [0,95; 1,11]	0,97 [0,92; 1,24]	0,90 [0,88; 0,96]*	0,80 [0,79; 0,90]*#
ЛПНП, ммоль/л	1,74 [1,63; 1,91]	1,24 [1,02; 1,67]	1,14 [0,84; 1,81]	1,66 [1,49; 1,87]
АЛТ, ед/л	33,2 [32,9; 43,6]	31,4 [29,0; 39,7]	31,4 [30,9; 34,0]	34,9 [34,2; 34,9]
АСТ, ед/л	47,1 [45,1; 56,1]	55,9 [45,4; 61,6]	37,5 [29,9; 43,0] *#	41,8 [35,0; 43,7] *#
КК, ед/л	70,2 [52,9; 72,5]	85,5 [84,3; 98,1]*	83,3 [70,6; 84,7] *#	79,9 [72,2; 83,7] *#
ЩФ, ед/л	80 [60,7; 88,2]	82,5 [70,1; 86,7]	79,3 [69,0; 86,8]	83,4 [75,0; 84,0]
Примечание: * – различия статистически значимы по сравнению с интактным контролем при $p < 0,05$; # – статистически значимы по сравнению с контролем при $p < 0,05$. ЭК:УК – смесь экдистена и урсоловой кислоты, КОМ – композиция экстрактов левзеи и шрота клюквы. Данные представлены в формате: Me[Q1;Q3].				

Таким образом, на фоне введения композиции в дозе 70:500 мг/кг и выполнения физических нагрузок, у животных были отмечены определенные особенности метаболизма (снижение концентрации глюкозы, лактата, креатинкиназы, холестерина, липопротеинов высокой плотности, увеличение концентрации общего белка), которые могут являться показателями развития реакций адаптации организма (Mul J.D. et al., 2015).

Кроме того, полученные результаты показывают, что разработанная композиция в дозе 70:500 мг/кг проявляет аналогичные со смесью индивидуальных действующих веществ (экдистен и урсоловая кислота) фармакологические эффекты в отношении показателей углеводного, белкового и липидного обмена на фоне физической нагрузки.

3.3 Изучение анаболической активности композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы на модели изолированной перегрузки скелетной мышцы голени крыс

В более ранних исследованиях было доказано, что проявляемые левзеей сафлоровидной анаболические эффекты опосредованы экдистероидами (в частности, 20-гидроксиэкдизоном) (Slám K. et al., 1996; Todorova V. et al., 2021).

Поскольку в состав разработанной композиции входит экстракт левзеи, содержащий экдистероид, необходимо было установить наличие у композиции анаболического эффекта. Для этого использовали модель изолированной перегрузки скелетной мышцы голени крыс с операцией тенотомии. Данная экспериментальная модель позволяет судить по степени гипертрофии *m.soleus* о наличии анаболической активности у биологически активных соединений природного и синтетического происхождения тенотомии (Гаджиева Д.М. и др., 2002).

Через 2 недели (14 дней) ежедневного введения композиции в дозе 70:500 мг/кг, смеси экдистена и урсоловой кислоты в дозе 210 мкг/кг:200 мг/кг во всех опытных группах развилась гипертрофия правой *m.soleus*, однако у самцов

наблюдался более выраженный, чем у самок анаболический эффект (Рисунок 22). Процент прироста массы правой *m.soleus* в сравнении с левой у самцов на фоне введения композиции в дозе 70:500 мг/кг составил 86%, на фоне введения смеси экдистена и урсоловая кислоты в дозе 210 мкг/кг:200 мг/кг 88%; у самок – на фоне приёма композиции в дозе 70:500 мг/кг 46%, смеси экдистена и урсоловая кислоты в дозе 210 мкг/кг:200 мг/кг 55%.

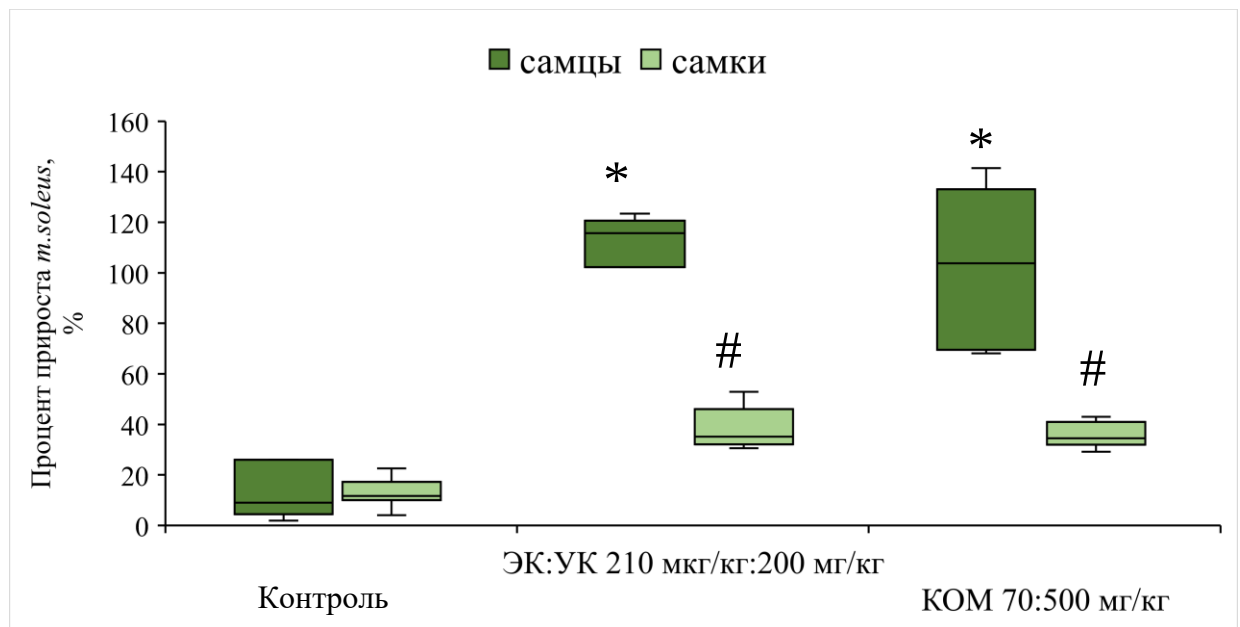


Рисунок 22 – Процент прироста массы правой *m.soleus* у самцов и самок крыс Вистар (n=8) через 2 недели введения композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы, смеси экдистена и урсоловой кислоты

Примечание: ЭК:УК – смесь экдистена и урсоловой кислоты, КОМ – композиция экстрактов левзеи и шрота клюквы. Данные представлены в формате: Me[Q1;Q3].

* – различия статистически значимы по сравнению с контролем (самцы) при $p < 0,05$; # – статистически значимы по сравнению с контролем (самки) при $p < 0,05$.

Таким образом, на модели изолированной перегрузки скелетной мышцы голени крыс с операцией тенотомии композиция в дозе 70:500 мг/кг проявляла анаболический эффект у крыс Вистар. Следует отметить, что количественного содержания экдистена, присутствующего в экстракте левзеи (210 мкг/кг), было достаточным для проявления композицией данного фармакологического эффекта. Полученные значения процента прироста мышцы *m.soleus* на фоне введения композиции в дозе 70:500 мг/кг коррелировали с показателями смеси

индивидуальных действующих веществ (экдистена и урсоловой кислоты), что подтверждает их роль в проявлении анаболического эффекта.

3.4 Исследование влияния композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы на уровень тестостерона

Тестостерон играет ключевую роль в формировании вторичных половых признаков, половой функции, поведении, качества жизни у мужчин любого возраста (Zitzmann M., 2020). Андрогены являются важными гормонами и для женщин, поддерживая анаболические процессы (прежде всего в мышечной ткани), метаболизм, формирование и созревание костной ткани (Smith T. et al., 2021). Однако, увеличение концентрации тестостерона выше физиологического диапазона может приводить к возникновению побочных эффектов: у женщин – понижение голоса, акне и гирсутизм; у мужчин – гинекомастию и ингибирование сперматогенеза; и как у женщин, так и у мужчин – дислипидемию и связанные с ней сердечно-сосудистые заболевания, заболевания печени и возможные нарушения настроения и поведения (Uloko M. et al., 2022; Wierman M.E. et al., 2014).

Поскольку в предыдущем эксперименте было установлено, что разработанная композиция экстрактов левзеи и шрота клюквы обладает анаболической активностью, необходимо было изучить предположительный механизм данного эффекта. Кроме того, одним из компонентов новой композиции является фитоэкдистероид, что делает необходимым проведение исследования влияния композиции на уровень тестостерона крови. При определении концентрации тестостерона необходимо учитывать, что возраст, пол, эндокринный статус, а также время сбора биологического материала и ряд других факторов влияют на результат исследования (Celes P. et al., 2015).

Согласно полученным данным, по окончании эксперимента в опытных группах наблюдалось повышение уровня тестостерона в крови. Кроме того, отмечалось наличие гендерного различия (Рисунок 23).

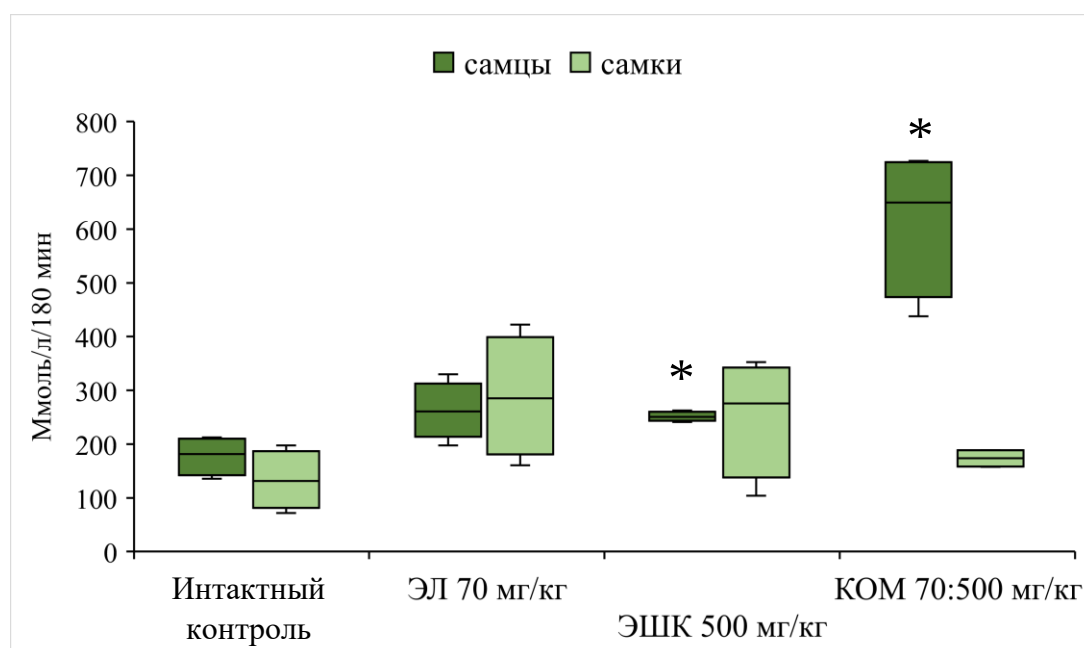


Рисунок 23 – Уровень тестостерона крови, представленный в виде площади под кривой (AUC), аутбредные мыши CD-1 обоего пола (n=8) после однократного введения экстракта левзеи, экстракта шрота клюквы и композиции

Примечание: ЭЛ – экстракт левзеи, ЭШК – экстракт шрота клюквы, КОМ – композиция экстрактов левзеи и шрота клюквы. Данные представлены в формате: Me[Q1;Q3]. * – статистически значимо в сравнении с интактным контролем (самцы) при $p < 0,05$.

Однократное введение композиции в дозе 70:500 мг/кг, экстракта шрота клюквы в дозе 500 мг/кг достоверно увеличивало уровень тестостерона у самцов мышей CD-1. В то время как на фоне однократного введения экстракта левзеи в дозе 70 мг/кг не происходило статистически значимого изменения уровня тестостерона у мышей CD-1 обоего пола. Это даёт возможность предположить, что проявляемый фитоэкдистроидами анаболический эффект, обусловлен иным механизмом действия и не сопровождается андрогенной, эстрогенной активностью. Таким образом, проявляемый разработанной композицией в дозе 70:500 мг/кг эффект в отношении уровня тестостерона обусловлен входящим в её состав экстрактом шрота клюквы в дозе 500 мг/кг. На фоне введения исследуемых экстрактов и композиции у самок мышей CD-1 не происходило статистически значимого изменения уровня тестостерона, что говорит о наличии различий по гендерному признаку.

3.5 Исследование токсичности композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы при длительном введении (4 недели)

Целью следующего этапа исследования было определить безопасность и переносимость композиции в дозе 70:500 мг/кг и её отдельных компонентов у мышей и крыс при длительном введении (4 недели).

Анализ данных функциональных наблюдений за животными во время эксперимента. При длительном внутрижелудочном введении композиции в дозе 70:500 мг/кг, экстракта левзеи 70 мг/кг, экстракта шрота клюквы 500 мг/кг визуальных признаков интоксикации обнаружено не было. Все животные выжили после первых суток эксперимента, в дальнейшем также не проявляли внешних признаков интоксикации, а физиологическое состояние у них находилось в пределах нормы.

Анализ динамики массы тела экспериментальных животных. При длительном внутрижелудочном введении прирост массы тела экспериментальных животных исследуемых групп во время наблюдения находился в пределах физиологической нормы (Рисунок 25,26,27). Кроме того, не было обнаружено значимых различий между ежедневным приростом массы у экспериментальных животных.

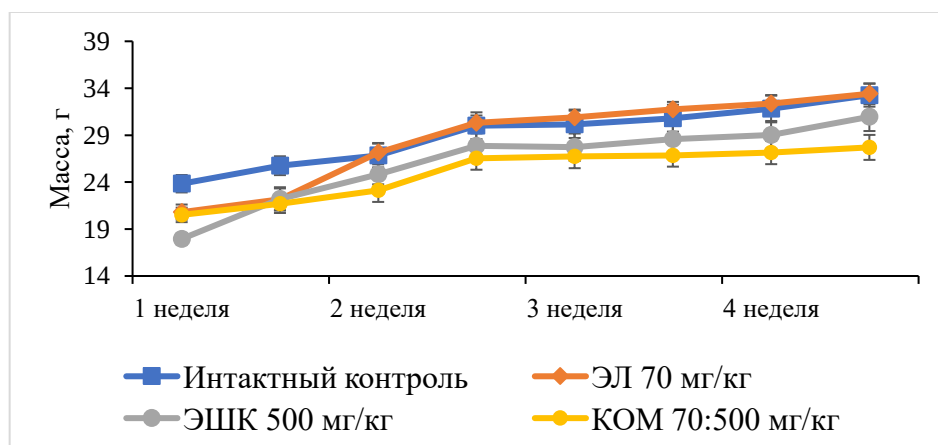


Рисунок 25 – Динамика изменения массы тела (г) в течение 4 недель эксперимента, аутбредные мыши самцы CD-1 (n=10)

Примечание: ЭЛ – экстракт левзеи, ЭШК – экстракт шрота клюквы, КОМ – композиция экстрактов левзеи и шрота клюквы. Данные представлены в формате: $M \pm SD$.

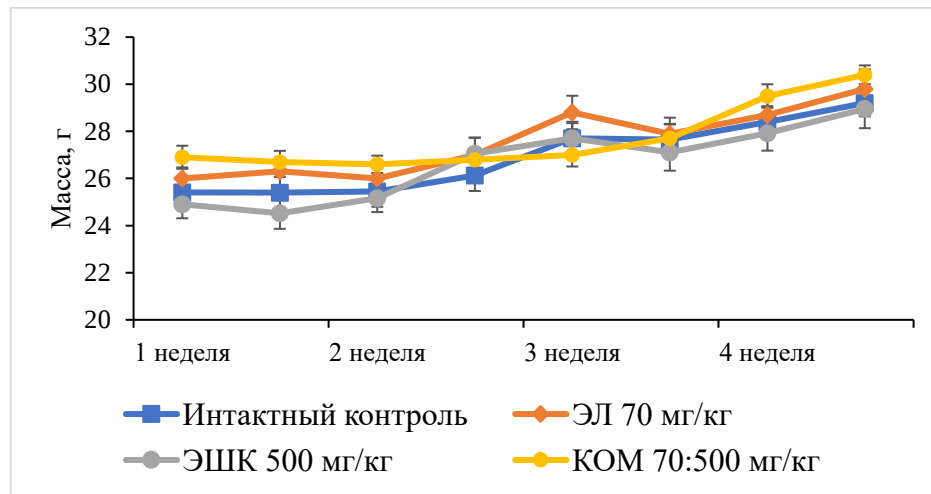


Рисунок 26 – Динамика изменения массы тела (г) в течение 4 недель эксперимента, аутбредные мыши самки CD-1 (n=10)

Примечание: ЭЛ – экстракт левзеи, ЭШК – экстракт шрота клюквы, КОМ – композиция экстрактов левзеи и шрота клюквы. Данные представлены в формате: $M \pm SD$.

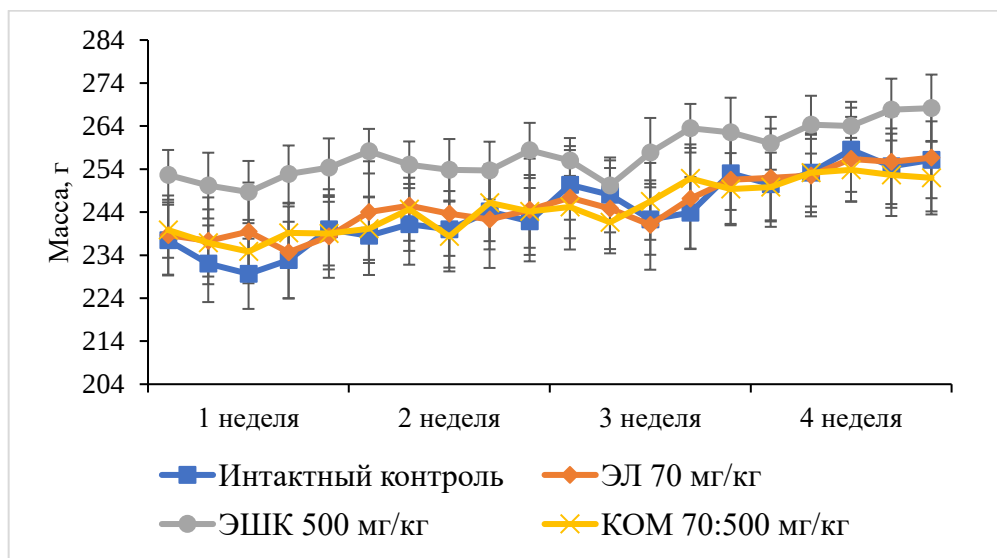


Рисунок 27 – Динамика изменения массы тела (г) в течение 4 недель эксперимента, самки крыс сток Вистар (n=8)

Примечание: ЭЛ – экстракт левзеи, ЭШК – экстракт шрота клюквы, КОМ – композиция экстрактов левзеи и шрота клюквы. Данные представлены в формате: $M \pm SD$.

Результаты макроскопического исследования органов животных. При макроскопическом исследовании внутренних органов и анализе коэффициентов их масс у животных, подвергнутых эвтаназии после окончания эксперимента, было установлено, что внутренние органы не имели необратимой, угрожающей жизни

патологии. Сердце, печень, селезёнка, почки и органы репродуктивной системы визуально не отличались от контрольных животных. Статистически значимых различий индекса массы органов в сравнении с интактным контролем не было установлено (Таблица 5,6). При макроскопическом исследовании внутренних органов животных, составляющих контрольные группы, не было выявлено никакой видимой патологии.

Таблица 5 – Индекс массы органов (%), аутбредные мыши самцы CD-1 (n=10) по окончанию эксперимента (через 4 недели)

	Интактный контроль	ЭЛ 70 мг/кг	ЭШК 500 мг/кг	КОМ 70:500 мг/кг
Сердце	0,56 [0,51; 0,62]	0,55 [0,49;0,62]	0,52 [0,51;0,56]	0,54 [0,54;0,62]
Печень	4,29 [3,94;4,29]	4,03 [3,94;4,25]	4,09 [3,99;4,24]	4,19 [3,92;4,31]
Почки	1,22 [1,12;1,36]	1,20 [1,14;1,27]	1,20 [1,13;1,32]	1,22 [1,17;1,34]
Селезенка	0,31 [0,27;0,33]	0,31 [0,26;0,36]	0,29 [0,25;0,32]	0,30 [0,28;0,34]
Примечание: ЭЛ – экстракт левзеи, ЭШК – экстракт шрота клюквы, КОМ – композиция экстрактов левзеи и шрота клюквы. Данные представлены в формате: Me[Q1;Q3].				

Таблица 6 – Индекс массы органов (%), самки крыс сток Вистар (n=8) по окончанию эксперимента (через 4 недели)

	Интактный контроль	ЭЛ 70 мг/кг	ЭШК 500 мг/кг	КОМ 70:500 мг/кг
Сердце	0,3 [0,28;0,33]	0,31 [0,29;0,33]	0,3 [0,28;0,32]	0,3 [0,28;0,34]
Печень	3,36 [3,14;3,82]	3,13 [2,89;3,38]	3,2 [2,94;3,47]	3,2 [2,82;3,75]
Почки	0,64 [0,63;0,67]	0,65 [0,65;0,70]	0,62 [0,58;0,65]	0,66 [0,60;0,67]
Селезенка	0,31 [0,26;0,35]	0,28 [0,27;0,30]	0,3 [0,29;0,31]	0,3 [0,28;0,32]
Примечание: ЭЛ – экстракт левзеи, ЭШК – экстракт шрота клюквы, КОМ – композиция экстрактов левзеи и шрота клюквы. Данные представлены в формате: Me[Q1;Q3].				

Кардиотоксичность. ЭКГ – это регистрация и исследование электрических полей, образующихся при работе сердца, которая позволяет получить важную информацию о функциональных и структурных характеристиках миокарда (Serhani M.A. et al., 2020). Анализ ЭКГ у крыс используется в исследованиях состояния

сердечно-сосудистой системы, в том числе при оценке кардиотоксичности, не только в физиологических условиях, но и при введении различных лекарственных средств, а также при моделировании различных заболеваний у животных (Лычева Н.А. и др., 2018).

В ходе исследования параметров ЭКГ неинвазивным методом у бодрствующих животных, значения ЧСС варьировали незначительно (Таблица 7). Изменений в значениях интервалов PQ, PR, QT, комплексе [Q1;Q3]S не было выявлено.

Таблица 7 – Частота сердечных сокращений в минуту у самок крыс сток Вистар (n=8) в начале и конце эксперимента (через 4 недели)

	Интактный контроль	ЭЛ 70 мг/кг	ЭШК 500 мг/кг	КОМ 70:500 мг/кг
Начало эксперимента	386 [376; 394]	410 [393; 418]	449,0 [434; 466]	460,5 [438; 495]
Конец эксперимента	391,5 [379; 407]	412,5[404;428]	456,5 [442; 464]	458,5 [430; 487]
Примечание: ЭЛ – экстракт левзеи, ЭШК – экстракт шрота клюквы, КОМ – композиция экстрактов левзеи и шрота клюквы. Данные представлены в формате: Me[Q1;Q3].				

Гистологическое исследование печени, сердца крыс. У животных всех исследуемых групп архитектура печени сохранена, желчные капилляры, вены и артерии имели типичное строение. Признаков патологической инфильтрации, дегенеративно-некротических изменений гепатоцитов и фиброза не выявлено. В синусоидах определялись единичные мононуклеарные лейкоциты и купферовские клетки без признаков повышенной активности (Рисунок 28). Клетки Купфера — макрофаги печени человека, являются неотъемлемой частью иммунной системы, увеличение их размеров и количества свидетельствует о наличии воспалительного процесса в печени (Tsutsui H. et al., 2014). При окрашивании по методу ШИК гликоген выявлялся у всех животных (Рисунок 29).

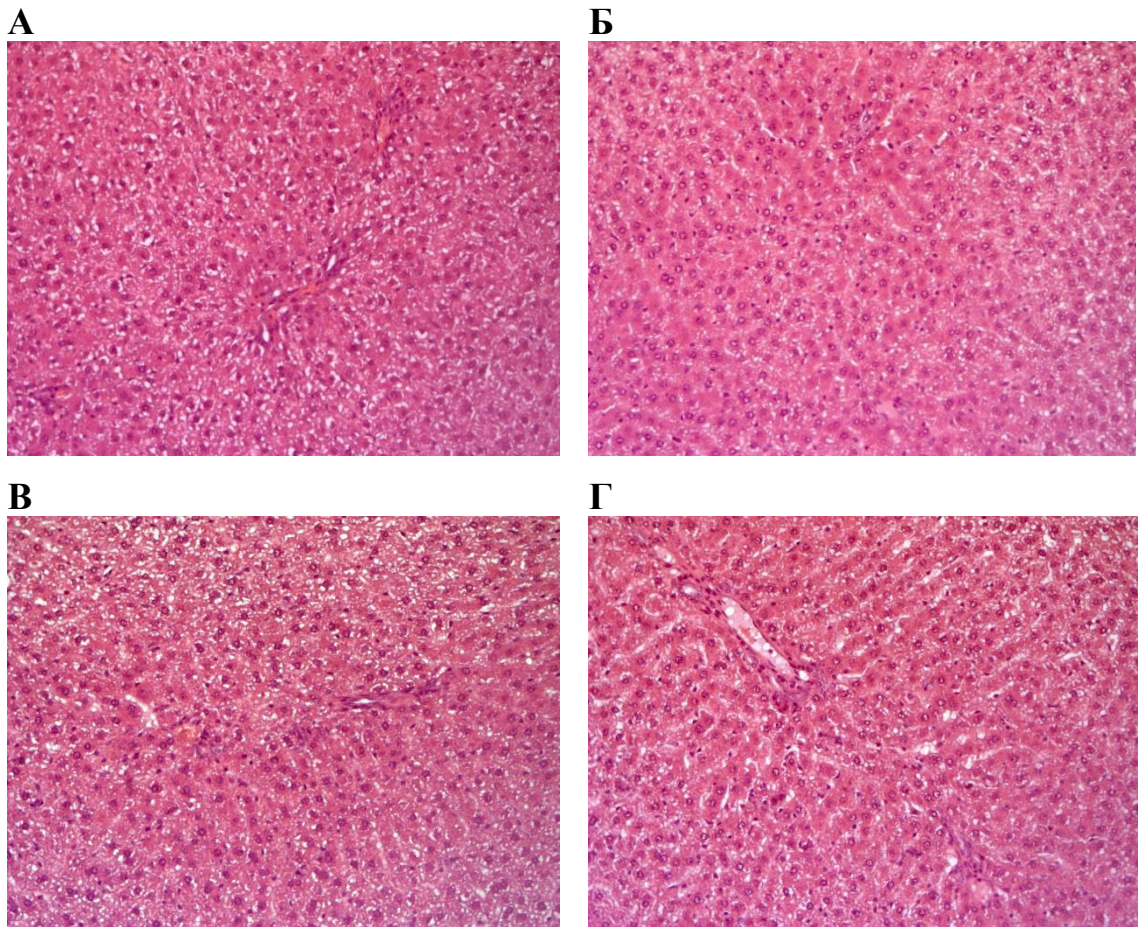


Рисунок 28 – Гистологическая картина печени самок крыс сток Вистар (n=8) через 4 недели введения композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы 70:500 мг/кг, экстракта левзеи 70 мг/кг, экстракта шрота клюквы 500 мг/кг. Окраска гематоксилином и эозином, ув. $\times 200$

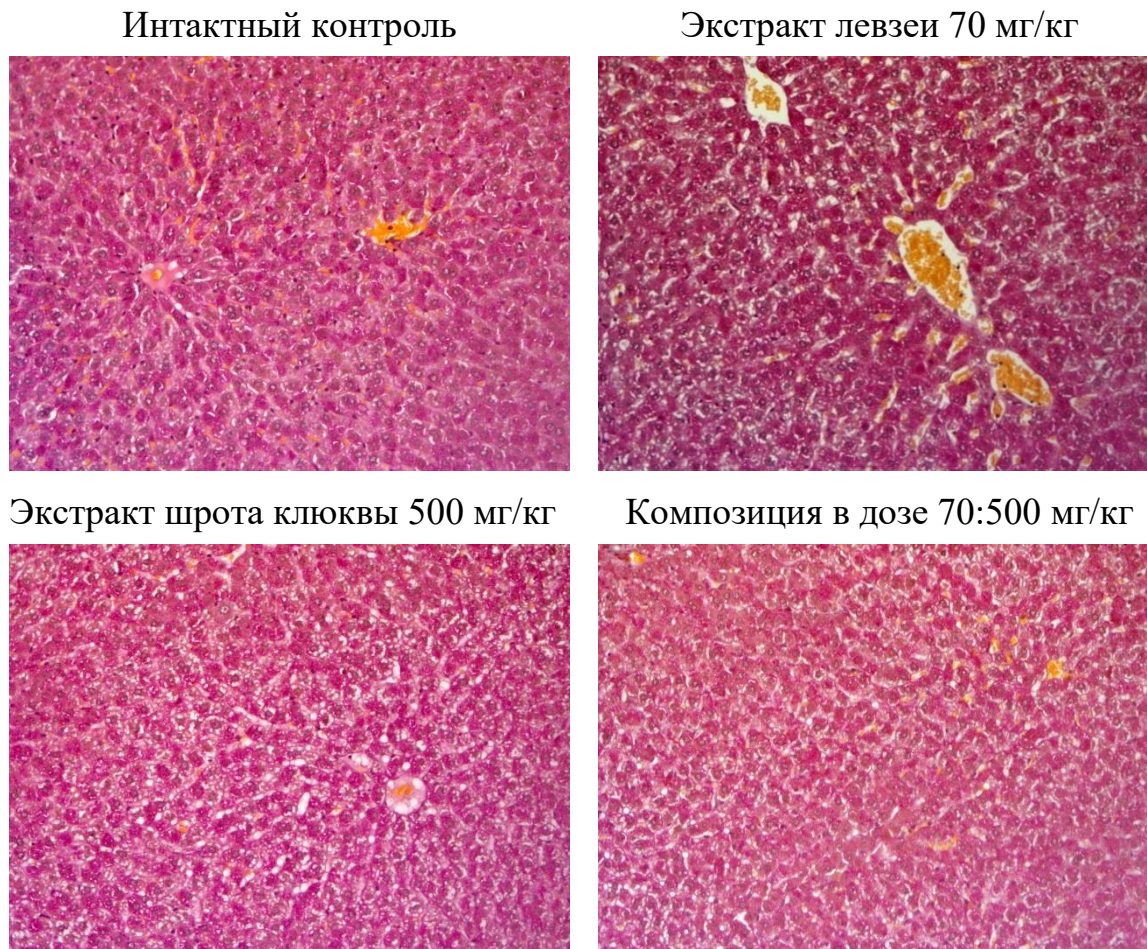


Рисунок 29 – Гистологическая картина печени самок крыс сток Вистар (n=8) через 4 недели введения композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы 70:500 мг/кг, экстракта левзеи 70 мг/кг, экстракта шрота клюквы 500 мг/кг. Окраска ШИК – гематоксилин – оранжевый G, ув. $\times 200$

По результатам гистологического исследования сердца у всех самок крыс наблюдалось умеренно выраженное полнокровие коронарных сосудов и незначительный интерстициальный отек. В кардиомиоцитах хорошо выражена поперечная исчерченность, ядра округлой формы, нормохромные. Признаков дегенеративно-некротических изменений не было выявлено (Рисунок 30).

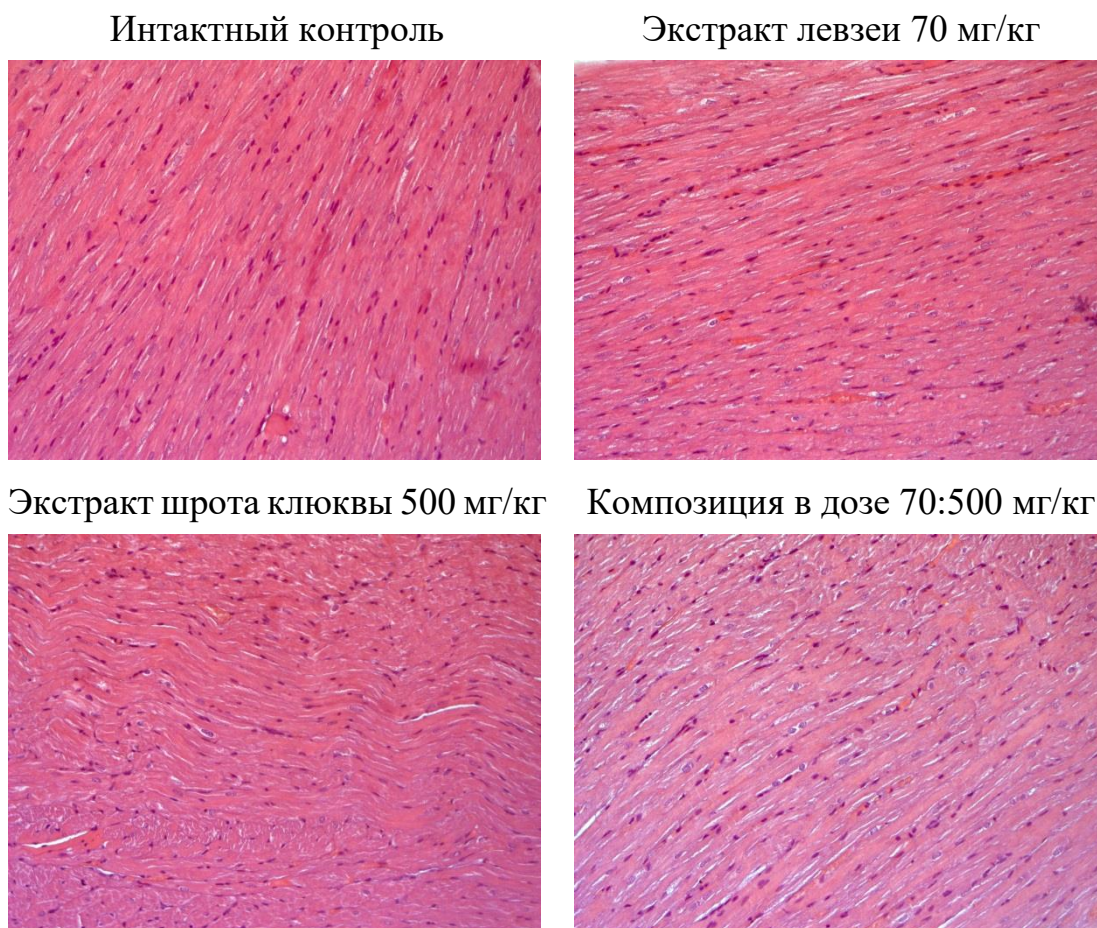


Рисунок 30 – Гистологическая картина сердца самок крыс сток Вистар (n=8) через 4 недели введения композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы 70:500 мг/кг, экстракта левзеи 70 мг/кг, экстракта шрота клюквы 500 мг/кг. Окраска гематоксилином и эозином, ув. $\times 200$

По результатам исследования биохимических показателей сыворотки крови мышей CD-1 обоего пола в исследуемых группах наблюдались достоверные увеличения концентрации общего белка (ОБ) крови (Таблица 8, 9). Композиция в дозе 70:500 мг/кг у самцов CD-1 способствовала достоверному снижению концентрации лактата относительно интактного контроля. У самок CD-1 композиция в дозе 70:500 мг/кг и экстракт шрота клюквы в дозе 500 мг/кг способствовали достоверному снижению концентрации ЛПНП относительно интактного контроля в пределах физиологической нормы.

Таблица 8 – Биохимические показатели сыворотки крови аутбредных самцов мышей CD-1 (n=10) после длительного (4 недели) введения композиции в дозе 70:500 мг/кг, экстракта левзеи 70 мг/кг, экстракта шрота клюквы 500 мг/кг

Показатель	Группа животных			
	Интактный контроль	ЭЛ 70 мг/кг	ЭШК 500 мг/кг	КОМ 70:500 мг/кг
ХОЛ, ммоль/л	3,5 [3,39;3,73]	3,8[3,62;3,82]	3,6[3,55;3,84]	3,6[3,50;3,64]
ТГ, ммоль/л	1,3[1,09;1,49]	1,2[1,18;1,53]	1,3[1,16;1,47]	1,3[1,15;1,40]
ГЛЮ, ммоль/л	6,9[6,83;7,20]	6,7[6,54;6,88]	6,8[6,47;6,91]	6,9[6,73;7,07]
Лактат, ммоль/л	6,0[5,83;6,11]	5,8[5,70;5,89]	5,8[5,46;6,04]	5,8[5,64;5,80]*
ОБ, г/дл	8,8[8,76;8,93]	9,3[9,11;9,46]*	9,0[8,49;9,17]	9,7[9,38;9,37]*
ЛПВП, ммоль/л	0,92[0,90;1,0]	0,95[0,91;0,98]	0,90[0,87;0,93]	0,90[0,81;0,96]
ЛПНП, ммоль/л	1,7[1,63;1,79]	1,7[1,52;1,99]	1,6[1,37;1,64]	1,7[1,33;1,83]
АЛТ, ед/л	24[20,95;33,17]	22[20,95;40,16]	18[17,5;24,4]	19[12,2;31,4]
АСТ, ед/л	42[33,17;45,40]	47[43,65;50,63]	36[34,92;45,40]	40[27,94;54,13]
КК, ед/л	79[73,81;87,78]	72[65,95;86,19]	74[70,16;86,67]	80[66,03;90,79]
ЩФ, ед/л	83[71,68;100,63]	97[69,48;121,31]	122[63,96;130,13]	85[67,27;131,23]
Примечание: * - достоверность различий по отношению к интактному контролю при $p<0,05$. ЭЛ – экстракт левзеи, ЭШК – экстракт шрота клюквы, КОМ – композиция экстрактов левзеи и шрота клюквы. Данные представлены в формате: Me[Q1;Q3].				

Таблица 9 – Биохимические показатели сыворотки крови аутбредных самок мышей CD-1 (n=10) после длительного (4 недели) введения композиции в дозе 70:500 мг/кг, экстракта левзеи 70 мг/кг, экстракта шрота клюквы 500 мг/кг

Показатель	Группа животных			
	Интактный контроль	ЭЛ 70 мг/кг	ЭШК 500 мг/кг	КОМ 70:500 мг/кг
ХОЛ, ммоль/л	3,2[3,17;3,25]	3,2[3,11;3,26]	3,2[3,15;3,25]	3,3[3,19;3,32]
ТГ, ммоль/л	1,2[1,11;1,26]	1,2[1,13;1,31]	1,2[1,19;1,33]	1,5[0,65;1,55]
ГЛЮ, ммоль/л	6,4[6,30;6,56]	6,6[6,42;6,91]	6,6[6,32;6,90]	6,5[6,43;6,60]
Лактат, ммоль/л	4,6[4,42;4,89]	4,7[4,43;5,08]	5,0 [4,14;5,09]	4,5[4,06;5,03]
ОБ, г/дл	8,5[8,42;8,97]	9,5[9,29;9,63]*	9,5[9,28;9,56]*	9,3[9,07;9,56]*
ЛПВП, ммоль/л	0,83[0,80;0,86]	0,87[0,79;0,91]	0,81[0,79;0,84]	0,84[0,78;0,86]
ЛПНП, ммоль/л	1,8[1,75;1,95]	1,8[1,73;1,91]	1,5[1,17;1,65]*	1,7[1,31;1,86]
АЛТ, ед/л	24[20,95;26,19]	23[20,95;27,94]	24[22,70;27,94]	23[22,70;27,94]
АСТ, ед/л	51[41,03;56,75]	44[39,29;46,27]	35[29,68;46,27]	40[31,43;52,38]
КК, ед/л	85[57,46;130,0]	79[64,37;121,75]	74[66,03;88,73]	74[69,76;94,92]
ЩФ, ед/л	79[51,0;90,98]	80[60,65;88,22]	83[68,93;88,22]	80[60,65;88,22]
Примечание: * - достоверность различий по отношению к контролю при $p < 0,05$. ЭЛ – экстракт левзеи, ЭШК – экстракт шрота клюквы, КОМ – композиция экстрактов левзеи и шрота клюквы. Данные представлены в формате: Me[Q1;Q3].				

Введение композиции в дозе 70:500 мг/кг, как и отдельных компонентов композиции не вызывало смертельных исходов, изменения массы тела или развития патологии. Биохимический анализ показал достоверное увеличение концентрации общего белка у мышей CD-1 обоего пола, что может быть косвенным подтверждением наличия анаболического эффекта у композиции. В целом можно заключить, что разработанная композиция не оказывает токсического эффекта на организм животных при длительном введении.

3.6 Исследование влияния композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы на метаболические процессы на фоне диет-индуцированной модели сахарного диабета II типа

Нарушение работы печени является центральным фактором метаболических заболеваний, поскольку она играет ключевую роль в координации системного метаболического гомеостаза, включая детоксикацию ксенобиотиков, выработку гормонов и пищеварительных ферментов, накопление гликозидов и жирорастворимых витаминов и разложение красных кровяных телец (Bergman R.N. et al., 2019). В печени протекают основные процессы углеводного обмена, а именно: поддержание постоянной концентрации глюкозы в крови, осуществляющееся за счёт синтеза и распада гликогена, гликолиза, глюконеогенеза, гликогенолиза и других путей (Titchenell P.M. et al., 2017).

Основными гормонами, регулирующими метаболизм глюкозы, являются инсулин и глюкагон. Данные гормоны вырабатываются в эндокринной секреторной ткани (островках Лангерганса) поджелудочной железы. У людей примерно 40-60% эндокринных клеток представляют собой бета-клетки, продуцирующие инсулин, а остальные - альфа, дельта, панкреатический полипептид и эpsilon-клетки, секретируют глюкагон, соматостатин, панкреатический полипептид и грелин соответственно (Atkinson M.A. et al., 2020).

Поэтому, при нарушении углеводного обмена, который лежит в основе развития сахарного диабета, основными органами-мишенями выступают печень и поджелудочная железа (Inaishi J. et al., 2020; Taylor R. et al., 2019).

Через 6 месяцев после введения в рацион экспериментальных животных высококалорийной диеты, у мышей развилось достоверное нарушение толерантности к глюкозе (Таблица 10).

Таблица 10 – Исходные данные уровня глюкозы крови, показатели глюкозотолерантного теста, представленной в виде площади под гликемической кривой (AUC) у мышей самцов линии C57BL/6J через 6 месяцев нахождения на высококалорийной диете (отрицательный контроль) в сравнении с интактным контролем

	Уровень глюкозы крови, ммоль/л	AUC Ммоль/л/120 мин
Интактный контроль	6,95 [6,8; 7,2]	1170 [1128; 1210,5]
Отрицательный контроль	10,3 [9,7; 11,2]*	1521 [1315,5; 1705,5]*
Примечание: Данные представлены в формате: Me[Q1;Q3]. * – различия статистически значимы по сравнению с интактным контролем при $p < 0,05$.		

Далее животных делили на группы и ежедневно, в течение 4 недель, вводили композицию в дозе 70:500 мг/кг, метформин в дозе 250 мг/кг. Через 4 недели всем животным проводили определение концентрации глюкозы крови в динамике с помощью ОГТТ для изучения скорости утилизации глюкозы тканями. По результатам глюкозотолерантного теста отмечалось характерное для изучаемой патологии нарушение толерантности к глюкозе в группе отрицательного контроля (мышь, получавшие высококалорийную диету и растворитель), композиция в дозе 70:500 мг/кг (Рисунок 31). Препарат метформин способствовал достоверному снижению уровня глюкозы крови на фоне глюкозной нагрузки.

Таким образом, композиция в дозе 70:500 мг/кг не оказывала гипогликемического эффекта на фоне данной экспериментальной модели (диет-индуцированной модели сахарного диабета II типа).

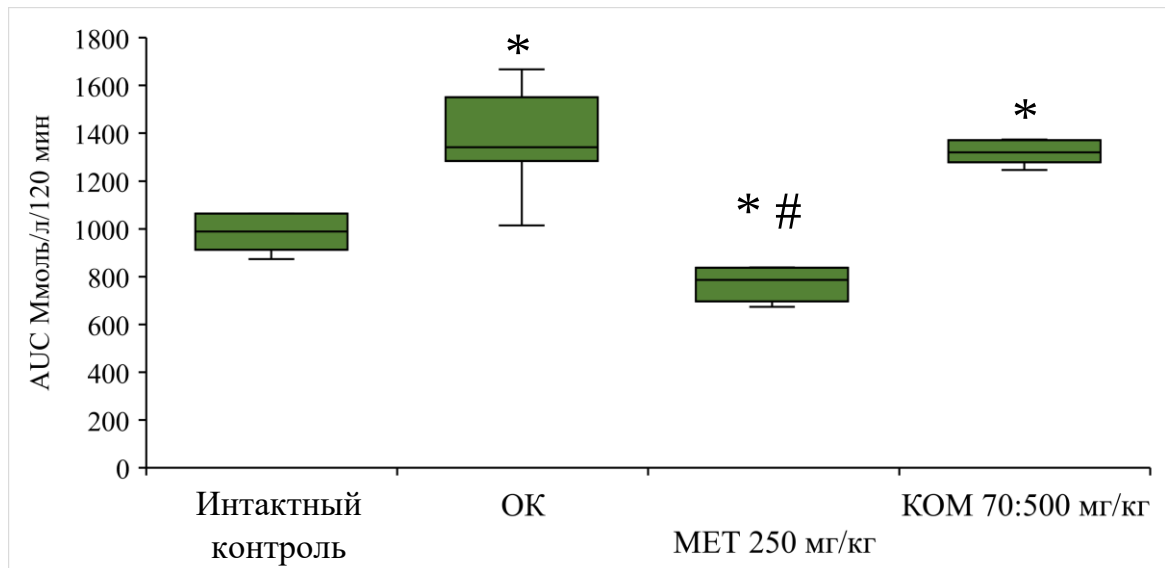


Рисунок 31 – Результаты ОГТТ, представленные в виде площади под гликемической кривой (AUC), через 4 недели введения композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы, метформина на фоне диет-индуцированной модели сахарного диабета II типа, мыши самцы линии C57BL/6J (n=10)

Примечание: ОК – отрицательный контроль, МЕТ – метформин, КОМ – композиция экстрактов левзеи и шрота клюквы. Данные представлены в формате: Me[Q1;Q3]. * – различия статистически значимы по сравнению с интактным контролем при $p < 0,05$; # – статистически значимы по сравнению с отрицательным контролем при $p < 0,05$.

Нарушение толерантности к глюкозе – это состояние, которое рассматривается как предиабет и является ранним фактором риска развития сахарного диабета и метаболического синдрома. Основными характеристиками дислипидемии на фоне сахарного диабета и метаболического синдрома являются снижение уровня ЛПВП и повышение уровня триглицеридов и ЛПНП (Vergès B., 2015). Однако, как было отмечено ранее, существует разница в метаболизме липидов мышей и людей. Таким образом, увеличение концентрации ЛПВП и холестерина для мышей будет являться негативным фактором. По результатам биохимического исследования композиция в дозе 70:500 мг/кг достоверно снижала концентрацию общего холестерина и ЛПВП (Таблица 11). В отношении ТГ, АЛТ и АСТ она проявляла аналогичный эффект метформину, достоверно снижая их концентрацию относительно отрицательного контроля. АЛТ и АСТ в основном используются для оценки повреждения печени, повышение их концентрации может указывать на нарушение метаболической функции печени (Chen S.C. et al.,

2017; Камышников В.С., 2009). Иные биохимические маркеры, отражающие функцию печени (ЛПНП, ЩФ), на фоне введения композиции в дозе 70:500 мг/кг не отличались от таковых у животных отрицательного контроля, что указывает на отсутствие гепатотоксичности. В отношении показателей углеводного обмена (глюкоза, лактат) достоверных различий относительно композиции в дозе 70:500 мг/кг не наблюдалось.

Таблица 11 – Биохимическое исследование сыворотки крови мышей самцов линии C57BL/6J (n=10) через 4 недели введения композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы, метформина на фоне диет-индуцированной модели сахарного диабета II типа

Показатель	Группа животных			
	Интактный контроль	ОК	МЕТ 250 мг/кг	КОМ 70:500 мг/кг
ОХ, ммоль/л	3,03 [2,97;3,14]	3,14 [3,13;3,23]	3,26 [3,11;3,30]	3,07 [3,00;3,08]#
ТГ, ммоль/л	2,08 [2,07;2,18]	2,25 [2,24;2,36]*	2,16 [2,11;2,21]#	2,18 [2,17;2,19]*#
ОБ, г/дл	7,28 [7,25;7,68]	8,29 [7,41;8,77]	8,1 [7,45;8,37]	8,1 [7,83;8,29]*
ЛПВП, ммоль/л	0,73 [0,70;0,73]	0,72 [0,72;0,79]	0,72 [0,71;0,78]	0,70 [0,68;0,70]*#
АЛТ, ед/л	53 [45,68;53,20]	53 [48,06;53,29]	35,8 [30,45;39,06]*#	30,5 [30,45;38,06]*#
АСТ, ед/л	162 [157,30;172,55]	122 [116,73;121,8]*	99 [96,73;103,18]*#	96 [91,9;97,2]*#

Примечание: * - достоверность различий по отношению к интактному контролю при $p < 0,05$. # - достоверность различий по отношению к отрицательному контролю при $p < 0,05$. ОК – отрицательный контроль, МЕТ – метформин, КОМ – композиция экстрактов левзеи и шрота клюквы. Данные представлены в формате: Me[Q1;Q3].

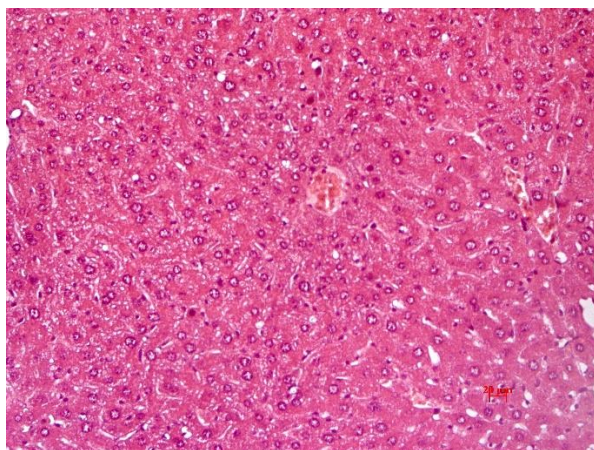
Гистологическое исследование печени, поджелудочной железы мышей в конце эксперимента. В группе интактного контроля у животных архитектура печени сохранена, желчные капилляры, вены и артерии имели типичное строение, признаки патологической инфильтрации, дистрофии в гепатоцитах и фиброзы отсутствовали (Рисунок 32). Купферовские клетки были без признаков повышенной активности.

В группе животных отрицательного контроля выявлены дегенеративно-некротические изменения в печени на фоне венозного полнокровия. У всех животных фиксировались дистрофические изменения в виде мелкоvesикулярной липидной инфильтрации, выявлялись увеличенные в размерах купферовские клетки (Рисунок 32).

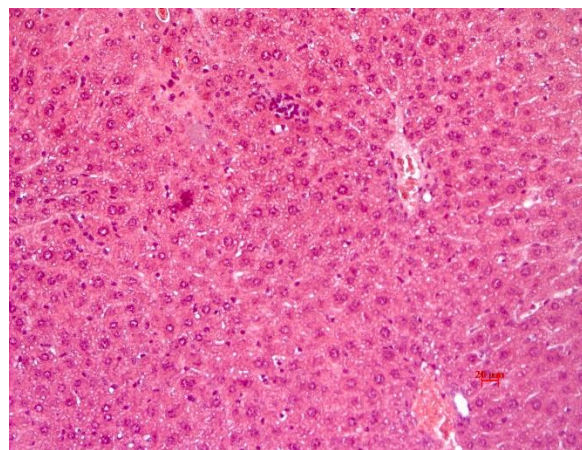
Печень животных положительного контроля (метформин 250 мг/кг) без инфильтративно-некротических изменений (Рисунок 32). В синусоидах определялись купферовские клетки без признаков повышенной активности и мононуклеарные лейкоциты.

В печени животных, получавших композицию в дозе 70:500 мг/кг, были выявлены дегенеративно-некротические изменения, в гепатоцитах наблюдалась мелкоvesикулярная липидная инфильтрация (Рисунок 32). В синусоидах наблюдалось небольшое количество увеличенных в размерах купферовских клеток.

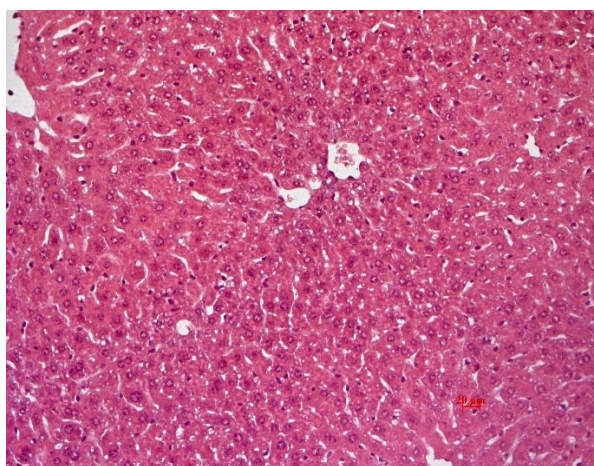
Интактный контроль



Отрицательный контроль



Метформин 250 мг/кг



Композиция в дозе 70:500 мг/кг

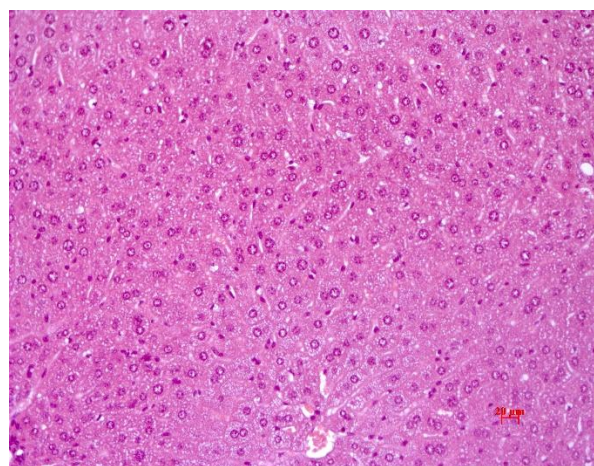


Рисунок 32 – Гистологическая картина печени мышей самцов линии C57BL/6J (n=10) через 4 недели введения композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы 70:500 мг/кг, метформина 250 мг/кг на фоне диет-индуцированной модели сахарного диабета II типа. Окраска гематоксилином и эозином, ув. $\times 200$

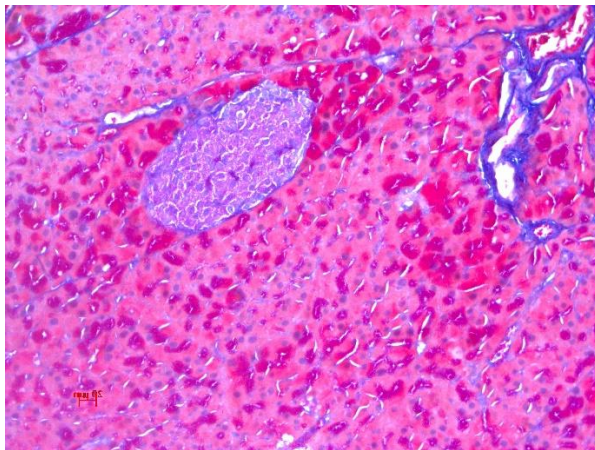
Поджелудочная железа животных группы интактного контроля снаружи покрыта тонкой фиброзной капсулой, которая разделяется на дольки отходящими соединительнотканными перегородками (Рисунок 33). Экзокринный отдел занимает большую часть органа и представляет собой сложную трубчато-альвеолярную железу. Эндокринная часть поджелудочной железы образована островками Лангерганса, которые имеют хорошо развитую сеть кровеносных сосудов, что обеспечивает обильное их кровоснабжение.

В экзокринной части поджелудочной железы животных группы отрицательного контроля выраженных альтеративных изменений (дистрофии,

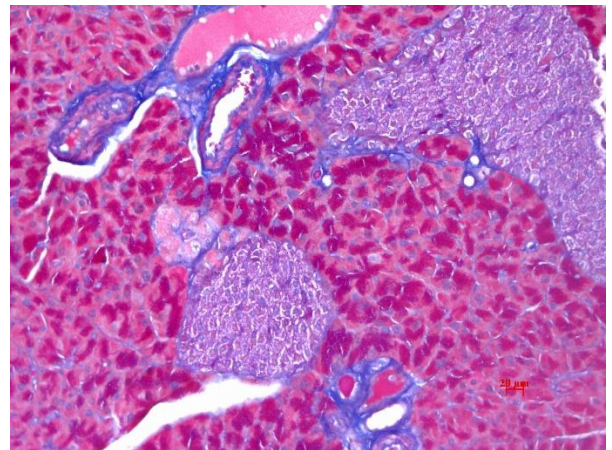
полнокровие) не выявлено. В эндокринной части наблюдалась гиперплазия островкового аппарата. При окраске трехцветным методом по Маллори в центральной части островка у отдельных животных выявлено несколько клеток, имеющих ярко-фиолетовую окраску (Рисунок 33). Это является свидетельством того, что метаболизм углеводов идет по пути глюконеогенеза, что подтверждается полным отсутствием гликогена в печени.

Эндокринная часть поджелудочной железы животных, получавших композицию 70:500 мг/кг, была гипертрофирована, но состояла преимущественно из окрашенных бета-клеток, наполненных инсулином (Рисунок 33).

Интактный контроль



Отрицательный контроль



Композиция в дозе 70:500 мг/кг

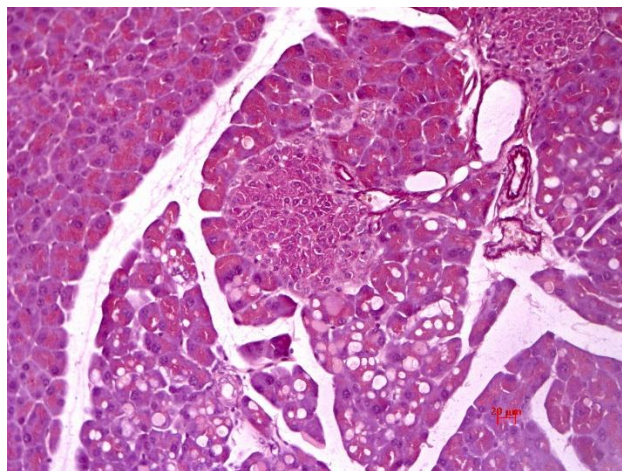


Рисунок 33 – Гистологическая картина поджелудочной железы мышей самцов линии C57BL/6J (n=10) через 4 недели введения композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы 70:500 мг/кг на фоне диет-индуцированной модели сахарного диабета II типа. Окраска трехцветная по Маллори, ув. $\times 200$

Таким образом, введение композиции в дозе 70:500 мг/кг не усугубляло развитие жирового гепатоза в печени и оказывало положительное влияние на биохимические показатели липидного обмена на фоне экспериментального сахарного диабета (диет-индуцированной модели сахарного диабета II типа).

Полученные результаты соотносятся с литературными данными, согласно которым как тритерпеноиды (урсоловая кислота), так и фитоэкдистероиды (экдистен) обладают гепатопротекторными свойствами, способствуя снижению концентрации триглицеридов и холестерина в крови (Nguyen H.N. et al., 2021; Соловьёва А.Г. и др., 2021). Механизмы, лежащие в основе гепатопротекторных свойств урсоловой кислоты не до конца ясны, однако ранее было доказано, что она является агонистом PPAR-а, оказывающим гиполипидемическое действие. Данный тритерпеноид снижает уровень клеточных триглицеридов и холестерина в гепатоцитах, вероятно, за счет увеличения поглощения и окисления жирных кислот и ингибирования синтеза жирных кислот (Jia Y. et al., 2011). В отношении фитоэкдистероидов в ряде экспериментальных исследований было показано, что их гепатопротекторный эффект реализуется за счет усиления липолитической активности триглицероллипазы, ингибирования биосинтеза холестерина (Васильев А.С. и др., 2015; Соловьёва А.Г. и др., 2021).

Фармакологические эффекты в отношении печеночных трансаминаз, а именно снижение концентрации АЛТ, АСТ на фоне введения композиции в дозе 70:500 мг/кг, вероятнее всего связаны с наличием урсоловой кислоты в составе композиции (Sundaresan A. et al., 2014).

3.7 Исследование влияния композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы на перераспределение жировой ткани на генетической модели сахарного диабета II типа

Жировая ткань животных и людей состоит из специализированных клеток, накапливающих жиры — адипоцитов. Существуют 2 основных вида адипоцитов, участвующих в регуляции жирового обмена: белые и бурые (Schulz T.J. et al., 2009).

Белые адипоциты располагаются в подкожных и висцеральных депо, основной функцией которых является депонирование свободных жирных кислот (Romantsova T.I., 2021). Бурые адипоциты в виде небольших скоплений локализованы преимущественно в верхних отделах грудной клетки (Singh R. et al., 2021). В отличие от белых адипоцитов, бурые не выполняют функцию накопления энергии (в виде свободных жирных кислот), а рассеивают ее посредством термогенеза (Frigolet M.E. et al., 2020). У грызунов и младенцев человека преобладающим депо бурой жировой ткани является межлопаточное, у взрослых людей шейно–надключичное (Cypess A.M. et al., 2010). Способность бурых адипоцитов рассеивать энергию опосредована усилением экспрессии трансмембранного белка UCP-1 (uncoupling protein 1, разобщающий белок 1) (Singh R. et al., 2021). UCP-1 является важным элементом пути термогенеза, поскольку этот белок переносит протоны водорода через внутреннюю мембрану в матрикс митохондрий, рассеивая энергию протонного градиента в тепло (таким образом повышается окисление свободных жирных кислот) (Miranda C.S. et al., 2020).

Рецепторы, активируемые пролифератором пероксисом (PPAR), представляют собой семейство факторов транскрипции, которые контролируют экспрессию генов-мишеней, участвующих в регуляции энергетического обмена. PPAR- α является более распространенной изоформой PPAR, который вызывает усиление липидного обмена посредством митохондриального и пероксисомального бета-окисления (Rachid T.L. et al., 2015). Ранние исследования продемонстрировали, что PPAR- α контролирует транскрипцию UCP-1, приводя тем самым к уменьшению массы жировой ткани (Sears I.B. et al., 1996; Villarroya F. et al., 2007).

Согласно имеющимся литературным данным, растительный тритерпеноид урсоловая кислота является агонистом PPAR- α (в экспериментах *in vitro* активировала PPAR- α) (Jia Y. et al., 2011). Вследствие чего, целью данного эксперимента было изучить влияние новой композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы на перераспределение жировой ткани на экспериментальной модели сахарного диабета II типа. В качестве экспериментальных животных использовали

мышей линии C57BL/6^{Ay} с мутацией гена агути, который является естественным антагонистом меланокортиновых рецепторов, экспрессируется в меланоцитах и контролирует окраску шерсти. Доминантная мутация у данных мышей привела к появлению желтой пигментации, позднему ожирению и гиперинсулинемии (Qi Y. et al., 2004; Клёсов Р.А. и др., 2018). Такие метаболические нарушения делают мышей C57BL/6^{Ay} удобной моделью для изучения влияния биологически активных соединений природного и синтетического происхождения на метаболизм липидов.

Для того чтобы доказать наличие у мышей линии C57BL/6^{Ay} сахарного диабета II типа, перед началом эксперимента было проведено исследование уровня глюкозы крови после 12-и часовой депривации корма, проведено измерение массы тела и глюкозотолерантный тест (Таблица 12). Данные представлены в сравнении с мышами линии C57BL/6J, поскольку эта линия широко используется в качестве материала для генерации мутаций: индуцированных и спонтанных, создания трансгенных особей, а также в качестве эталона для сравнения с особенностями других линий.

Таблица 12 – Исходные данные уровня глюкозы крови, показатели глюкозотолерантного теста, представленной в виде площади под гликемической кривой (AUC) и массы тела у мышей самцов линии C57BL/6J и C57BL/6^{Ay} до начала эксперимента

	Уровень глюкозы крови, ммоль/л	AUC Ммоль/л/120 мин	Масса тела, г
линия C57BL/6J	4,7 [4,4; 5,3]	1468,5 [1419; 1581]	43,5 [39,9; 45,8]
линия C57BL/6 ^{Ay}	6,6 [5,6; 8,4]*	1693,5 [1549,5; 1809]*	47,7 [44,3; 49,8]*
Примечание: Данные представлены в формате: Me[Q1;Q3]. * – различия статистически значимы по сравнению с мышами линии C57BL/6J при p<0,05.			

Через 4 недели (28 дней) ежедневного введения исследуемой композиции в дозе 70:500 мг/кг у животных забирали бурый, белый межлопаточный и белый гонадный жир, взвешивали, а затем проводили гистологическое исследование.

На фоне введения композиции в дозе 70:500 мг/кг наблюдалась тенденция к снижению массы межлопаточного белого и бурого жира, однако значимых различий между группами не было установлено (Таблица 13).

Таблица 13 – Результаты масс гонадного и межлопаточного жира (г) мышей самцов линии C57BL/6^{Ay} (n=7)

	Масса бурого межлопаточного жира, г	Масса белого межлопаточного жира, г	Масса гонадного жира, г
Интактный контроль	0,19[0,17;0,19]	1,21[1,2;1,24]	2,51[2,45;2,63]
КОМ 70:500 мг/кг	0,18[0,15;0,19]	1,18[1,17;1,21]	2,39[2,36;2,56]
Примечание: Данные представлены в формате: Me[Q1;Q3].			

Гистологическое исследование печени, белой и бурой жировой ткани мышей в конце эксперимента. В печени мышей C57BL/6^{Ay} интактного контроля наблюдались признаки поражения гепатоцитов в виде дистрофических изменений, которые характеризовались липидной инфильтрацией. В синусоидах встречались активированные купферовские клетки (увеличение их размеров и количества) (Рисунок 34).

У животных, получавших композицию в дозе 70:500 мг/кг наблюдалось уменьшение выраженности дистрофических изменений в печени. В гепатоцитах выявлялась мелковезикулярная липидная инфильтрация (Рисунок 34).

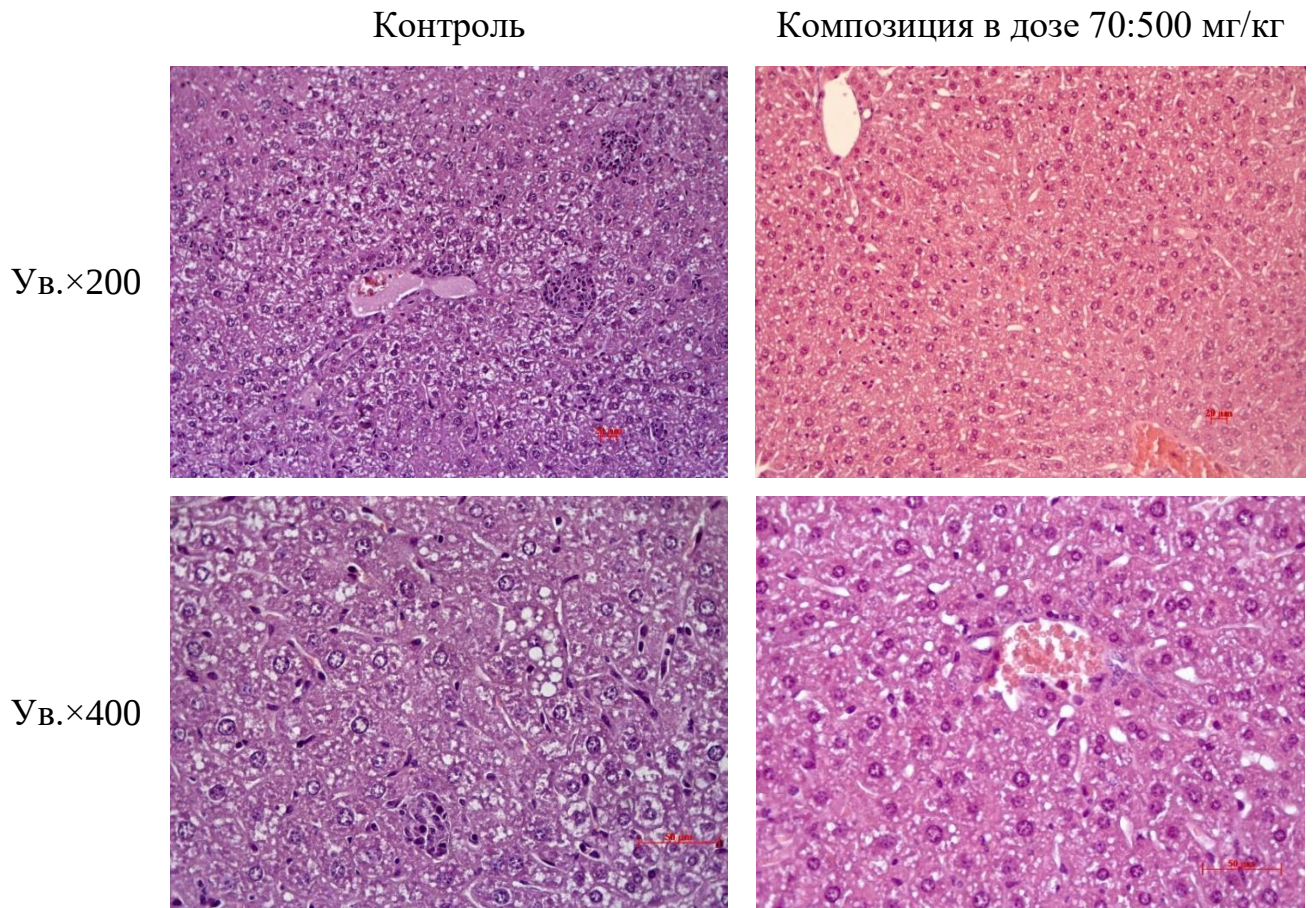


Рисунок 34 – Гистологическая картина печени мышей самцов линии C57BL/6^{Ay} (n=7) через 4 недели введения композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы 70:500 мг/кг на фоне генетической модели сахарного диабета II типа. Окраска гематоксилином и эозином, ув. × 200, 400

Бурая жировая ткань животных интактного контроля состоит из адипоцитов, содержащих большое количество жировых капель различной величины, которые сливаются между собой, приводя к образованию жировых кист. В бурой жировой ткани животных, получавших композицию в дозе 70:500 мг/кг, наблюдались адипоциты, содержащие преимущественно мелкие капли жира (Рисунок 35).

Белая жировая ткань животных интактного контроля была образована скоплениями адипоцитов различного (в большинстве крупного) размера, формирующими полигональные или округлые дольки, разделенные прослойками соединительной ткани. Цитоплазма адипоцитов содержала крупные капли жира в виде вакуолей. Уплотненные ядра адипоцитов были оттеснены к периферии клетки.

В белой жировой ткани животных, получавших композицию в дозе 70:500 мг/кг, отмечалось уменьшение объема жировой ткани в адипоцитах (Рисунок 35). Признаков воспалительных изменений в жировой ткани не выявлено.

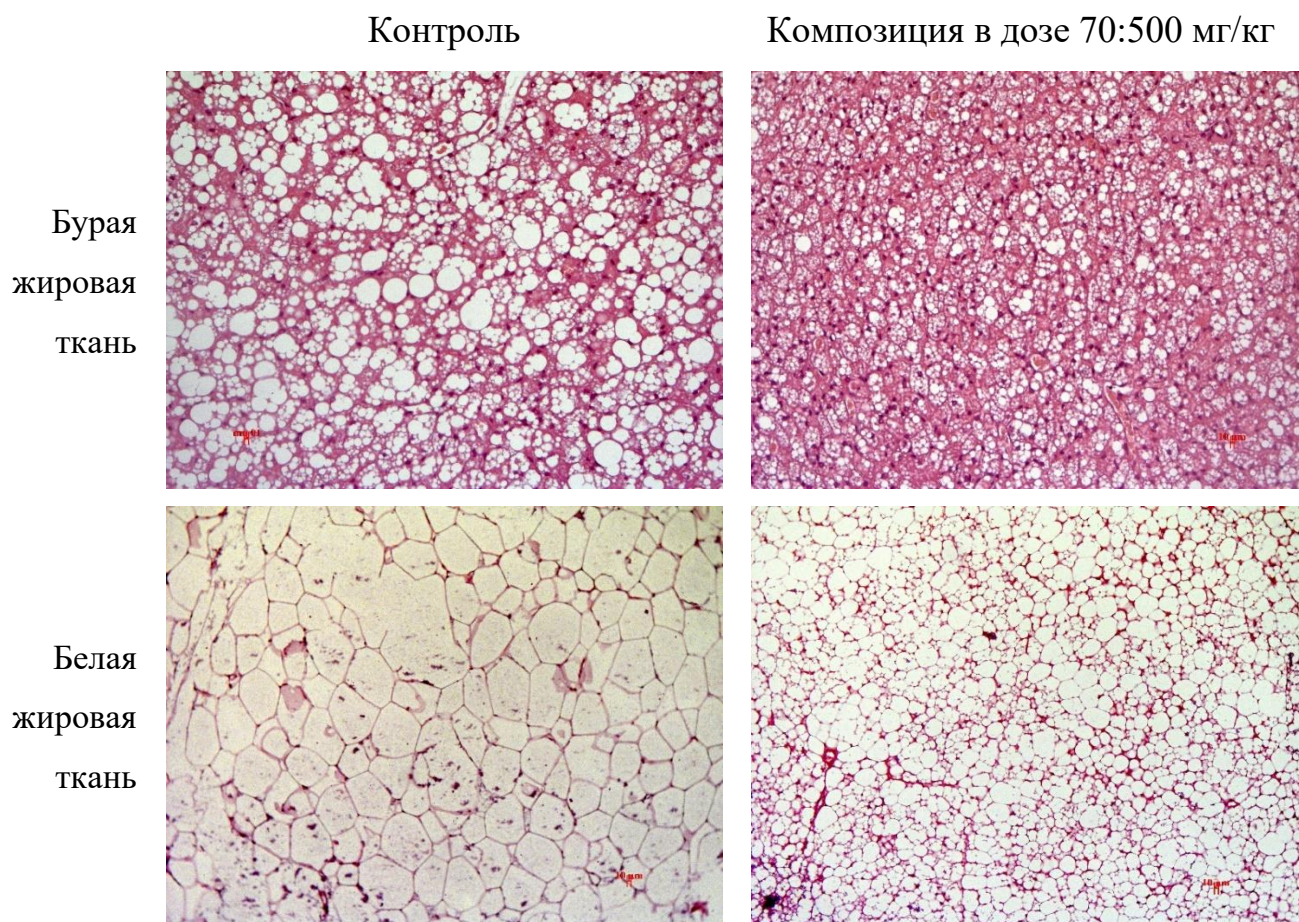


Рисунок 35 – Гистологическая картина бурой и белой жировой ткани мышей самцов линии C57BL/6^{Ay} (n=7) через 4 недели введения композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы 70:500 мг/кг на фоне генетической модели сахарного диабета II типа. Окраска гематоксилином и эозином, ув. × 100

Возникающее в результате избыточного потребления пищи увеличение жировых отложений вызывает гипертрофию и гиперплазию адипоцитов за счёт накопления большого количества липидных капель внутри клеток (Moreno-Indias I. et al., 2015). Таким образом размер адипоцитов отражает уровень висцерального жира в организме. Уменьшение объема бурых адипоцитов на фоне введения композиции в дозе 70:500 мг/кг является положительным эффектом, поскольку

таким образом бурая жировая ткань начинает эффективнее расходовать липидные капли, то есть энергия расходуется эффективнее (Miranda C.S. et al., 2020). Размер адипоцитов белой жировой ткани также уменьшился, что указывает на активацию процессов липолиза (PPAR- α вызывает повышенную экспрессию UCP-1) (Rachid T.L. et al., 2015). Снижение жирового гепатоза печени указывает на ускорение катаболизма триглицеридов, происходящее при активации PPAR- α (Eldor R. et al., 2013).

Несмотря на отсутствие статистически значимой разницы в массе межлопаточного белого и бурого жира, результаты гистологического исследования показали, что длительное введение (4 недели) композиции в дозе 70:500 мг/кг способствует уменьшению размеров адипоцитов белой и бурой жировой ткани, предотвращая тем самым развитие гипертрофического ожирения на проведенной экспериментальной модели. В целом можно предположить, что наблюдаемые эффекты у композиции в дозе 70:500 мг/кг в отношении липидного обмена (метаболизма белых и бурых адипоцитов) связаны с наличием в составе урсоловой кислоты (Jia Y. et al., 2011).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Фитотерапия (травяная медицина) внесла значительный вклад в улучшение здоровья человека благодаря своим оздоровительным, лечебным и реабилитационным свойствам (World Health Organization, 2007). Использование людьми препаратов растительного происхождения при нарушениях обмена веществ является распространенной практикой во всем мире (Devi V. et al., 2010). Многочисленные исследования подтверждают наличие широкого спектра фармакологических свойств лекарственных растений путем изучения биологической активности растительных экстрактов, а также входящих в их состав вторичных метаболитов/фитохимических веществ (Singh Cheema H. et al., 2021).

В данной работе была осуществлена разработка и оценка влияния новой растительной композиции на основе экстрактов левзеи сафлоровидной и шрота клюквы обыкновенной на метаболические показатели.

На первом этапе исследования был проведен скрининг композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы в разных дозах: 170:50 мг/кг, 35:250 мг/кг, 70:500мг/кг. В качестве критерий оценивания использовали оценку динамики массы тела, уровень глюкозы крови, утилизацию глюкозы тканями как без, так и на фоне физической нагрузки. В результате скрининга выявлена эффективная дозировка компонентов в композиции: 70:500 мг/кг, которая проявляла гипогликемический эффект в проведенных экспериментах.

Последующий ход работы был направлен на изучение наличия у разработанной композиции фармакологических свойств, описанных в литературе для индивидуальных действующих веществ (экдистена и урсоловой кислоты). Для исключения влияния сопутствующих биологически активных веществ, входящих в состав экстрактов левзеи и шрота клюквы, в качестве положительного контроля использовали смесь индивидуальных действующих веществ, взятых в эквивалентных дозах (экдистен и урсоловая кислота в дозе 210 мкг/кг:200 мг/кг).

На фоне физической нагрузки (тест «принудительное плавание») было обнаружено наличие у композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы в дозе 70:500 мг/кг адаптогенных свойств, характеризующихся достоверным снижением концентрации лактата и глюкозы как в крови, так и мышцах.

На модели изолированной перегрузки скелетной мышцы голени крыс с операцией тенотомии было установлено наличие анаболического эффекта у композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы в дозе 70:500 мг/кг. По результатам данного эксперимента наблюдалась многократная гипертрофия скелетной мышцы *m.soleus*.

Поскольку основным действующим веществом левзеи сафлоровидной (одного из компонентов композиции) является фитогормон экдистен было проведено исследование влияния однократного введения композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы в дозе 70:500 мг/кг, экстракта левзеи в дозе 70 мг/кг, экстракта шрота клюквы в дозе 500 мг/кг на уровень тестостерона. Наблюдалось статистически значимое повышение уровня тестостерона у самцов мышей в группах экстракт шрота клюквы 500 мг/кг, композиция 70:500 мг/кг. Таким образом, наличие в составе композиции экстракта шрота клюквы обуславливает проявляемые эффекты разработанной композиции в отношении уровня тестостерона.

Неотъемлемым этапом разработки новых биологически активных добавок и других препаратов на растительной основе является изучение их безопасности и переносимости. В связи с этим нами было проведено исследование влияния длительного введения (4 недели) композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы в дозе 70:500 мг/кг на организм экспериментальных животных (крыс, мышей). В качестве критерий оценки использовали динамику массы тела, физиологическое состояние животных, макроскопическое и гистологическое исследование внутренних органов, ЭКГ, биохимические показатели сыворотки крови. По результатам исследования, на фоне четырехнедельного введения композиции, не наблюдалось визуальных признаков интоксикации, гибели животных, а также

токсических эффектов в отношении внутренних органов, биохимических показателей крови.

Последующие эксперименты были проведены на животных с врожденной (генетическая модель сахарного диабета II типа) или приобретенной (диет-индуцированная модель сахарного диабета II типа) патологией. В обоих случаях композиция не усугубляла течение патологических процессов, положительно влияла на показатели липидного обмена и способствовала уменьшению липидных капель в белых и бурых адипоцитах у мышей с генетически обусловленной нарушенной толерантностью к глюкозе, что может предотвращать развитие гипертрофического ожирения.

Таким образом, результаты проведенного исследования позволяют сделать вывод, что разработанная композиция экстрактов левзеи и шрота клюквы может быть перспективна для фармакологической коррекции в комплексной профилактике метаболических нарушений.

В настоящее время композиция экстрактов левзеи и шрота клюквы совместно с ООО «БЭГРИФ» зарегистрирована в качестве пищевой добавки «УРСОФОРС».

ВЫВОДЫ

1. На основании скрининга выявлено, что композиция экстрактов левзеи и шрота клюквы в дозе 70:500 мг/кг (210 мкг/кг экидистена и 200 мг/кг урсоловой кислоты соответственно) проявляет гипогликемическую активность в глюкозотолерантном тесте на фоне и без физической нагрузки.

2. Показано, что разработанная композиция экстрактов левзеи и шрота клюквы в дозе 70:500 мг/кг проявляет адаптогенные свойства на фоне физической нагрузки аналогично смеси индивидуальных действующих веществ (экидистен и урсоловая кислота).

3. Установлено наличие анаболического эффекта у композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы в дозе 70:500 мг/кг на модели изолированной перегрузки скелетной мышцы голени крыс.

4. На фоне однократного введения композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы в дозе 70:500 мг/кг происходит увеличение уровня тестостерона у самцов мышей CD-1, что обусловлено наличием в составе композиции экстракта шрота клюквы.

5. Показано, что длительное введение (4 недели) композиции экстрактов левзеи и шрота клюквы в дозе 70:500 мг/кг не оказывает влияния на биохимические показатели крови, поведение и физиологическое состояние экспериментальных животных (мышей, крыс), а также не оказывает токсического действия на структуру тканей внутренних органов и параметры электрокардиограммы крыс.

6. Выявлено, что композиция экстрактов левзеи и шрота клюквы в дозе 70:500 мг/кг положительно влияет на показатели липидного обмена мышей C57BL/6J на фоне диет-индуцированной модели сахарного диабета II типа. На генетической модели сахарного диабета II типа (C57BL/6^{Ay}) способствует уменьшению размеров адипоцитов белой и бурой жировой ткани, предотвращая развитие гиперτροφического ожирения.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- АДФ – аденозиндифосфат
АЛТ – аланинаминотрансфераза
АСТ – аспартатаминотрансфераза
АТФ – аденозинтрифосфат
АФК – активные формы кислорода
БАД – биологически активная добавка
ГЛЮ – глюкоза
КК – креатинкиназа
ЛПВП – липопротеины высокой плотности
ЛПНП – липопротеины низкой плотности
ОБ – общий белок
ОГТТ – оральный глюкозотолерантный тест
ОХ – общий холестерин
ТГ – триглицериды
ЧСС – частота сердечных сокращений
ШИК – Шифф-йодная кислота
ЩФ – щелочная фосфатаза
ЭКГ – электрокардиограмма
ЭХ – эфиры холестерина
Akt – протеинкиназа В
AUC – площадь под кривой
GLUT4 – нсулинзависимый белок-переносчик глюкозы
IGF-I – инсулиноподобный фактор роста-I
PEPCK – фосфоенолпируваткарбоксилаза
PI3K – фосфатидилинозитол-3-киназа
PPAR- α – активируемый пролифератором пероксисом рецептор альфа

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Анаев, Э.Х. Лактат и легкие: от теории к практике / Э.Х. Анаев // Пульмонология. – 2014. – Т. 6. – С. 108–114.
2. Белая, Ж.Е. Роль физических нагрузок в норме и при сахарном диабете / Ж.Е. Белая, О.М. Смирнова, И.И. Дедов // Проблемы Эндокринологии. – 2005. – Т. 51, № 2. – С. 28–37.
3. Васильев, А.С. Экдистероиды и их биологическая активность / А.С. Васильев, Н.Ю. Абдрашитова (Поломеева), В.В. Удут // Растительные ресурсы. – 2015. – Т. 51, № 2. – С. 229–259.
4. Гаврев, А.И. Актопротекторное действие антигипоксантов тиазолоиндольного ряда / А.И. Гаврев, В.В. Марышева, П.Д. Шабанов // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2010. – Т. 73, № 2. – С. 25–30.
5. Гаджиева, Д.М. Сравнительное изучение анаболизирующей активности апилака и метандростенолона на модели изолированной перегрузки скелетной мышцы голени крыс / Д.М. Гаджиева, В.В. Панюшкин, Р.Д. Сейфулла, З.Г. Орджоникидзе // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2002. – Т. 65, № 1. – С. 56–57.
6. Горячева, М.А. Особенности проведения глюкозотолерантного теста у мелких лабораторных грызунов (мыши и крысы) / М.А. Горячева, М.Н. Макарова // Международный вестник ветеринарии. – 2016. – № 3. – С. 155–159.
7. Государственная фармакопея Российской Федерации XIV издание // Министерство здравоохранения Российской Федерации. – 2018. – Т. 4. – С. 6360–6368.

8. Дюкарев, В.А. Зеленая химия: применение возобновляемых ресурсов в химических процессах (проектный подход) / В.А. Дюкарев, С.А. Кочаров, В.И. Ходырев // Тонкие химические технологии. – 2012. – Т. 7, № 3. – С. 77–89.
9. Ериков, В.М. Биологически активные соединения в тренировочном процессе / В.М. Ериков, А.К. Пунякин. – Рязань, 2008. – 32 с.
10. Ефремов, А.П. Лекарственные растения и грибы средней полосы России. Полный атлас–определитель / А.П. Ефремов. – Фитон XXI, 2021. – 504 с.
11. Камышников, В.С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике / В.С. Камышников. – М.: МЕДпресс-информ, 2009. – 896 с.
12. Каркищенко, В.Н. Методики изучения физиологических функций лабораторных животных для доклинических исследований в спортивной медицине / В.Н. Каркищенко, Ю.В. Фокин, Л.Х. Казакова, О.В. Алимкина, Н.В. Касинская // Биомедицина. – 2012. – № 4. – С. 15–21.
13. Каркищенко, Н.Н. Фармакология процессов адаптации и переносимости предельных нагрузок в спорте и режимах работы «до отказа»: второй тайм для дженериков / Н.Н. Каркищенко // Биомедицина. – 2010. – № 4. – С. 6–23.
14. Клёсов, Р.А. Генетические биомодели метаболического синдрома / Р.А. Клёсов, О.И. Степанова // Биомедицина. – 2018. – № 1. – С. 50–58.
15. Ковалева, М.А. Применение теста «принудительное плавание» при проведении доклинических исследований / М.А. Ковалева, М.Н. Макарова, В.Г. Макаров, М.А. Горячева // Международный вестник ветеринарии. – 2015. – Т. 4. – С. 90–95.
16. Красуцкий, А.Г. Исследование влияния адаптогенов на повышение эффективности тренировочного процесса в фитнес клубах / А.Г. Красуцкий, В.Н. Черемисинов // Актуальные проблемы биохимии и биоэнергетики спорта XXI века. – 2018. – С. 267–282.

17. Курбатова, Т.В. Болезни нарушения обмена веществ, причины и клинические проявления / Т.В. Курбатова // Молодой ученый. – 2019. – Т. 257, № 19. – С. 76–78.

18. Лилли, Р.Д. Патогистологическая техника и практическая гистохимия / Р.Д. Лилли. – М.: Мир, 1969. – 646 с.

19. Лычева, Н.А. Влияние различных видов анестезии на параметры электрокардиограммы у крыс / Н.А. Лычева, М.Н. Макарова, В.Г. Макаров, А.В. Рыбакова // Лабораторные животные для научных исследований. – 2018. – № 2. – С. 16–23.

20. Миронов, А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая / А.Н. Миронов, Н.Д. Бунатян. – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.

21. Пащенко, Л.П. Вторичное растительное сырье – биологически активная составляющая для создания продуктов питания нового поколения / Л.П. Пащенко, В.Л. Пащенко // Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий. – 2012. – Т. 1. – С. 100–106.

22. Соловьёва, А.Г. Физиологические механизмы действия и перспективы применения фитоэкдистероидов в медико-биологических технологиях / А.Г. Соловьёва, К.Т. Еримбетов, О.В. Обвинцева, А.В. Федорова, В.В. Михайлов // Проблемы биологии продуктивных животных. – 2021. – № 1. – С. 26–40.

23. Тимофеев, Н.П. Фитоэкдистероиды: Фармакологическое использование и активность (Обзор) / Н.П. Тимофеев // Медицинские науки. – 2005. – № 4. – С. 26–66.

24. Филонов, А.В. Современное состояние и перспективные направления использования вторичных материальных ресурсов пищевой промышленности / А.В. Филонов, М.А. Крампит, В.О. Романенко // Фундаментальные исследования. – 2017. – Т. 5. – С. 215–219.

25. Abu-Odeh A.M. Middle East Medicinal Plants in the Treatment of Diabetes: A Review / A.M. Abu-Odeh, W.H. Talib // *Molecules*. – 2021. – Vol. 26, № 3. – P. 742.
26. Andersen C.J. Impact of Obesity and Metabolic Syndrome on Immunity / C.J. Andersen, K.E. Murphy, M.L. Fernandez // *Advances in Nutrition*. – 2016. – Vol. 7, № 1. – P. 66.
27. Arif, Y. Phytoecdysteroids: Distribution, Structural Diversity, Biosynthesis, Activity, and Crosstalk with Phytohormones / Y. Arif, P. Singh, A. Bajguz, S. Hayat // *Int J Mol Sci*. – 2022. – Vol. 23, № 15. – P. 8664.
28. Armendáriz-Barragán, B. Plant extracts: from encapsulation to application / B. Armendáriz-Barragán, N. Zafar, W. Badri, S.A. Galindo-Rodríguez, D. Kabbaj, H. Fessi, A. Elaissari // *Expert Opin Drug Deliv*. – 2016. – Vol. 13, № 8. – P. 1165–1175.
29. Atkinson, M.A. Organisation of the human pancreas in health and in diabetes / M.A. Atkinson, M. Campbell-Thompson, I. Kusmartseva, K.H. Kaestner // *Diabetologia*. – 2020. – Vol. 63, № 10. – P. 1966–1973.
30. Azevedo, M.F. Ursolic acid and luteolin-7-glucoside improve lipid profiles and increase liver glycogen content through glycogen synthase kinase-3 / M.F. Azevedo, C. Camsari, C.M. Sá, C.F. Lima, M. Fernandes-Ferreira, C. Pereira-Wilson // *Phytother Res*. – 2010. – Vol. 24, № 2. – P. S220–S224.
31. Baak, M.A.Van. Physical activity and energy balance / M.A.Van Baak // *Public Health Nutr*. – 1999. – Vol. 2, № 3A. – P. 335–339.
32. Bang, H.S. Ursolic Acid-induced elevation of serum irisin augments muscle strength during resistance training in men / H.S. Bang, D.Y. Seo, Y.M. Chung, K.M. Oh, J.J. Park, F. Arturo, S.H. Jeong, N. Kim, J. Han // *Korean J Physiol Pharmacol*. – 2014. – Vol. 18, № 5. – P. 441–446.
33. Bangsbo, J. Lactate production contributes to development of fatigue during intense exercise in humans / J. Bangsbo, M. Hostrup // *Ugeskr Laeger*. – 2019. – Vol. 181, № 8. – P. V10180669.

34. Bathori, M. Phytoecdysteroids and Anabolic-Androgenic Steroids-Structure and Effects on Humans / M. Báthori, N. Tóth, A. Hunyadi, A. Márki, E. Zádor // *Current Medicinal Chemistry*. – 2008. – Vol. 15. – P. 75–91.

35. Bathori, M. Phytoecdysteroids--from isolation to their effects on humans / M. Bathori, Z. Pongracz // *Curr Med Chem*. – 2005. – Vol. 12, № 2. – P. 153–172.

36. Beneke, R. Modeling the blood lactate kinetics at maximal short-term exercise conditions in children, adolescents, and adults / R. Beneke, M. Hütler, M. Jung, R.M. Leithäuser // *J Appl Physiol*. – 2005. – Vol. 99, № 2. – P. 499–504.

37. Bergman, R.N. Novel aspects of the role of the liver in carbohydrate metabolism / R.N. Bergman, F. Piccinini, M. Kabir, M. Ader // *Metabolism: clinical and experimental*. – 2019. – Vol. 99. – P. 119–125.

38. Biskup, E. Composition and biological activity of *Rhaponticum carthamoides* extracts obtained from plants collected in Poland and Russia / E. Biskup, B. Szyklarz, M. Golebiowski, K. Borsuk, P. Stepnowski, E. Lojkowska // *Journal of Medicinal Plants Research*. – 2013. – Vol. 7, № 11. – P. 687–695.

39. Biskup, E. Evaluation of biological activities of *Rhaponticum carthamoides* extracts / E. Biskup, E. Lojkowska // *J. Med. Plants Res*. – 2010. – Vol. 3, № 12. – P. 1092–1098.

40. Blumberg, J.B. Cranberries and Their Bioactive Constituents in Human Health / J.B. Blumberg, T.A. Camesano, A. Cassidy, P. Kris-Etherton, A. Howell, C. Manach, L.M. Ostertag, H. Sies, A. Skulas-Ray, J.A. Vita // *Advances in Nutrition*. – 2013. – Vol. 4, № 6. – P. 618–632.

41. Bouyahya, A. Ethnomedicinal use, phytochemistry, pharmacology, and toxicology of *Ajuga iva* (L.) schreb / A. Bouyahya, N. El Omari, N. Elmenyiy, F.E. Guaouguaou, A. Balahbib, M. El-Shazly, I. Chamkhi // *J Ethnopharmacol*. – 2020. – Vol. 258. – P. 112875.

42. Brown P.N. Comparisons of large (*Vaccinium macrocarpon* Ait.) and small (*Vaccinium oxycoccos* L., *Vaccinium vitis-idaea* L.) cranberry in British Columbia by phytochemical determination, antioxidant potential, and metabolomic profiling with chemometric analysis / P.N. Brown, C.E. Turi, P.R. Shipley et al. // *Planta Med.* – 2012. – Vol. 78, № 6. – P. 630–640.

43. Bryant, N.J. Regulated transport of the glucose transporter GLUT4 / N.J. Bryant, R. Govers, D.E. James // *Nat Rev Mol Cell Biol.* – 2002. – Vol. 3, № 4. – P. 267–277.

44. Buchholz, T. Medicinal Plants Traditionally Used for Treatment of Obesity and Diabetes Mellitus – Screening for Pancreatic Lipase and α -Amylase Inhibition / T. Buchholz, M.F. Melzig // *Phytotherapy Research.* – 2016. – Vol. 30, № 2. – P. 260–266.

45. Buděšínský, M. Additional minor ecdysteroid components of *Leuzea carthamoides* / M. Budesínský, K. Vokác, J. Harmatha, J. Cvacka // *Steroids.* – 2008. – Vol. 73, № 5. – P. 502–514.

46. Bujor, O.C. Phenolic Antioxidants in Aerial Parts of Wild *Vaccinium* Species: Towards Pharmaceutical and Biological Properties / O.C. Bujor, C. Tanase, M.E. Popa // *Antioxidants (Basel).* – 2019. – Vol. 8, № 12. – P. 649.

47. Buniam, J. 20-Hydroxyecdysone ameliorates metabolic and cardiovascular dysfunction in high-fat-high-fructose-fed ovariectomized rats / J. Buniam, N. Chukijrungsri, Y. Rattanavichit, J. Surapongchai, J. Weerachayaphorn, T. Bupha-Intr, V. Saengsirisuwan // *BMC Complement Med Ther.* – 2020. – Vol. 20, № 1. – P. 140.

48. Cahlíková, L. Ecdysterone and its Activity on some Degenerative Diseases / L. Cahlíková, K. Macáková, J. Chlebek, A. Hostálková, A. Kulhánková, L. Opletal // *Natural product communications.* – 2011. – Vol. 6, № 5. – P. 707–718.

49. Cargnin, S.T. Ursolic acid from apple pomace and traditional plants: A valuable triterpenoid with functional properties / S.T. Cargnin, S.B. Gnoatto // *Food Chem.* – 2017. – Vol. 220. – P. 477–489.

50. Celec, P. On the effects of testosterone on brain behavioral functions / P. Celec, D. Ostatníková, J. Hodosy // *Front Neurosci.* – 2015. – Vol. 9. – P. 12.

51. Cesoniene, L. Investigations of anthocyanins, organic acids, and sugars show great variability in nutritional and medicinal value of European cranberry (*Vaccinium oxycoccos*) fruit Breeding system evolution in *Polemonium caeruleum* View project Urban pollinators View project / L. Cesoniene, I. Jasutiene, I. Miliauskienė // Article in *Journal of Applied Botany and Food Quality.* – 2015. – Vol. 88. – P. 295–299.

52. Cesoniene, L. Phenolics and anthocyanins in berries of European cranberry and their antimicrobial activity / L. Cesoniene, I. Jasutiene, A. Sarkinas // *Medicina (Kaunas).* – 2009. – Vol. 45, № 12. – P. 992–999.

53. Checker, R. Potent anti-inflammatory activity of ursolic acid, a triterpenoid antioxidant, is mediated through suppression of NF- κ B, AP-1 and NF-AT / R. Checker, S.K. Sandur, D. Sharma, R.S. Patwardhan, S. Jayakumar, V. Kohli, G. Sethi, B.B. Aggarwal, K.B. Sainis // *PLoS One.* – 2012. – Vol. 7, № 2. – P. e31318.

54. Chen, L. β -ecdysterone from *Cyanotis arachnoidea* exerts hypoglycemic effects through activating IRS-1/Akt/GLUT4 and IRS-1/Akt/GLUT2 signal pathways in KK-Ay mice / L. Chen, S. Zheng, M. Huang, X. Ma, J. Yang, S. Deng, Y. Huang, Y. Wen, X. Yang // *J Funct Foods.* – 2017. – Vol. 39. – P. 123–132.

55. Chen, Q. Effect of ecdysterone on glucose metabolism in vitro / Q. Chen, Y. Xia, Z. Qiu // *Life Sci.* – 2006. – Vol. 78, № 10. – P. 1108–1113.

56. Chen, S.C. Liver Fat, Hepatic Enzymes, Alkaline Phosphatase and the Risk of Incident Type 2 Diabetes: A Prospective Study of 132,377 Adults / S.C. Chen, S.P. Tsai, J.Y. Jhao, W.K. Jiang, C.K. Tsao, L.Y. Chang // *Sci Rep.* – 2017. – Vol. 7, № 1. – P. 4649.

57. Chiocchio, I. Plant Secondary Metabolites: An Opportunity for Circular Economy / I. Chiocchio, M. Mandrone, P. Tomasi // *Molecules.* – 2021. – Vol. 26, № 2. – P. 495.

58. Choo, V.L. Food sources of fructose-containing sugars and glycaemic control: systematic review and meta-analysis of controlled intervention studies / V.L. Choo, E. Vigiouliouk, S. Blanco Mejia, A.I. Cozma, T.A. Khan, V. Ha, T.M.S. Wolever, L.A. Leiter, V. Vuksan, C.W.C. Kendall, R.J. de Souza, D.J.A. Jenkins, J.L. Sievenpiper // *BMJ*. – 2018. – Vol. 363. – P. 4644.
59. Christianson, D.W. Structural and Chemical Biology of Terpenoid Cyclases / D.W. Christianson // *Chem Rev*. – 2017. – Vol. 117, № 17. – P. 11570–11648.
60. Chudzik, M. Triterpenes as potentially cytotoxic compounds / M. Chudzik, I. Korzonek-Szlacheta, W. Król // *Molecules*. – 2015. – Vol. 20, № 1. – P. 1610–1625.
61. Chu, X. Ursolic acid increases energy expenditure through enhancing free fatty acid uptake and β -oxidation via an UCP3/AMPK-dependent pathway in skeletal muscle / X. Chu, X. He, Z. Shi, C. Li, F. Guo, S. Li, Y. Li, L. Na, C. Sun // *Mol Nutr Food Res*. – 2015. – Vol. 59, № 8. – P. 1491–1503.
62. Codella, R. Sugars, exercise and health / R. Codella, I. Terruzzi, L. Luzi // *J Affect Disord*. – 2017. – Vol. 224. – P. 76–86.
63. Cox-Georgian, D. Therapeutic and medicinal uses of terpenes / D. Cox-Georgian, N. Ramadoss, C. Dona, C. Basu // *Medicinal Plants: From Farm to Pharmacy*. – 2019. – P. 333–359.
64. Cummings, N.E. Restoration of metabolic health by decreased consumption of branched-chain amino acids / N.E. Cummings, E.M. Williams, I. Kasza, E.N. Konon, M.D. Schaid, B.A. Schmidt, C. Poudel, D.S. Sherman // *J Physiol*. – 2018. – Vol. 596, № 4. – P. 623–645.
65. Cypess, A.M. Brown fat as a therapy for obesity and diabetes / A.M. Cypess, C.R. Kahn // *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. – 2010. – Vol. 17, № 2. – P. 143–149.
66. Das, N. The phytochemical, biological, and medicinal attributes of phytoecdysteroids: An updated review / N. Das, S.K. Mishra, A. Bishayee, E.S. Ali, A. Bishayee // *Acta Pharm Sin B*. – 2021. – Vol. 11, № 7. – P. 1740–1766.

67. Derkach, K.V. Metabolic parameters and functional state of hypothalamic signaling systems in AY/a mice with genetic predisposition to obesity and the effect of metformin / K.V. Derkach, I.O. Zakharova, I.V. Romanova, I.I. Zorina, A.L. Mikhrina, A.O. Shpakov // *Dokl Biochem Biophys.* – 2017. – Vol. 477, № 1. – P. 377–381.

68. Devi, V. Importance of novel drug delivery systems in herbal medicines / V. Devi, N. Jain, K. Valli // *Pharmacogn Rev.* – 2010. – Vol. 4, № 7. – P. 27.

69. Dias, M.C. Plant Flavonoids: Chemical Characteristics and Biological Activity / M.C. Dias, D.C.G.A. Pinto, A.M.S. Silva // *Molecules.* – 2021. – Vol. 26, № 17. – P. 5377.

70. Dinan, L. Phytoecdysteroids: biological aspects / L. Dinan // *Phytochemistry.* – 2001. – Vol. 57, № 3. – P. 325–339.

71. Dinan, L. 20-hydroxyecdysone, from plant extracts to clinical use: Therapeutic potential for the treatment of neuromuscular, cardio-metabolic and respiratory diseases / L. Dinan, W. Dih, S. Veillet, R. Lafont // *Biomedicines.* – 2021. – Vol. 9, № 5. – P. 492.

72. Ebert, S.M. Identification and small molecule inhibition of an activating transcription factor 4 (ATF4)-dependent pathway to age-related skeletal muscle weakness and atrophy / S.M. Ebert, M.C. Dyle, S.A. Bullard, J.M. Dierdorff, D.J. Murry, D.K. Fox, K.S. Bongers, V.A. Lira, D.K. Meyerholz, J.J. Talley, C.M. Adams // *Journal of Biological Chemistry.* – 2015. – Vol. 290, № 42. – P. 25497–25511.

73. Eldor, R. In vivo actions of peroxisome proliferator-activated receptors: glycemic control, insulin sensitivity, and insulin secretion / R. Eldor, R.A. DeFronzo, M. Abdul-Ghani // *Diabetes Care.* – 2013. – Vol. 36 Suppl 2, № 2. – P. S162–S174.

74. Elia, M. Physiological aspects of energy metabolism and gastrointestinal effects of carbohydrates / M. Elia, J.H. Cummings // *Eur J Clin Nutr.* – 2007. – Vol. 61. – P. S40–S74.

75. Fekete, M. Nutrition Strategies Promoting Healthy Aging: From Improvement of Cardiovascular and Brain Health to Prevention of Age-Associated Diseases / M.

Fekete, Z. Szarvas, V. Fazekas-Pongor, A. Feher, T. Csipo, J. Forrai, N. Dosa, A. Peterfi, A. Lehoczki, S. Tarantini, J.T. Varga // *Nutrients*. – 2022. – Vol. 15, № 1. – P. 47.

76. Fiamoncini, J. Enhanced peroxisomal β -oxidation is associated with prevention of obesity and glucose intolerance by fish oil-enriched diets / J. Fiamoncini, N. Turner, S.M. Hirabara, T.M. Salgado, A.C. Marçal, S. Leslie, S.M. da Silva, F.C. Deschamps, J. Luz, G.J. Cooney, R. Curi // *Obesity*. – 2013. – Vol. 21, № 6. – P. 1200–1207.

77. Fiorenza, M. Neuromuscular Fatigue and Metabolism during High-Intensity Intermittent Exercise / M. Fiorenza, M. Hostrup, T.P. Gunnarsson, Y. Shirai, F. Schena, F.M. Iaia, J. Bangsbo // *Med Sci Sports Exerc*. – 2019. – Vol. 51, № 8. – P. 1642–1652.

78. Frigolet, M.E. The colors of adipose tissue / M.E. Frigolet, R. Gutiérrez-Aguilar // *Gac Med Mex*. – 2020. – Vol. 156, № 2. – P. 142–149.

79. Fu, Z. Cranberry Reduces the Risk of Urinary Tract Infection Recurrence in Otherwise Healthy Women: A Systematic Review and Meta-Analysis / Z. Fu, D. Liska, D. Talan, M. Chung // *J Nutr*. – 2017. – Vol. 147, № 12. – P. 2282–2288.

80. Gardana, C. Identification of markers for the authentication of cranberry extract and cranberry-based food supplements / C. Gardana, A. Scialpi, C. Fachechi, P. Simonetti // *Heliyon*. – 2020. – Vol. 6, № 4. – P. e03863.

81. Ghasemi Pirbalouti, A. Ethnobotanical study of medicinal plants used by Kurd tribe in Dehloran and Abadan Districts, Ilam Province, Iran / A. Ghasemi Pirbalouti, M. Momeni, M. Bahmani // *Afr J Tradit Complement Altern Med*. – 2012. – Vol. 10, № 2. – P. 368–385.

82. Giugliano, D. Oxidative Stress and Diabetic Vascular Complications / D. Giugliano, A. Ceriello, G. Paolisso // *Diabetes Care*. – 1996. – Vol. 19, № 3. – P. 257–267.

83. Głazowska, J. Chromatographic separation, determination and identification of ecdysteroids: Focus on Maral root (*Rhaponticum carthamoides*, *Leuzea carthamoides*) /

J. Głazowska, M.M. Kamiński, M. Kamiński // *Journal of Separation Science*. Wiley-VCH Verlag. – 2018. – Vol. 41, № 23. – P. 4304–4314.

84. Glevitzky, I. Statistical analysis of the relationship between antioxidant activity and the structure of flavonoid compounds / I. Glevitzky, G.A. Dumitrel, M. Glevitzky, B. Pasca, P. Otrisal, S. Bungău, G. Cioca, C. Pantiş, M. Popa // *Revista de Chimie*. – 2019. – Vol. 70, № 9. – P. 3103–3107.

85. Gordon, S.M. A comparison of the mouse and human lipoproteome: suitability of the mouse model for studies of human lipoproteins / S.M. Gordon, H. Li, X. Zhu, A.S. Shah, L.J. Lu, W.S. Davidson // *J Proteome Res*. – 2015. – Vol. 14, № 6. – P. 2686–2695.

86. Gorelick-Feldman, J. Phytoecdysteroids increase protein synthesis in skeletal muscle cells / J. Gorelick-Feldman, D. Maclean, N. Ilic, A. Poulev, M.A. Lila, D. Cheng, I. Raskin // *J Agric Food Chem*. – 2008. – Vol. 56, № 10. – P. 3532–3537.

87. Gorelick-Feldman, J. Ecdysteroids Elicit a Rapid Ca^{2+} Flux Leading to Akt Activation and Increased Protein Synthesis in Skeletal Muscle Cells / J. Gorelick-Feldman, W. Cohick, I. Raskin // *Steroids*. – 2010. – Vol. 75, № 10. – P. 632–637.

88. Guilherme, A. Adipocyte dysfunctions linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes / A. Guilherme, J.V. Virbasius, V. Puri, M.P. Czech // *Nat Rev Mol Cell Biol*. – 2008. – Vol. 9, № 5. – P. 367–377.

89. Guttridge, D.C. Signaling pathways weigh in on decisions to make or break skeletal muscle / D.C. Guttridge // *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. – 2004. – Vol. 7, № 4. – P. 443–450.

90. Harris, E.H. Elevated Liver Function Tests in Type 2 Diabetes / E.H. Harris // *Clinical Diabetes*. – 2005. – Vol. 23, № 3. – P. 115–119.

91. Havlik, J. Norsesquiterpene hydrocarbon, chemical composition and antimicrobial activity of *Rhaponticum carthamoides* root essential oil / J. Havlik, M. Budesinsky, P. Kloucek, L. Kokoska, I. Valterova, S. Vasickova, V. Zeleny // *Phytochemistry*. – 2009. – Vol. 70, № 3. – P. 414–418.

92. Hellyer, N.J. Neuregulin-dependent protein synthesis in C2C12 myotubes and rat diaphragm muscle / N.J. Hellyer, C.B. Mantilla, E.W. Park, W.Z. Zhan, G.C. Sieck // *Am J Physiol Cell Physiol.* – 2006. – Vol. 291, № 5. – P. 1056–1061.

93. He, Y. Ursolic acid increases glucose uptake through the PI3K signaling pathway in adipocytes / Y. He, W. Li, Y. Li, S. Zhang, Y. Wang, C. Sun // *PLoS One.* – 2014. – Vol. 9, № 10. – P. e110711.

94. Higgins, M.R. Antioxidants and Exercise Performance: With a Focus on Vitamin E and C Supplementation / M.R. Higgins, A. Izadi, M. Kaviani // *Int J Environ Res Public Health.* – 2020. – Vol. 17, № 22. – P. 1–26.

95. Inaishi, J. Beta-Cell Mass in Obesity and Type 2 Diabetes, and Its Relation to Pancreas Fat: A Mini-Review / J. Inaishi, Y. Saisho // *Nutrients.* – 2020. – Vol. 12, № 12. – P. 3846.

96. Jang, S.M. Ursolic acid enhances the cellular immune system and pancreatic beta-cell function in streptozotocin-induced diabetic mice fed a high-fat diet / S.M. Jang, S.T. Yee, J. Choi, M.S. Choi, G.M. Do, S.M. Jeon, J. Yeo, M.J. Kim, K.I. Seo, M.K. Lee // *Int Immunopharmacol.* – 2009. – Vol. 9, № 1. – P. 113–119.

97. Jayaprakasam, B. Amelioration of obesity and glucose intolerance in high-fat-fed C57BL/6 mice by anthocyanins and ursolic acid in Cornelian cherry (*Cornus mas*) / B. Jayaprakasam, L.K. Olson, R.E. Schutzki, M.H. Tai, M.G. Nair // *J Agric Food Chem.* – 2006. – Vol. 54, № 1. – P. 243–248.

98. Jeong, J.W. Apple Pomace Extract Improves Endurance in Exercise Performance by Increasing Strength and Weight of Skeletal Muscle / J.W. Jeong, J.J. Shim, I.D. Choi, S.H. Kim, J. Ra, H.K. Ku, D.E. Lee, T.Y. Kim, W. Jeung, J.H. Lee, K.W. Lee, C.S. Huh, J.H. Sim, Y.T. Ahn // *J Med Food.* – 2015. – Vol. 18, № 12. – P. 1380–1386.

99. Jia, Y. Ursolic acid is a PPAR- α agonist that regulates hepatic lipid metabolism / Y. Jia, M.J. Bhuiyan, H.J. Jun, Y. Jia, M.J. Bhuiyan, H.J. Jun, J.H. Lee, M.H. Hoang,

H.J. Lee, N. Kim, D. Lee, K.Y. Hwang, B.Y. Hwang, D.W. Choi, S.J. Lee // *Bioorg Med Chem Lett.* – 2011. – Vol. 21, № 19. – P. 5876–5880.

100. Jinhua, W. Ursolic acid: Pharmacokinetics process in vitro and in vivo, a mini review / W. Jinhua // *Arch Pharm (Weinheim).* – 2019. – Vol. 352, № 3. – P. e1800222.

101. Jurikova, T. Bioactive Compounds, Antioxidant Activity, and Biological Effects of European Cranberry (*Vaccinium oxycoccos*) / T. Jurikova, S. Skrovankova, J. Mlcek, S. Balla, L. Snopek // *Molecules.* – 2019. – Vol. 24, № 1. – P. 24.

102. Kang, Y.S. Effects of ursolic acid on muscle mass and bone microstructure in rats with casting-induced muscle atrophy / Y.S. Kang, E.B. Noh, S.H. Kim // *J Exerc Nutrition Biochem.* – 2019. – Vol. 23, № 3. – P. 45–49.

103. Keyser, R.E. Peripheral Fatigue: High-Energy Phosphates and Hydrogen Ions / R.E. Keyser // *PM&R.* – 2010. – Vol. 2, № 5. – P. 347–358.

104. Khwaza, V. Pentacyclic triterpenoids with nitrogen-containing heterocyclic moiety, privileged hybrids in anticancer drug discovery / V. Khwaza, S. Mlala, O.O. Oyedeji, B.A. Aderibigbe // *Molecules.* – 2021. – Vol. 26, № 9. – P. 2401.

105. Kivimäki, A.S. Lingonberry juice improves endothelium-dependent vasodilatation of mesenteric arteries in spontaneously hypertensive rats in a long-term intervention / A.S. Kivimäki, P.I. Ehlers, A.M. Turpeinen, R. Korpela, H. Vapaatalo // *J Funct Foods.* – 2011. – Vol. 3, № 4. – P. 267–274.

106. Kizelsztejn, P. 20-Hydroxyecdysone decreases weight and hyperglycemia in a diet-induced obesity mouse model / P. Kizelsztejn, D. Govorko, S. Komarnytsky, A. Evans, Z. Wang, W.T. Cefalu, I. Raskin // *Am J Physiol Endocrinol Metab.* – 2009. – Vol. 296, № 3. – P. E433–E439.

107. Klavins, L. Gas chromatography-mass spectrometry study of lipids in northern berries / L. Klavins, J. Kviesis, I. Steinberga, L. Klavina, M. Klavins // *Agronomy Research.* – 2016. – Vol. 14, № S2. – P. 1328–1346.

108. Kokoska, L. Chemistry and pharmacology of *Rhaponticum carthamoides*: A review / L. Kokoska, D. Janovska // *Phytochemistry*. – 2009. – Vol. 70, № 7. – P. 842–855.
109. Kolečkar, V. New antioxidant flavonoid isolated from *Leuzea carthamoides* / V. Kolečkar, L. Opletal, K. Macakova, L. Jahodar, D. Jun, J. Kunes, K. Kuca // *J Enzyme Inhib Med Chem*. – 2010. – Vol. 25, № 1. – P. 143–145.
110. Kondo, M. Ursolic acid and its esters: occurrence in cranberries and other *Vaccinium* fruit and effects on matrix metalloproteinase activity in DU145 prostate tumor cells / M. Kondo, S.L. MacKinnon, C.C. Craft, M.D. Matchett, R.A. Hurta, C.C. Neto // *J Sci Food Agric*. – 2011. – Vol. 91, № 5. – P. 789–796.
111. Kornen, N.N. Food and biologically active additives from secondary plant resource / N.N. Kornen, T.V. Pershakova, T.A. Shahray, O.V. Fedoseeva // *Polythematic Online Scientific Journal of Kuban State Agrarian University*. – 2016. – № 121. – P. 1037–1053.
112. Kulbat, K. The role of phenolic compounds in plant resistance / K. Kulbat // *Biotechnology and Food Sciences*. – 2016. – Vol. 80, № 2. – P. 97–108.
113. Kunkel, S.D. mRNA expression signatures of human skeletal muscle atrophy identify a natural compound that increases muscle mass / S.D. Kunkel, M. Suneja, S.M. Ebert, K.S. Bongers, D.K. Fox, S.E. Malmberg, F. Alipour, R.K. Shields, C.M. Adams // *Cell Metab*. – 2011. – Vol. 13, № 6. – P. 627–638.
114. Kunkel, S.D. Ursolic acid increases skeletal muscle and brown fat and decreases diet-induced obesity, glucose intolerance and fatty liver disease / S.D. Kunkel, C.J. Elmore, K.S. Bongers, S.M. Ebert, D.K. Fox, M.C. Dyle, S.A. Bullard, C.M. Adams // *PLoS One*. – 2012. – Vol. 7, № 6. – P. e39332.
115. Lafont, R. 20-Hydroxyecdysone activates the protective arm of the renin angiotensin system via Mas receptor / R. Lafont, M. Serova, B. Didry-Barca, S. Raynal,

L. Guibout, L. Dinan, S. Veillet, M. Latil, W. Dioh, P.J. Dilda // *Journal of molecular endocrinology*. – 2020. – Vol. 68, № 2. P. 77–87.

116. Lafont, R. Practical uses for ecdysteroids in mammals including humans: an update / R. Lafont, L. Dinan // *J Insect Sci.* – 2003. – Vol. 3. – P. 7.

117. Lasselin, J. Chronic Low-Grade Inflammation in Metabolic Disorders: Relevance for Behavioral Symptoms / J. Lasselin, L. Capuron // *Neuroimmunomodulation*. – 2014. – Vol. 21, № 2–3. – P. 95–101.

118. Lee, L.T. Blockade of the epidermal growth factor receptor tyrosine kinase activity by quercetin and luteolin leads to growth inhibition and apoptosis of pancreatic tumor cells / L.T. Lee, Y.T. Huang, J.J. Hwang, P.P. Lee, F.C. Ke, M.P. Nair, C. Kanadaswam, M.T. Lee // *Anticancer Res.* – 2002. – Vol. 22, № 3. – P. 1615–1627.

119. Lee, S.U. Anabolic activity of ursolic acid in bone: Stimulating osteoblast differentiation in vitro and inducing new bone formation in vivo / S.U. Lee, S.J. Park, H.B. Kwak, J. Oh, Y.K. Min, S.H. Kim // *Pharmacol Res.* – 2008. – Vol. 58, № 5–6. – P. 290–296.

120. Lin, M. Insecticidal Triterpenes in Meliaceae: Plant Species, Molecules and Activities: Part I (Aphanamixis-Chukrasia) / M. Lin, S. Yang, J. Huang, L. Zhou // *Int J Mol Sci.* – 2021. – Vol. 22, № 24. – P. 13262.

121. Li, Y. Ursolic acid stimulates lipolysis in primary-cultured rat adipocytes / Y. Li, Z. Kang, S. Li, T. Kong, X. Liu, C. Sun // *Mol Nutr Food Res.* – 2010. – Vol. 54, № 11. – P. 1609–1617.

122. Loon, L.J.C. The effects of increasing exercise intensity on muscle fuel utilisation in humans / L.J.C. Loon, P.L. Greenhaff, D. Constantin-Teodosiu, W.H. Saris, A.J. Wagenmakers // *J Physiol.* – 2001. – Vol. 536, № Pt 1. – P. 295–304.

123. Łotocka, B. Anatomy of the vegetative organs and secretory structures of *Rhaponticum carthamoides* (Asteraceae) / B. Łotocka, A. Geszprych // *Botanical Journal of the Linnean Society*. – 2004. – Vol. 144, № 2. – P. 207–233.

124. Ludwig, D.S. Dietary fat: From foe to friend? / D.S. Ludwig, W.C. Willett, J.S. Volek, M.L. Neuhouser // *Science*. – 2018a. – Vol. 362. – P. 764–770.

125. Ludwig, D.S. Dietary carbohydrates: role of quality and quantity in chronic disease / D.S. Ludwig, F.B. Hu, L. Tappy, J. Brand-Miller // *BMJ*. – 2018b. – Vol. 361. – P. 2340.

126. Lyutikova, M.N. Chemical constituents from wild *Oxycoccus palustris* fruit from north Tyumen oblast / M.N. Lyutikova, Y.P. Turov // *Chem Nat Compd*. – 2011. – Vol. 46, № 6. – P. 848–851.

127. Mabe, A.M. Structural and functional cardiac cholinergic deficits in adult neurturin knockout mice / A.M. Mabe, D.B. Hoover // *Cardiovasc Res*. – 2009. – Vol. 82, № 1. – P. 93–99.

128. Majhi, S. Discovery, Development and Design of Anthocyanins-Inspired Anticancer Agents: A Comprehensive Review / S. Majhi // *Anticancer Agents Med Chem*. – 2022. – Vol. 22, № 19. – P. 3219–3238.

129. Mancha-Ramirez, A.M. Ursolic Acid and Chronic Disease: An Overview of UA's Effects On Prevention and Treatment of Obesity and Cancer / A.M. Mancha-Ramirez, T.J. Slaga // *Adv Exp Med Biol*. – 2016. – Vol. 928. – P. 75–96.

130. Marks, E.P. The action of hormones in insect cell and organ cultures / E.P. Marks // *Gen Comp Endocrinol*. – 1970. – Vol. 15, № 2. – P. 289–302.

131. Martini, F. Fundamentals of anatomy & physiology / F. Martini, W.C. Ober. – Prentice Hall, 2001. – 1101 p.

132. Masoudi, M. Anti-carcinoma activity of *Vaccinium oxycoccos* / M. Masoudi, M. Saiedi // *Pharm. Lett*. – 2017. № 9. – P. 74–79.

133. Mata, F. Carbohydrate Availability and Physical Performance: Physiological Overview and Practical Recommendations / F. Mata, P.L. Valenzuela, J. Gimenez, C. Tur, D. Ferreria, R. Domínguez, A.J. Sanchez-Oliver, J.M. Martínez Sanz // *Nutrients*. – 2019. – Vol. 11, № 5. – P. 1084.

134. Maughan, R. Carbohydrate metabolism / R. Maughan // Surgery (Oxford). Elsevier. – 2009. – Vol. 27, № 1. – P. 6–10.

135. Miranda, C.S. PPAR- α activation counters brown adipose tissue whitening: a comparative study between high-fat– and high-fructose–fed mice / C.S. Miranda, F. Silva-Veiga, F.F. Martins, T.L. Rachid, C.A. Mandarim-De-Lacerda, V. Souza-Mello // Nutrition. – 2020. – Vol. 78. – P. 110791.

136. Mir, S.A. Understanding the role of active components from plant sources in obesity management / S.A. Mir, M.A. Shah, S.Ganai, T. Ahmad, M. Gani // Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences. – 2019. – Vol. 18, № 2. – P. 168–176.

137. Mishra, V. Toxicological evaluations of betulinic acid and ursolic acid; common constituents of Houttuynia cordata used as an anthelmintic by the Naga tribes in North-east India / V. Mishra, A.D. Soren, A.K. Yadav // Future Journal of Pharmaceutical Sciences. – 2021. – Vol. 7, № 1. – P. 1–13.

138. Mlcek, J. Quercetin and Its Anti-Allergic Immune Response / J. Mlcek, T. Jurikova, S. Skrovankova, J. Sochor // Molecules. – 2016. – Vol. 21, № 5. – P. 623.

139. Moreno-Indias, I. Impaired adipose tissue expandability and lipogenic capacities as ones of the main causes of metabolic disorders / I. Moreno-Indias, F.J. Tinahones // J Diabetes Res. – 2015. – Vol. 2015. – P. 970375.

140. Mortimore, G.E. Intracellular Protein Catabolism and its Control During Nutrient Deprivation and Supply / G.E. Mortimore, A.R. Pösö // Annual Reviews. – 2003. – Vol. 7, № 1. – P. 539–568.

141. Muffler, K. Biotransformation of triterpenes / K. Muffler, D.D. Leipold, M. Scheller, C. Haas, J. Steingroewer, T. Bley, H.E. Neuhaus, M.A. Mirata, J. Schrader, R. Ulber // Process Biochemistry. – 2011. – Vol. 46, № 1. – P. 1–15.

142. Mul, J.D. Exercise and Regulation of Carbohydrate Metabolism / J.D. Mul, K.I. Stanford, M.F. Hirshman, L.J. Goodyear // Prog Mol Biol Transl Sci. – 2015. – Vol. 135. – P. 17.

143. Mulukutla, B.C. Regulation of Glucose Metabolism - A Perspective From Cell Bioprocessing / B. C. Mulukutla, A. Yongky, T. Le, D.G. Mashek, W.S. Hu // Trends Biotechnol. – 2016. – Vol. 34, № 8. – P. 638–651.

144. Muñoz-Shugulí, C. Encapsulation of plant extract compounds using cyclodextrin inclusion complexes, liposomes, electrospinning and their combinations for food purposes / C. Muñoz-Shugulí, C.P. Vidal, P. Cantero-López, J. Lopez-Polo // Trends Food Sci Technol. – 2021. – Vol. 108. – P. 177–186.

145. Nabavi, S.F. Role of quercetin as an alternative for obesity treatment: You are what you eat! / S.F. Nabavi, G.L. Russo, M. Daglia, S.M. Nabavi // Food Chem. – 2015. – Vol. 179. – P. 305–310.

146. Narwojsz, A. Fruit Physical Features, Phenolic Compounds Profile and Inhibition Activities of Cranberry Cultivars (*Vaccinium macrocarpon*) Compared to Wild-Grown Cranberry (*Vaccinium oxycoccus*) / A. Narwojsz, M. Tańska, B. Mazur, E.J. Borowska // Plant Foods Hum Nutr. – 2019. – Vol. 74, № 3. – P. 300–306.

147. Negi, P.S. Plant extracts for the control of bacterial growth: Efficacy, stability and safety issues for food application / P.S. Negi // Int J Food Microbiol. – 2012. – Vol. 156, № 1. – P. 7–17.

148. Nemzer, B.V. Cranberry: Chemical Composition, Antioxidant Activity and Impact on Human Health: Overview / B.V. Nemzer, F. Al-Taher, A. Yashin, I. Revelsky, Y. Yashin // Molecules. – 2022. – Vol. 27, № 5. – P. 1503.

149. Neto, C.C. Cranberry and its phytochemicals: a review of in vitro anticancer studies / C.C. Neto // J Nutr. – 2007. – Vol. 137, № 1. – P. 186S–193S.

150. Nguyen, H.N. Ursolic Acid and Related Analogues: Triterpenoids with Broad Health Benefits / H.N. Nguyen, S.L. Ullevig, J.D. Short, L. Wang, Y.J. Ahn, R. Asmis // Antioxidants. – 2021. – Vol. 10, № 8. – P. 1161.

151. Noakes, T.D. Physiological models to understand exercise fatigue and the adaptations that predict or enhance athletic performance / T.D. Noakes // *Scand J Med Sci Sports*. – 2000. – Vol. 10, № 3. – P. 123–145.

152. Oboh, M. Anti-diabetic potential of plant-based pentacyclic triterpene derivatives: Progress made to improve efficacy and bioavailability / M. Oboh, L. Govender, M. Siwela, B.N. Mkhwanazi // *Molecules*. – 2021. – Vol. 26, № 23. – P. 7243.

153. Odriozola, C.P. Reliability of blood lactate as a measure of exercise intensity in different strains of mice during forced treadmill running / S. Lønbro, J.M. Wiggins, T. Wittenborn, P.B. Elming, L. Rice, C. Pampo, J.A. Lee, D.W. Siemann, M.R. Horsman // *PLoS One*. – 2019. – Vol. 14, № 5. – P. e0215584.

154. Ogawa, S. Pharmacology of Ecdysones in Vertebrates / S. Ogawa, N. Nishimoto, H. Matsuda // *Invertebrate Endocrinology and Hormonal Heterophyly*. – 1974. – P. 341–344.

155. Oldfield, E. Terpene biosynthesis: modularity rules / E. Oldfield, F.Y. Lin // *Angew Chem Int Ed Engl*. – 2012. – Vol. 51, № 5. – P. 1124–1137.

156. Parr, M.K. Estrogen receptor beta is involved in skeletal muscle hypertrophy induced by the phytoecdysteroid ecdysterone / M.K. Parr, P. Zhao, O. Haupt, S.T. Ngueu, J. Hengevoss, K.H. Fritzemeier, M. Piechotta, N. Schlörer, P. Muhn, W.Y. Zheng, M.Y. Xie, P. Diel // *Mol Nutr Food Res*. – 2014. – Vol. 58, № 9. – P. 1861–1872.

157. Parmar, S.K. Neuropharmacological effects of triterpenoids / S.K. Parmar, T. Sharma, V. Airao, R. Bhatt, R. Aghara, S. Chavda, S.O. Rabadiya, A.P. Gangwal // *Phytopharmacology*. – 2013. – Vol. 2013, № 2. – P. 354–372.

158. Pucino, V. Lactate at the crossroads of metabolism, inflammation, and autoimmunity / V. Pucino, M. Bombardieri, C. Pitzalis, C. Mauro // *Eur J Immunol*. – 2017. – Vol. 47, № 1. – P. 14–21.

159. Qi, Y. Adiponectin acts in the brain to decrease body weight / Y. Qi, N. Takahashi, S.M. Hileman, H.R. Patel, A.H. Berg, U.B. Pajvani, P.E. Scherer, R.S. Ahima // *Nature Medicine*. – 2004. – Vol. 10, № 5. – P. 524–529.

160. Rachid, T.L. PPAR- α agonist elicits metabolically active brown adipocytes and weight loss in diet-induced obese mice / T.L. Rachid, A. Penna-de-Carvalho, I. Bringhenti, M.B. Aguila, C.A. Mandarim-de-Lacerda, V. Souza-Mello // *Cell Biochem Funct*. – 2015. – Vol. 33, № 4. – P. 249–256.

161. Raghavan, S. Partitioning and inhibition of lipid oxidation in mechanically separated turkey by components of cranberry press cake / S. Raghavan, M.P. Richards // *J Agric Food Chem*. – 2006. – Vol. 54, № 17. – P. 6403–6408.

162. Raubenheimer, D. Integrating nutrients, foods, diets, and appetites with obesity and cardiometabolic health / D. Raubenheimer, A.K. Gosby, S.J. Simpson // *Obesity*. – 2015. – Vol. 23, № 9. – P. 1741–1742.

163. Rauf, A. Antispasmodic Potential of Medicinal Plants: A Comprehensive Review / A. Rauf, M. Akram, P. Semwal // *Oxid Med Cell Longev*. – 2021. – P. 4889719.

164. Reynolds, A. Carbohydrate quality and human health: a series of systematic reviews and meta-analyses / A. Reynolds, J. Mann, J. Cummings, N. Winter, E. Mete, L. Te Morenga // *The Lancet*. – 2019. – Vol. 393, № 10170. – P. 434–445.

165. Romantsova, T.I. Adipose tissue: colors, depots and functions / T.I. Romantsova // *Obe Metab*. – 2021. – Vol. 18, № 3. – P. 282–301.

166. Romijn, J.A. Regulation of endogenous fat and carbohydrate metabolism in relation to exercise intensity and duration / J.A. Romijn, E.F. Coyle, L.S. Sidossis, A. Gastaldelli, J.F. Horowitz, E. Endert, R.R. Wolfe // *Am J Physiol*. – 1993. – Vol. 265, № 3. – P. 380–391.

167. Rose, A.J. Skeletal muscle glucose uptake during exercise: How is it regulated? / A.J. Rose, E.A. Richter // *Physiology*. – 2005. № 4. – P. 260–270.

168. Roumanille, R. Acute and chronic effects of *Rhaponticum carthamoides* and *Rhodiola rosea* extracts supplementation coupled to resistance exercise on muscle protein synthesis and mechanical power in rats / R. Roumanille, B. Vernus, T. Brioche, V. Descosy, C.T. Van Ba, S. Campredon, A.G. Philippe, P. Delobel, C. Bertrand-Gaday, A. Chopard, A. Py, G. Bonnieu, P. Fança-Berthon // *J Int Soc Sports Nutr.* – 2020. – Vol. 17, № 1. – P. 58.

169. Ryan, E.D. The Acute Effects of a Multi-Ingredient Herbal Supplement on Performance Fatigability: A Double-Blind, Randomized, and Placebo-Controlled Trial / E.D. Ryan, G.R. Gerstner, J.A. Mota, E.T. Trexler, H.K. Giuliani, M.N.M. Blue, K.R. Hirsch, A.E. Smith-Ryan // *J Diet Suppl.* – 2021. – Vol. 18, № 5. – P. 507–516.

170. Samsonowicz, M. Enhanced Antioxidant Activity of Ursolic Acid by Complexation with Copper (II): Experimental and Theoretical Study / M. Samsonowicz, M. Kalinowska, K. Gryko // *Materials (Basel).* – 2021. – Vol. 14, № 2. – P. 1–17.

171. Schoeler, M. Dietary lipids, gut microbiota and lipid metabolism / M. Schoeler, R. Caesar // *Rev Endocr Metab Disord.* – 2019. – Vol. 20, № 4. – P. 461–472.

172. Schulz, T.J. Emerging role of bone morphogenetic proteins in adipogenesis and energy metabolism / T.J. Schulz, Y.H. Tseng // *Cytokine Growth Factor Rev.* – 2009. – Vol. 20, № 5–6. – P. 523–531.

173. Sears, I.B. Differentiation-dependent expression of the brown adipocyte uncoupling protein gene: regulation by peroxisome proliferator-activated receptor gamma / I.B. Sears, M.A. MacGinnitie, L.G. Kovacs, R.A. Graves // *Mol Cell Biol.* – 1996. – Vol. 16, № 7. – P. 3410–3419.

174. Sedbare, R. Development and Validation of the UPLC-DAD Methodology for the Detection of Triterpenoids and Phytosterols in Fruit Samples of *Vaccinium macrocarpon* Aiton and *Vaccinium oxycoccos* L. / R. Sedbare, L. Raudone, V. Zvikas, J. Viskelis, M. Liaudanskas, V. Janulis // *Molecules.* – 2022. – Vol. 27, № 14. – P. 4403.

175. Serhani, M.A. ECG Monitoring Systems: Review, Architecture, Processes, and Key Challenges / M.A. Serhani, H. T El Kassabi, H. Ismail, A. Nujum Navaz // *Sensors* (Basel). – 2020. – Vol. 20, № 6. – P. 1796.

176. Shai, L.J. Four pentacyclic triterpenoids with antifungal and antibacterial activity from *Curtisia dentata* (Burm.f) C.A. Sm. leaves / L.J. Shai, L.J. McGaw, M.A. Aderogba, L.K. Mdee, J.N. Eloff // *J Ethnopharmacol.* – 2008. – Vol. 119, № 2. – P. 238–244.

177. Sharma, H. Pentacyclic triterpenes: New tools to fight metabolic syndrome / H. Sharma, P. Kumar, R.R. Deshmukh, A. Bishayee, S. Kumar // *Phytomedicine.* – 2018. – Vol. 50. – P. 166–177.

178. Sidossis, L.S. Glucose plus insulin regulate fat oxidation by controlling the rate of fatty acid entry into the mitochondria / L.S. Sidossis, C.A. Stuart, G.I. Shulman, G.D. Lopaschuk, R.R. Wolfe // *J Clin Invest.* – 1996. – Vol. 98, № 10. – P. 2244–2250.

179. Simioni, C. Oxidative stress: role of physical exercise and antioxidant nutraceuticals in adulthood and aging / C. Simioni, G. Zauli, A.M. Martelli, M. Vitale, G. Sacchetti, A. Gonelli, L.M. Neri // *Oncotarget.* – 2018. – Vol. 9, № 24. – P. 17181–17198.

180. Simonson, M. Protein, amino acids and obesity treatment / M. Simonson, Y. Boirie, C. Guillet // *Rev Endocr Metab Disord.* – 2020. – Vol. 21, № 3. – P. 341.

181. Singh Cheema, H. The Use of Medicinal Plants in Digestive System Related Disorders: A Systematic Review / H. Singh Cheema, M.P. Singh // *Journal of Ayurvedic and Herbal Medicine.* – 2021. – Vol. 3, № 7. – P. 182–187.

182. Singh, R. Human Brown Adipose Tissue and Metabolic Health: Potential for Therapeutic Avenues / R. Singh, A. Barrios, G. Dirakvand, S. Pervin // *Cells.* – 2021. – Vol. 10, № 11. – P. 3030.

183. Skała, E. The Essential Oils of *Rhaponticum carthamoides* Hairy Roots and Roots of Soil-Grown Plants: Chemical Composition and Antimicrobial, Anti-

Inflammatory, and Antioxidant Activities / E. Skała, P. Rijo, C. Garcia // *Oxid Med Cell Longev.* – 2016. – Vol. 2016. – P. 8505384.

184. Skała, E. An efficient plant regeneration from *Rhaponticum carthamoides* transformed roots, enhanced caffeoylquinic acid derivatives production in pRi-transformed plants and their biological activity / E. Skała, L. Picot, M. Bijak, J. Saluk-Bijak, J. Szemraj, A. Kicel, M.A. Olszewska, P. Sitarek // *Ind Crops Prod.* – 2019. – Vol. 129. – P. 327–338.

185. Skiba, A. Phenolic acids of *Rhaponticum carthamoides* / A. Skiba, Z. Węglarz // *Acta Hortic.* – 2004. – Vol. 597. – P. 119–124.

186. Slám, K. Insect hormones in vertebrates: Anabolic effects of 20-hydroxyecdysone in Japanese quail / K. Sláma, K. Koudela, J. Tenora, A. Mathová // *Experientia.* – 1996. – Vol. 52, № 7. – P. 702–706.

187. Slimestad, R. Chemical Profiling and Biological Activity of Extracts from Nine Norwegian Medicinal and Aromatic Plants / R. Slimestad, A. Johny, M.G. Thomsen, C.R. Karlsen, J.T. Rosnes // *Molecules.* – 2022. – Vol. 27, № 21. – P. 7335.

188. Smith, T. Prescribing testosterone and DHEA: The role of androgens in women / T. Smith, P. Batur // *Cleve Clin J Med.* – 2021. – Vol. 88, № 1. – P. 35–43.

189. Solon-Biet, S.M. Branched-chain amino acids impact health and lifespan indirectly via amino acid balance and appetite control / S.M. Solon-Biet, V.C. Cogger, T. Pulpitel, D. Wahl, X. Clark, E. Bagley, G.C. Gregoriou // *Nature Metabolism.* – 2019. – Vol. 1, № 5. – P. 532–545.

190. Son, J. Therapeutic Potential of Ursolic Acid: Comparison with Ursolic Acid / J. Son, S.Y. Lee // *Biomolecules.* – 2020. – Vol. 10, № 11. – P. 1–16.

191. Stark, G. Functional consequences of oxidative membrane damage / G. Stark // *Journal of Membrane Biology.* – 2005. – Vol. 205, № 1. – P. 1–16.

192. Stobnicka, A. Antimicrobial protection of minced pork meat with the use of Swamp Cranberry (*Vaccinium oxycoccos* L.) fruit and pomace extracts / A. Stobnicka, M. Gniewosz // *J Food Sci Technol.* – 2018. – Vol. 55, № 1. – P. 62.
193. Sundaram, R. Ameliorative effect of 20-OH ecdysone on streptozotocin induced oxidative stress and β -cell damage in experimental hyperglycemic rats / R. Sundaram, R. Naresh, P. Shanthi, P. Sachdanandam // *Process Biochemistry.* – 2012. – Vol. 47, № 12. – P. 2072–2080.
194. Sundaresan, A. Effect of ursolic acid and Rosiglitazone combination on hepatic lipid accumulation in high fat diet-fed C57BL/6J mice / A. Sundaresan, T. Radhiga, K.V. Pugalendi // *Eur J Pharmacol.* – 2014. – Vol. 741. – P. 297–303.
195. Sun, Q. Ursolic acid: A systematic review of its pharmacology, toxicity and rethink on its pharmacokinetics based on PK-PD model / Q. Sun, M. He, M. Zhang, S. Zeng, L. Chen, L. Zhou, H. Xu // *Fitoterapia.* – 2020. – Vol. 147. – P. 104735.
196. Surwit, R.S. Diet-Induced Type II Diabetes in C57BL/6J Mice / R.S. Surwit, C.M. Kuhn, C. Cochrane, J.A. McCubbin, M.N. Feinglos // *Diabetes.* – 1988. – Vol. 37, № 9. – P. 1163–1167.
197. Syrov, V.N. Comparative experimental investigation of the anabolic activity of phytoecdysteroids and steranabols / V.N. Syrov // *Pharm Chem J.* – 2000. – Vol. 34, № 4. – P. 193–197.
198. Szakiel, A. Distribution of triterpene acids and their derivatives in organs of cowberry (*Vaccinium vitis-idaea* L.) plant / A. Szakiel, A. Mroczek // *Acta Biochim Pol.* – 2007. – Vol. 54, № 4. – P. 733–740.
199. Tai, M.M. A Mathematical Model for the Determination of Total Area Under Glucose Tolerance and Other Metabolic Curves / M.M. Tai // *Diabetes care.* – 1994. – Vol. 17, № 2. – P. 152–154.

200. Tarkowská, D. Plant ecdysteroids: plant sterols with intriguing distributions, biological effects and relations to plant hormones / D. Tarkowská, M. Strnad // *Planta*. – 2016. – Vol. 244, № 3. – P. 545–555.

201. Taylor, R. Understanding the mechanisms of reversal of type 2 diabetes / R. Taylor, A. Al-Mrabeh, N. Sattar // *Lancet Diabetes Endocrinol*. – 2019. – Vol. 7, № 9. – P. 726–736.

202. Tian, Y. Phenolic compounds extracted by acidic aqueous ethanol from berries and leaves of different berry plants / Y. Tian, J. Liimatainen, A.L. Alanne, A. Lindstedt, P. Liu, J. Sinkkonen, H. Kallio, B. Yang // *Food Chem*. – 2017. – Vol. 220. – P. 266–281.

203. Tikuma, B. Preliminary results of biochemical composition of two cranberry species grown in Latvia / B. Tikuma, M. Liepniece, D. Šterne et al. // *Acta Hortic*. – 2014. – Vol. 1017. – P. 209–214.

204. Timofeev, N.P. *Leuzea carthamoides* DC.: application prospects as pharmpreparations and biologically active components / N.P. Timofeev // *D & A Inc*. – 2006. – P. 105–120.

205. Titchenell, P.M. Unraveling the Regulation of Hepatic Metabolism by Insulin / P.M. Titchenell, M.A. Lazar, M.J. Birnbaum // *Trends Endocrinol Metab*. – 2017. – Vol. 28, № 7. – P. 497–505.

206. Todorova, V. Plant Adaptogens—History and Future Perspectives / V. Todorova, K. Ivanov, C. Delattre, V. Nalbantova, D. Karcheva-Bahchevanska, S. Ivanova // *Nutrients*. – 2021. – Vol. 13, № 8. – P. 2861.

207. Todorova, V. Comparison between the biological active compounds in plants with adaptogenic properties (*Rhaponticum carthamoides*, *lepidium meyenii*, *eleutherococcus senticosus* and *panax ginseng*) / V. Todorova, K. Ivanov, S. Ivanova // *Plants*. – 2022. – Vol. 11, № 1. – P. 64.

208. Tóth, N. 20-Hydroxyecdysone increases fiber size in a muscle-specific fashion in rat / N. Tóth, A. Szabó, P. Kacsala, J. Héger, E. Zádor // *Phytomedicine*. – 2008. – Vol. 15, № 9. – P. 691–698.

209. Tschöp, M. Rodent obesity models: an overview / M. Tschöp, M.L. Heiman // *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. – 2001. – Vol. 109, № 6. – P. 307–319.

210. Tsutsui, H. Importance of Kupffer cells in the development of acute liver injuries in mice / H. Tsutsui, S. Nishiguchi // *Int J Mol Sci*. – 2014. – Vol. 15, № 5. – P. 7711–7730.

211. Uloko, M. The clinical management of testosterone replacement therapy in postmenopausal women with hypoactive sexual desire disorder: a review / M. Uloko, F. Rahman, L.I. Puri, R.S. Rubin // *Int J Impot Res*. – 2022. – Vol. 34, № 7. – P. 635–641.

212. Varga, E. Study of the compounds contained in hungarian-grown *Leuzea carthamoides* DC (Asteraceae), with special regard to the ecdysteroids / E. Varga, K. Szendrei, Z. Hajdu, L. Hornok, G. Csáki // *Herba Hung*. – 1986. – Vol. 25, № 1. – P. 115.

213. Vasileiou, I. Current clinical status on the preventive effects of cranberry consumption against urinary tract infections / I. Vasileiou, A. Katsargyris, S. Theocharis, C. Giaginis // *Nutr Res*. – 2013. – Vol. 33, № 8. – P. 595–607.

214. Veenstra, J.P. Rosemary (*Salvia rosmarinus*): Health-promoting benefits and food preservative properties / J.P. Veenstra, J.J. Johnson // *Int J Nutr*. – 2021. – Vol. 6, № 4. – P. 1.

215. Vergès, B. Pathophysiology of diabetic dyslipidaemia: where are we? / B.Vergès // *Diabetologia*. – 2015. – Vol. 58, № 5. – P. 886–899.

216. Villarroya, F. PPARs in the Control of Uncoupling Proteins Gene Expression / F. Villarroya, R. Iglesias, M. Giralt // *PPAR Res*. – 2007. – Vol. 2007. – P. 74364.

217. Viskelis, P. Anthocyanins, Antioxidative, and Antimicrobial Properties of American Cranberry (*Vaccinium macrocarpon* Ait.) and their Press Cakes / P. Viskelis,

M. Rubinskiene, I. Jasutiene, A. Sarkinas, R. Daubaras, L. Cesoniene // *J Food Sci.* – 2009. – Vol. 74, № 2. – P. C157–C161.

218. Wali, J.A. Macronutrient Determinants of Obesity, Insulin Resistance and Metabolic Health / J.A. Wali, S.M. Solon-Biet, T. Freire, A.E. Brandon // *Biology.* – 2021. – Vol. 10, № 4. – P. 336.

219. Wang, J.J. Phytoecdysteroids from *Ajuga iva* act as potential antidiabetic agent against alloxan-induced diabetic male albino rats / J.J. Wang, H. Jin, S.L. Zheng, P. Xia, Y. Cai, X.J. Ni // *Biomedicine & Pharmacotherapy.* – 2017. – Vol. 96. – P. 480–488.

220. Wang, L. Nanoformulations of Ursolic Acid: A Modern Natural Anticancer Molecule / L. Wang, Q. Yin, C. Liu, Y. Tang, C. Sun, J. Zhuang // *Front Pharmacol.* – 2021. – Vol. 12. – P. 706121.

221. Wang, Y. Nutraceuticals in the prevention and treatment of the muscle atrophy / Y. Wang, Q. Liu, H. Quan, S.G. Kang, K. Huang, T. Tong // *Nutrients.* – 2021. – Vol. 13, № 6. – P. 1914.

222. Wan, S.Z. Ursolic Acid Improves Intestinal Damage and Bacterial Dysbiosis in Liver Fibrosis Mice / S.Z. Wan, C. Liu, C.K. Huang, F.Y. Luo, X. Zhu // *Front Pharmacol.* – 2019. – Vol. 10. – P. 1321.

223. Wierman, M.E. Androgen therapy in women: a reappraisal: an Endocrine Society clinical practice guideline / M.E. Wierman, W. Arlt, R. Basson, S.R. Davis, K.K. Miller, M.H. Murad, W. Rosner, N. Santoro // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2014. – Vol. 99, № 10. – P. 3489–3510.

224. Williams, G. Cranberries for preventing urinary tract infections / G. Williams, D. Hahn, J.H. Stephens, J.C. Craig, E.M. Hodson // *Cochrane Database Syst Rev.* – 2023. – Vol. 4, № 4. – P. CD001321.

225. Wolfe, R.R. Metabolic interactions between glucose and fatty acids in humans / R.R. Wolfe // *Am J Clin Nutr.* – 1998. – Vol. 67, № 3. – P. 519S–526S.

226. World Health Organization. WHO guidelines for assessing quality of herbal medicines with reference to contaminants and residues / edited by Solimene U. Alkofahi A.S. Allemann C. Amigoni M. Aspan R.M. S.B. Azimova, B.C. Bloodworth, G. Caccialanza, A. Caizzi, M. Cheraghali, A. Discalzi, P. Eagles, H. Fong, D. Giachetti, Y. Goda, S. Harris, K. Keller, R. Law, L. Ruichao, E. Minelli, M. Oh, I. Rizzo, D. Roll, S. Serrano, L. Scrabbi, M. Sulaikah, R. Tsang, W. Guorong, P. Wongsinkongman, H. Yusufu, M. Wierer. – Geneva, 2007. – 105 p.

227. Wu, C. Reduction of hepatic glucose production as a therapeutic target in the treatment of diabetes / C. Wu, D.A. Okar, J. Kang, A.J. Lange // *Curr Drug Targets Immune Endocr Metabol Disord*. – 2005. – Vol. 5, № 1. – P. 51–59.

228. Wu, G. Amino Acid Nutrition in Animals: Protein Synthesis and Beyond / G. Wu, F.W. Bazer, Z. Dai, D. Li, J. Wang, Z. Wu // *Annual Review of animal biosciences*. – 2014. – Vol. 2. – P. 387–417.

229. Wu, J.H.Y. Dietary fats and cardiometabolic disease: mechanisms and effects on risk factors and outcomes / J.H.Y. Wu, R. Micha, D. Mozaffarian // *Nature Reviews Cardiology*. – 2019. – Vol. 16, № 10. – P. 581–601.

230. Xia, J.Y. Consumption of cranberry as adjuvant therapy for urinary tract infections in susceptible populations: A systematic review and meta-analysis with trial sequential analysis / J.Y. Xia, C. Yang, D.F. Xu, H. Xia, L.G. Yang, G.J. Sun // *PLoS One*. – 2021. – Vol. 16, № 9. – P. e0256992.

231. Yamauchi, T. Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase / T. Yamauchi, J. Kamon, Y. Minokoshi, Y. Ito, H. Waki, S. Uchida, S. Yamashita, M. Noda, S. Kita, K. Ueki, K. Eto, Y. Akanuma, P. Froguel, F. Foufelle, P. Ferre, D. Carling, S. Kimura, R. Nagai, B.B. Kahn, T. Kadowaki, // *Nat Med*. – 2002. – Vol. 8, № 11. – P. 1288–1295.

232. Yap, Y.W. Restriction of essential amino acids dictates the systemic metabolic response to dietary protein dilution / Y.W. Yap, P.M. Rusu, A.Y. Chan, B.C. Fam, A.

Jungmann, S.M. Solon-Biet, C.K. Barlow, D.J. Creek, C. Huang // *Nature Communications*. – 2020. – Vol. 11, № 1. – P. 1–13.

233. Zhang, W. Ursolic acid and its derivative inhibit protein tyrosine phosphatase 1B, enhancing insulin receptor phosphorylation and stimulating glucose uptake / W. Zhang, D. Hong, Y. Zhou, Y. Zhang, Q. Shen, J.Y. Li, L.H. Hu, J. Li // *Biochim Biophys Acta*. – 2006. – Vol. 1760, № 10. – P. 1505–1512.

234. Zhang, X.P. Chemical constituents of plants from the genus *Rhaponticum* / X.P. Zhang, J. Zhang, M. Dong, M.L. Zhang, C.H. Huo, Q.W. Shi, Y.C. Gu // *Chem Biodivers*. – 2010. – Vol. 7, № 3. – P. 594–609.

235. Zitzmann, M. Testosterone, mood, behaviour and quality of life / M. Zitzmann // *Andrology*. – 2020. – Vol. 8, № 6. – P. 1598–1605.

236. Zurlo, F. Skeletal muscle metabolism is a major determinant of resting energy expenditure / F. Zurlo, K. Larson, C. Bogardus, E. Ravussin // *J Clin Invest*. – 1990. – Vol. 86, № 5. – P. 1423–1427.