



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
A61K 36/8968 (2021.08); A61P 43/00 (2021.08)

(21)(22) Заявка: 2021102432, 02.02.2021

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
02.02.2021

Дата регистрации:
18.03.2022

Приоритет(ы):
(22) Дата подачи заявки: 02.02.2021

(45) Опубликовано: 18.03.2022 Бюл. № 8

Адрес для переписки:
357532, Ставропольский край, г. Пятигорск,
пр. Калинина, 11, Пятигорский медико-
фармацевтический институт - филиал ФГБОУ
ВО ВолгГМУ Минздрава России

(72) Автор(ы):
Поздняков Дмитрий Игоревич (RU),
Воронков Андрей Владиславович (RU),
Оганесян Эдуард Тоникович (RU),
Аджиахметова Симилла Леонтьевна (RU),
Червонная Надежда Михайловна (RU),
Мамлеев Андрей Викторович (RU),
Шерешкова Елизавета Ивановна (RU)

(73) Патентообладатель(и):
Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего
образования "Волгоградский
государственный медицинский университет"
Министерства здравоохранения Российской
Федерации (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: RU 2092170 C1, 10.10.1997. RU
2137496 C1, 20.09.1999. RU 2402343 C1,
27.10.2010. ЛЕУСОВА Н.Ю. и др. Фитохимия
растений омелы (*Viscum L.*) и их лечебные
свойства // Бюллетень физиологии и патологии
дыхания. - 2008. - N. 28. - С. 69-73. CN 107929321
A, 20.04.2018.

(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ СРЕДСТВА
АНТИОКСИДАНТНОГО ДЕЙСТВИЯ, ПОВЫШАЮЩЕГО ФИЗИЧЕСКУЮ РАБОТОСПОСОБНОСТЬ

(57) Реферат:

Изобретение относится к области фармацевтики, а именно к применению низкотоксичного экстракта листьев Омелы белой для увеличения уровня работоспособности в условиях чрезмерных физических нагрузок за счет повышения активности супероксиддисмутазы, каталазы и глутатионпероксидазы, и снижения концентрации малонового диальдегида и диеновых конъюгатов в мышечной ткани.

Применяемый экстракт получен путем экстракции измельченного растительного сырья 40%-ным этиловым спиртом. Изобретение обеспечивает применение эффективного и безопасного лекарственного средства на основе экстракта Омелы белой, повышающего уровень физической работоспособности, обладающего антиоксидантным действием. 1 ил., 1 табл., 4 пр.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.
A61K 36/8968 (2006.01)
A61P 43/00 (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

A61K 36/8968 (2021.08); *A61P 43/00* (2021.08)(21)(22) Application: **2021102432, 02.02.2021**(24) Effective date for property rights:
02.02.2021Registration date:
18.03.2022

Priority:

(22) Date of filing: **02.02.2021**(45) Date of publication: **18.03.2022** Bull. № 8

Mail address:

**357532, Stavropolskij kraj, g. Pyatigorsk, pr.
Kalinina, 11, Pyatigorskij mediko-
farmatsevticheskiy institut - filial FGBOU VO
VolgGMU Minzdrava Rossii**

(72) Inventor(s):

**Pozdnyakov Dmitrij Igorevich (RU),
Voronkov Andrej Vladislavovich (RU),
Oganesyan Eduard Tonikovich (RU),
Adzhiakhmetova Similla Leontevna (RU),
Chervonnaya Nadezhda Mikhajlovna (RU),
Mamleev Andrej Viktorovich (RU),
Shereshkova Elizaveta Ivanovna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Federalnoe gosudarstvennoe byudzhethnoe
obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego
obrazovaniya "Vologradskij gosudarstvennyj
meditsinskij universitet" Ministerstva
zdravookhraneniya Rossijskoj Federatsii (RU)**

(54) **METHOD FOR PRODUCING AND PHARMACOLOGICAL ACTIVITY OF AN ANTIOXIDANT AGENT INCREASING PHYSICAL PERFORMANCE**

(57) Abstract:

FIELD: pharmaceuticals.

SUBSTANCE: invention relates to the field of pharmaceuticals, namely, to an application of a low-toxic extract of common mistletoe leaves for increasing the level of working capacity in conditions of excessive physical loads due to an increase in the activity of superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase, and reduction in the concentration of malonic dialdehyde and diene conjugates in the muscle

tissue. The applied extract is produced by extraction of ground plant-based raw materials with 40% ethyl alcohol.

EFFECT: invention provides an application of an effective and safe medicinal product based on common mistletoe extract, increasing the level of physical working capacity, exhibiting an antioxidant effect.

1 cl, 1 dwg, 1 tbl, 4 ex

В настоящее время стресс является неотъемлемой частью жизни человека. Согласно данным Всемирной организации здравоохранения порядка 70-90% общего числа обращений к медицинским специалистам первичного звена связано с острым стрессом, либо с хроническими заболеваниями, связанными со стрессом [Puri S., Kumar B., Debnath J., et al. Comparative pharmacological evaluation of adaptogenic activity of *Holoptelea integrifolia* and *Withania somnifera*. International Journal of Drug Development and Research. 2011; 3(1): 84-98]. Статистические данные показывают, что стрессовым расстройствам подвержены более 450 млн человек, а к 2020 году их количество может увеличиться на 15% [Adkar PP, Jadhav PP, Ambavade SD, Bhaskar VH, Shelke T. Adaptogenic Activity of Lyophilized Hydroethanol Extract of *Pandanus odoratissimus* in Swiss Albino Mice. Int Sch Res Notices. 2014; 2014:429828. doi:10.1155/2014/429828].

Стресс определяют, как неспецифичное воздействие на организм человека негативного фактора, приводящего к нарушению гомеостаза и дезадаптации, которому противодействует комплекс адаптационных (защитных) механизмов, включающие поведенческие, биохимические, когнитивные и физиологические реакции [Stults-Kolehmainen MA, Sinha R. The effects of stress on physical activity and exercise. Sports Med. 2014; 44(1):81-121. doi:10.1007/s40279-013-0090-5]. К числу основных стрессогенных факторов относят: физические (шум, свет, вибрации), химические и биологические факторы. Последствия действия на человека дезадаптирующего фактора, чаще всего носят негативный характер и проявляются в виде ухудшения физической работоспособности и когнитивной дисфункции [Esimone C.O., Adikwu M.U., Nworu C., Okoye S.C., Odimegwu D.C. Adaptogenic potentials of *Camellia sinensis* leaves, *Garcinia kola* and *Kola nitida* seeds. Scientific Research and Essays. 2007; 2(7):232-237]. Установлено, что стресс лежит в основе ухудшения физического самочувствия человека, что выражается в утрате работоспособности [McEwen BS. Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain. Physiol Rev. 2007; 87(3):873-904]. В итоге у людей, страдающих от действия стрессогенного фактора и сопряженного с ним гиподинамией, отмечается повышенный риск ожирения, сахарного диабета, онкопатологии, заболеваний сердечнососудистой системы, ухудшение иммунного ответа, поведенческие и когнитивные нарушения [Finnell JE, Lombard CM, Padi AR, et al. Physical versus psychological social stress in male rats reveals distinct cardiovascular, inflammatory and behavioral consequences. PLoS One. 2017; 12(2):e0172868. Published 2017 Feb 27. doi:10.1371/journal.pone.0172868]. Как видно, стресс представляет собой серьезную медико-социальную проблему, лечение и профилактика которой является актуальной задачей современной медицины и фармакологии.

Омела белая (*Viscum album* L., Viscaceae) - вечнозеленый полупаразитический кустарник, произрастающий на ветвях различных лиственных деревьев (дуб, яблоня, груша, тополь) [Marvibaigi M, Supriyanto E, Amini N, Abdul Majid FA, Jaganathan SK. Preclinical and clinical effects of mistletoe against breast cancer. Biomed Res Int. 2014; 2014: 785479. doi:10.1155/2014/785479]. Омела содержит различные типы биологически активных веществ: полисахариды, флавоноиды, аминокислоты, тритерпеновые кислоты, гликопротеины (лектин) [Büssing A. Mistletoe. The Genus *Viscum*. Amsterdam, The Netherlands: Hardwood Academic Publishers; 2000]. Широко известны антинеопластические свойства экстрактов из омелы [Steele ML, Axtner J, Happe A, Kröz M, Matthes H, Schad F. Safety of Intravenous Application of Mistletoe (*Viscum album* L.) Preparations in Oncology: An Observational Study. Evid Based Complement Alternat Med. 2014; 2014:236310. doi:10.1155/2014/236310]. В работе Tröger W, et.al. 2014 показано, что

применение препаратов омелы улучшало качество жизни у пациентов с метастазирующим раком поджелудочной железы [Tröger W, Galun D, Reif M, Schumann A, Stanković N, Milićević M. Quality of life of patients with advanced pancreatic cancer during treatment with mistletoe: a randomized controlled trial. Dtsch Arztebl Int. 2014; 111(29-30):493-502. doi:10.3238/arztebl.2014.0493]. Также изучена эффективность извлечений из омелы при эндометриозе [Moon JM, Chung YJ, Chae B, et al. Effect of mistletoe on endometrial stromal cell survival and vascular endothelial growth factor expression in patients with endometriosis. Int J Med Sci. 2018; 15(13):1530-1536. Published 2018 Oct 20. doi:10.7150/ijms.28470]. При этом существенных побочных реакций при применении препаратов омелы не зарегистрировано [Steele ML, Axtner J, Happe A, Kröz M, Matthes H, Schad F. Adverse Drug Reactions and Expected Effects to Therapy with Subcutaneous Mistletoe Extracts (*Viscum album* L.) in Cancer Patients. Evid Based Complement Alternat Med. 2014; 2014:724258. doi:10.1155/2014/724258].

Целью данного изобретения является поиск эффективного и безопасного лекарственного средства, повышающего уровень физической работоспособности на основе экстракта Омелы белой (*Viscum album* L., Viscaceae), обладающего антиоксидантным действием.

В качестве ближайших аналогов по действию можно выделить экстракт из мякоти плода тыквы посевной [Патент РФ 2691079], композицию на основе *Sphaeranthus indicus*, *Coleus Aromaticus*, *Cissus quadrangularis*, *Curcuma longa*, *Garcinia mangostana*, *Citrullus lanatus* и *Ocimum sanctum* [JP 2016505615 A], сесквитерпенов, полученных из *Sphaeranthus indicus* [US 10105347 B2], экстракта из надземной части *Leucosium aestivum* [US 8603546 B2].

Способ получения разрабатываемого средства основан на экстракции биологически активных веществ из травы *Viscum album*, собранной с груши обыкновенной *Pyrus communis* L. 40% спиртом этиловым.

Пример способа получения средства антиоксидантного действия, повышающего работоспособность: 1 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в 100 мл кругло донную колбу, добавляют 30 мл 40% этилового спирта, соединяют с обратным холодильником и нагревают на кипящей водяной бане в течение 1 часа. После охлаждения полученный экстракт фильтруют через фильтровальную бумагу в мерную колбу объемом 100 мл. Экстракцию повторяют дважды в условиях, описанных выше. Экстракт фильтруют через тот же фильтр в ту же мерную колбу. После охлаждения объем доводят 40% этиловым спиртом до метки и перемешивают.

Пример 1. Определение суммарного содержания флавоноидов в экстрактах Омелы белой.

Для количественного определения флавоноидов в анализируемых образцах использована методика, основанная на способности образовывать окрашенные комплексы со спиртовым раствором алюминия хлорида, который вызывает батохромное смещение полос и при этом дает основной максимум поглощения при длине волны 410 ± 2 нм. УФ-спектральная кривая полученного комплекса идентична рутину, что дает основание использовать удельный показатель поглощения комплекса рутин с алюминия хлоридом.

Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 1 мм. Около 1 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в круглодонную колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 30

мл спирта этилового 40%. Колбу с содержимым присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане в течение 30 мин., периодически встряхивая для смывания частиц сырья со стенок. После охлаждения полученное извлечение фильтруют через бумажный фильтр в мерную колбу вместимостью 100 мл, так чтобы частицы сырья не попали на фильтр. Экстрагирование повторяют дважды в описанных выше условиях. Извлечения фильтруют через тот же фильтр в ту же мерную колбу. После охлаждения объем доводят спиртом 40% до метки и перемешивают (раствор А).

2,0 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 3 мл алюминия хлорида спиртового раствора 2%, 3 капли хлористоводородной кислоты раствора 10% и доводят объем раствора спиртом 95% до метки (раствор Б).

Через 30 мин измеряют оптическую плотность раствора на спектрофотометре СФ-103 «Аквилон» при длине волны 408-415 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Содержание суммы флавоноидов в процентах (X_1) в пересчете на рутин и абсолютно сухое сырье вычисляют по формуле:

$$X_1 = \frac{A \cdot 25 \cdot 100 \cdot 100}{A_{1\text{см}}^{1\%} \cdot a \cdot 2 \cdot (100 - W)} ; \quad (1)$$

где: А - оптическая плотность исследуемого раствора; $A_{1\text{см}}^{1\%}$ - удельный показатель поглощения комплекса рутина с алюминия хлоридом при длине волны 408-415 нм; а - навеска сырья, г; W - влажность сырья, % [Государственная фармакопея Российской Федерации [Электронный ресурс]. - 14-е изд. - Режим доступа: <http://femb.ru/feml.>].

Содержание флавоноидов в извлечениях из листьев омелы белой представлено в таблице 1.

Содержание суммы флавоноидов в извлечении из листьев омелы белой (*Viscum album* L.), полученном экстракцией спиртом этиловым 40%, составило $0,844 \pm 0,020\%$ в пересчете на рутин. На основании полученных результатов в фармакологическом эксперименте оценивали активность 40% этанольного извлечения из листьев Омелы белой.

Оценка фармакологической эффективности и безопасности применения 40% этанольного экстракта Омелы белой

Пример 1. Оценка «острой токсичности» 40% этанольного экстракта Омелы белой

Оценка «острой токсичности» 40% этанольного экстракта Омелы белой проводилась на мышах самцах линии Balb/c массой 22-25 грамм (6 особей), с использованием общепринятого подхода к определению токсичности химических субстанций в остром эксперименте - метод «Up and Down», основные положения которого изложены в OECD №425. Согласно процедуре тестирования исследование «острой токсичности» выполняется в 2 этапа: предельный и основной тест. Исследуемый объект вводили per os, дробно, через атравматичный зонд в дозе 5000 мг/кг (в условиях предельного теста). Критерием остановки тестирования по результатам предельного теста служило отсутствие гибели животных, в противном случае проводили основное тестирование. В результате было установлено, что при проведении предельного теста гибели мышей отмечено не было, к выполнению основного тестирования не приступали. В то же время величина LD₅₀ для исследуемого объекта составляла более 5000 мг/кг. Таким образом, согласно GSH классификации 40% этанольный экстракт Омелы белой можно отнести к 5-му классу токсичности.

Пример 2. Влияние 40% этанольного экстракта Омелы белой на уровень физической работоспособности животных при однократном введении

Влияние 40% этанольного экстракта Омелы белой на уровень физической

работоспособности животных при однократном введении оценивали в тесте «принудительное плавание с 20% отягощением». В качестве биологической модели использовали мышей самцов линии Balb/c массой 22-25 грамм (30 особей, n=10 каждая экспериментальная группа).

5 «Принудительное плавание» проводили в установке, представляющей собой акриловый цилиндр высотой 30 см и диаметром 10 см, с десатурированной водой температурой 150°C. К хвосту животного прикрепляли груз равный 20% массы его тела, после чего животное помещалось в цилиндр. Предварительно все животные были рандомизированны по времени плавания. Исследуемый экстракт в дозе 1/50 от LD₅₀
 10 (100 г/кг) и препарат сравнения - настойку женьшеня в дозе 1 мл/кг [Доровских В.А., Симонова Н.В., Тонконогова М.С. Сравнительная оценка фитоадаптогенов при окислительном стрессе // Бюллетень физиологии и патологии дыхания - 2015. - № 55. - С. 95-100] вводили однократно за 1 час до воспроизведения физических нагрузок. Плавание осуществлялось до полного истощения и отказа борьбы за жизнь (нахождение
 15 животного на дне бассейна на протяжении 7 сек.). Фиксировали время плавания мышей в секундах [Voronkov A.V., Gerashchenko A.D., Pozdnyakov D.I., Khusainov D.V. Effects of various aversive environments on oxygen consumption of muscle and blood in mice under conditions of the "forced swimming" test. Pharmacy & Pharmacology. 2019; 7(3):148-157. (In Russ.) <https://doi.org/10.19163/2307-9266-2019-7-3-148-157>] Статистическую обработку
 20 полученных результатов производили с использованием прикладного программного пакета STATISTICA 6.0 (StatSoft, США). Данные выражали в виде М (среднее значение) ±SEM. Сравнение групп средних осуществляли методом однофакторного дисперсионного анализа с пост-обработкой критерием Ньюмена-Кейсла

В ходе проведения данного блока экспериментального исследования было
 25 установлено, что у группы животных негативного контроля (НК) продолжительность плавания в условиях однократного истощающего теста статистически значимо к исходному показателю данной группы животных не изменилась (рис. 1). В то же время на фоне однократного введения 40% этанольного экстракта Омелы белой (VAE40) и
 30 препарата сравнения, уровень работоспособности мышей увеличился по отношению к первоначальному у данных групп животных на 63,4% (p<0,05) и 49,9% (p<0,05) соответственно. При этом относительно группы мышей ПК продолжительность плавания мышей, при повторном воспроизведении теста «принудительное плавание»
 35 увеличилась на 62,3% (p<0,05) - при введении животным экстракта VAE40 и на 48,7% (p<0,05) - на фоне применения препарата сравнения.

Пример 3. Влияние 40% этанольного экстракта Омелы белой на уровень физической работоспособности животных при курсовом введении

Влияние 40% этанольного экстракта Омелы белой на уровень физической работоспособности животных при курсовом введении оценивали в тесте
 40 «принудительное плавание с 20% отягощением» на экспериментальной установке аналогичной таковой в Примере 2. В качестве биологической модели использовали мышей самцов линии Balb/c массой 22-25 грамм (30 особей, n=10 каждая экспериментальная группа). Исследуемый экстракт в дозе (100 г/кг) и препарат
 45 сравнения - настойку женьшеня в дозе 1 мл/кг вводили однократно в сутки на протяжении 10 дней за 1 час до воспроизведения физических нагрузок. Регистрировали время плавания. Статистическую обработку полученных результатов производили аналогично Примеру 2.

В ходе проведения данной серии экспериментов было установлено, что у НК группы животных работоспособность начиная с 6-го дня эксперимента имела тенденцию к

неуклонному снижению, что выражалось в уменьшении продолжительности плавания мышцей к 10 дню эксперимента в 1,84 раза ($p < 0,05$) по отношению к исходному времени плавания данной группы животных. На фоне введения животным референтного препарата продолжительность плавания мышцей на 10-й день эксперимента увеличилась в 1,79 раза ($p < 0,05$) по сравнению с исходным показателем данной группы животных и в 3,4 раза ($p < 0,05$) относительно показателя работоспособности НК группы мышцей на 10-й день исследования. Применение изучаемого 40% этанольного экстракта Омелы белой VAE40 способствовало увеличению продолжительности плавания животных в сравнении с НК группой к 10-му дню исследования в 5,05 раза ($p < 0,05$), в тоже время уровень работоспособности животных, получавших VAE40, на 10-й день эксперимента превосходил исходное время плавания данной группы мышцей в 2,8 раза ($p < 0,05$). Кроме того, продолжительность плавания животным, которым вводили VAE40, на 10-й день исследования была выше в сравнении с аналогичными показателями мышцей, получавших препарат сравнения - настойку женьшеня на 48,8% ($P < 0,05$).

15 Пример 4. Влияние курсового применения 40% этанольного экстракта Омелы белой на изменение про/антиоксидантного баланса в мышечной ткани животных после перенесенных физических перегрузок

Экспериментальная процедура соответствовала таковой в Примере 3. После последнего дня плавания животных выводили и эксперимента путем цервикальной дислокации с декапитацией и производили забор биологического материала (m. quadriceps femoris), в котором определяли изменение про/антиоксидантного состояния путем определения содержания прооксидантов (диеновые конъюгаты, малоновый диальдегид) и активности ферментов эндогенной антиоксидантной защиты (супероксиддисмутаза, каталазы и глутатионпероксидазы).

25 Оценка содержания диеновых конъюгатов

Концентрацию диеновых конъюгатов (ДК) в гомогенате (готовили в соотношении 1:7 на Трис-НСI буфере) мышечной ткани определяли спектрофотометрически при 233 нм. ДК извлекали смесью гептан:изопропанол (1:1). Количество ДК рассчитывали по молярному коэффициенту экстинкции конъюгированных диенов при 233 нм $2,2 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ см}^{-1}$ и выражали в нмоль / мг белка. Содержание белка определяли по методу Фолина [Гаврилов В.Б. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови / В.Б. Гаврилов, М.И. Мишкорудная // Лаб. дело. - 1983. - № 3. - С. 33-35.]

Оценка содержания малонового диальдегида

35 Концентрацию малонового диальдегида (МДА) оценивали в гомогенате мышечной ткани спектрофотометрическим методом в реакции конденсации с 2-тиобарбитуровой кислотой, в ходе которой образующийся окрашенный комплекс имеет максимум поглощения при 532 нм. При этом окраска раствора пропорциональна концентрации малонового диальдегида. Количество МДА рассчитывали по величине молярного коэффициента экстинкции ($1,56 \cdot 10^5 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$), полученные результаты выражали в нмоль/мг белка. Содержание белка определяли по методу Фолина [Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью ТБК // Современные методы в биохимии / под ред. Ореховича В.Н. - М.: Медицина, 1977 - С. 44-46].

45 Оценка активности каталазы

Активность каталазы определяли в супернатанте (получали центрифугированием гомогената мышц (см. выше) на холоду в режиме - 1000g/10 мин.) спектрофотометрическим методом по скорости деструкции водорода пероксида.

Количество пероксида водорода определяли в реакции с 4% раствором молибдата аммония. Интенсивность окраски продукта реакции оценивали при 410 нм. Активность каталазы рассчитывали по разности экстинкций опытной и холостой проб, используя коэффициент молярной экстинкции перекиси водорода, равный $22,2 \cdot 10^3 \text{ мМ}^{-1} \text{ см}^{-1}$ и выражали в нмоль/мин/мг белка. Содержание белка определяли по методу Фолина [Королук М.А. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. - 1988. - №1. - С. 16-19.]

Оценка активности супероксиддисмутазы

Активность супероксиддисмутазы (СОД) оценивали ксантин-ксантиноксидазным методом, основанным на реакции дисмутации супероксидного радикала, образующегося в ходе окисления ксантина и восстановления 2-(4-йодофенил)-3-(4-нитрофенил)-5-фенилтетразолия хлорида. Среда инкубации содержала: ксантин 0,05 ммоль/л; 2-(4-йодофенил)-3-(4-нитрофенил)-5-фенилтетразолия хлорид 0,025 ммоль/л; ЭДТА 0,94 ммоль/л, ксантиноксидаза 80 Ед/л, CAPS - 40 ммоль/л. Оптическую плотность смеси регистрировали при 505 нм. Активность СОД выражали в ЕД/л. Содержание белка определяли по методу Фолина [Woolliams JA, Wiener G, Anderson PH, McMurray CH Research in Veterinary Science 1983, 34: 253-256].

Оценка активности глутатионпероксидазы

Активность глутатионпероксидазы (ГП) определяли в супернатанте гомогената мышц в сопряженной глутатионредуктазной реакции по убыли НАДФН. Среда инкубации содержала: 1 ммоль/л ЭДТА, 50 мМ К,Na-фосфатный буфера, рН 7,4; 1 ед. акт./мл глутатиоредуктазы; 20 ммоль/л НАДФН; 1 ммоль/л GSH; 30-60 мкг белка на 1 мл среды. Оптическую плотность смеси регистрировали на КФК-3 при 340 нм. Реакцию начинали добавлением субстрата (гидропероксид кумола - 1,5 ммоль/л) и проводили при температуре 250°С. Активность ГП выражали в ед. акт /мг белка. Содержание белка определяли по методу Фолина [Pierce S. Glutathione peroxidase activities from rat liver / S. Pierce, A.L. Tappel // Biochim. et biophys. Acta. - 1978. - Vol. 523, № 1. - P. 27-36].

Статистическую обработку полученных результатов производили аналогично таковой в Примере 2.

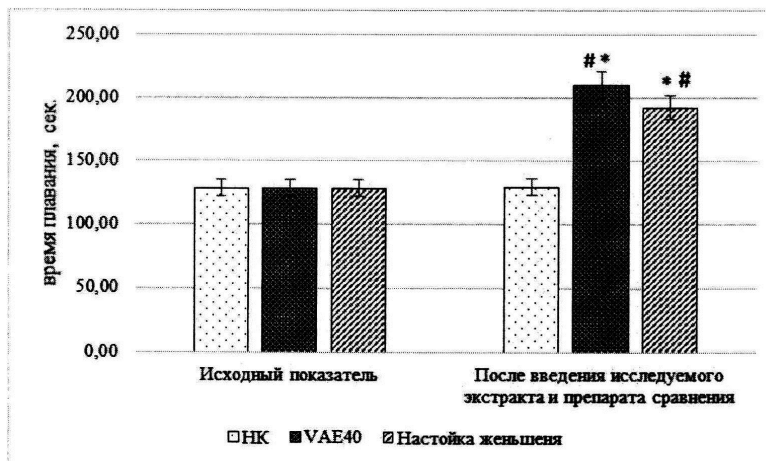
На данном этапе исследования для подтверждения развития окислительного стресса сравнение группы животных негативного контроля производили с группой интактных мышей (n=10). В итоге было установлено, что у НК группы после перенесенных физических нагрузок относительно интактных животных наблюдалось угнетение активности ферментов эндогенной антиоксидантной защиты СОД, ГП и каталазы (активность ферментов снизилась в 1,98 раза (p<0,05); 2,08 раза (p<0,05) и 5,3 раза (p<0,05) соответственно). В тоже время у НК группы мышей отмечено повышение активности процессов липопероксидации, о чем свидетельствует увеличение концентрации ДК и МДА в мышечной ткани у данной группы по сравнению с интактными мышами в 4,89 раза (p<0,05) и 7,3 раза (p<0,05) соответственно. В тоже время применение препарата сравнения способствовало повышению активности (в сравнении с НК группой мышей) СОД, ГП и каталазы на 35% (p<0,05); в 2,2 раза (p<0,05) и 5,06 раза (p<0,05) соответственно, при снижении содержания прооксидантов МДА и ДК в 2,39 раза (p<0,05) и на 63,3% (p<0,05) соответственно. На фоне введения мышам экстракта VAE40 наблюдалось увеличение активности антиоксидантных ферментов СОД, ГП и каталазы в мышечной ткани по сравнению с показателями НК группы животных на 38,3% (p<0,05); в 2,3 раза (p<0,05) и 7,5 раза (p<0,05) соответственно, при этом содержание МДА и ДК у мышей, получавших VAE40 относительно НК группы животных уменьшилось в 3,1 раза (p<0,05) и 2,5 раза (p<0,05) соответственно.

Таблица 1. Содержание суммы флавоноидов в извлечениях из листьев омелы белой

| Название объекта | Экстрагент | Сумма флавоноидов, % | Метрологические характеристики (P=95%, n=6) | |
|--|--------------------|----------------------|---|--|
| Листья омелы белой (<i>Viscum album</i> L.) | спирт этиловый 95% | 0,408±0,009 | $\bar{x} = 0,41$ $S_{\bar{x}} = 0,0037$ | $\Delta x = 0,0094$ $\varepsilon = 2,29 \%$ |
| | спирт этиловый 70% | 0,462±0,011 | $\bar{x} = 0,46$ $S_{\bar{x}} = 0,0043$ | $\Delta x = 0,0110$ $\varepsilon = 2,42 \%$ |
| | спирт этиловый 40% | 0,844±0,020 | $\bar{x} = 0,84$ $S_{\bar{x}} = 0,0076$ | $\Delta x = 0,0195$ $\varepsilon = 2,31 \%$ |
| | вода очищенная | 0,753±0,025 | $\bar{x} = 0,75$ $S_{\bar{x}} = 0,0099$ | $\Delta x = 0,0254$ $\varepsilon = 3,37 \%$ |

(57) Формула изобретения

Применение низкотоксичного экстракта листьев Омелы белой (*Viscum album* L.), полученного путем экстракции измельченного растительного сырья 40%-ным этиловым спиртом, увеличивающего уровень работоспособности в условиях чрезмерных физических нагрузок за счет повышения активности супероксиддисмутазы, каталазы и глутатионпероксидазы, и снижения концентрации малонового диальдегида и диеновых конъюгатов в мышечной ткани.



Примечание: VAE40 – 40% этанольный экстракт Омелы белой; *- статистически значимо относительно исходного показателя ($p < 0,05$; критерий Ньюмена-Кейсла); #- статистически значимо относительно НК группы животных ($p < 0,05$; критерий Ньюмена-Кейсла)

Рисунок 1. Влияние 40% этанольного экстракта Омелы белой на уровень физической работоспособности животных при однократном введении.